T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NÖRAL DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMALARINDA KULLANILABİLECEK DOKU İSKELELERİNİN ÜRETİMİ

Tuğçe ERGÜN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Danışman

Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU

Eş Danışman

Prof. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ

Şubat, 2024

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NÖRAL DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMALARINDA KULLANILABİLECEK DOKU İSKELELERİNİN ÜRETİMİ

Tuğçe ERGÜN tarafından hazırlanan tez çalışması 02.02.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU Yıldız Teknik Üniversitesi Danışman	Prof. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ Yıldız Teknik Üniversitesi Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Ayşegül PEKSEL, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr.Öğr.Üye Sümeyye CESUR, Üye
Marmara Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU sorumluluğunda tarafımca hazırlanan “Nöral Doku Mühendisliği Uygulamalarında Kullanılabilecek Doku İskelelerinin Üretimi” başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda 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.

Tuğçe ERGÜN

İmza

Bu çalışma, “Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü’nün FYL-2023-5688” numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Aileme

ve

merhum dedeme

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada konuda destek ve ilgisini esirgemeyen, yüksek lisans süresince her anımda destek olan, bilgi ve hoşgörüsünden yararlandığım sayın hocam Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU'ya sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında benden bilgi, destek, hoşgörü ve ilgisini esirgemeyen, tez konusunun seçilmesinde, planlanmasında ve yürütülmesinde bana yön veren, her zaman yanımda olan sayın hocam Prof. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında benden bilgi, destek, hoşgörü, yardımlarını ve ilgisini esirgemeyen, sayın hocam Dr. Öğr. Üye. Sümeyye CESUR'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Hayatımda her zaman desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen, bugünlere gelmemde en büyük baş kahramanım annem Birgül KÜÇÜKTEPE'ye, ne zaman ihtiyacım olsa yardımıma koşan kardeşim F.Buğra ERGÜN'e ve yardımlarını esirgemeyip her daim yanımda hissettiren babam Ahmet ERGÜN'e, bana ilk okuma sevgisini kazandıran, hep yanımda hissettiğim ve ilk kahramanım merhum dedem Ahmet KÜÇÜKTEPE'ye sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Hayatımda her zaman yanımda olan, en zor anlarımda bana moral veren ve içtenliğini esirgemeyen, ikinci ailem gibi hissettiren Ahmet Kubilay TÜRKEN ve Gizem KALAYCI'ya, bana bu bölümü tanıtıp hayatıma yön veren arkadaşım Elif Nur BENHÜR'a, bu süreçte beni hiç yalnız hissettirmeyen Semih USTA ve Dilara ÇETİNER'e, çalışmalarım sırasında bana her daim yardımcı olan Rabia Betül SULUTAŞ'a ve tüm arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bana bilimi ve okumayı sevdiren ilk öğretmenim sayın Adile YİĞİTER'e teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Bu çalışma; FYL-2023-5688 proje nolu, "Nöral Doku Mühendisliği Uygulamalarında Kullanılabilecek Doku İskelelerinin Üretimi" kapsamında gerçekleştiridiği için ayrıca Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Tuğçe ERGÜN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....v
SİMGE LİSTESİ.....viii
KISALTMA LİSTESİ..... .ix
ŞEKİL LİSTESİ.....xi
TABLO LİSTESİ.....xiii
ÖZET.....xiv
ABSTRACT.....xvi
1 GİRİŞ..... .1
1.1 Literatür Özeti..... .1
2 GENEL BİLGİLER.....4
2.1 Nöral Doku İskelesi.....4
2.1.1 Seramik Doku İskeleleri.....5
2.1.2 Hidrojeller..... .6
2.1.3 Polimerik Biyomalzemeler.....7
2.1.4 Karbon Bazlı Nanomalzemeler..... .11
2.2 Grafenin Nörolojik Doku Mühendisliği Uygulamaları.....12
2.2.1 Grafen Sentezi.....14
2.3 Nöral Doku Mühendisliği Uygulama Yöntemleri.....18
2.3.1 Doku Üretim Yöntemleri..... .19
2.3.2 Faz Ayrımı..... .19
2.4 Nöral Doku Mühendisliğinde Elektro Eğirme Yöntemi..... .21
2.4.1 Elektro Eğirme Parametreleri.....23
2.5 Tezin Amacı..... .24
2.6 Hipotez..... .25
3 HAZIRLIKLAR.....26
3.1 Malzemeler.....26
3.1.1 Kimyasallar..... .26
3.2 Kullanılan Teçhizatlar/Makineler..... .27
3.3 Grafen Oksit Sentezlenmesi.....28
3.4 Doku İskelesi Eldesi.....29
3.4.1 PVA/Col/GO Kompozit Nanofiberler için Elektroeğirme ile Üretimi. 30
4 SONUÇ VE ÖNERİLER.....35

4.1 Sonuç.....35
4.1.1 GO'nun Karakterizasyonu..... .35
4.1.2 Elektroeğirme ile Üretilen PVA/Col/GO Nanofiberlerinin Karakterizasyonu.....36
4.2 Öneriler..... .44
KAYNAKÇA..... .46
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR.....51

SİMGE LİSTESİ

°C	Celcilius sıcaklık birimi
cm^{-1}	Dalga sayısı spektrumu
Scm^{-1}	Elektriksel iletkenlik
KV	Kilovoltaj (Elektrik birmi)
<	Küçüktür
$Wm^{-1}K^{-1}$	Termal iletkenlik
V	Voltaj (elektrik birimi)
gm^{-3}	Yoğunluk
%	Yüzde
m^2g^{-1}	Yüzey alanı

KISALTMA LİSTESİ

2B	2 Boyutlu
3B	3 Boyutlu
atm	Fiziksel atmosfer basıncı
BDNF	Beyin türetilmiş nörotrofik faktör
CNT	Carbon nanotube (Karbon nanotüp)
Col	Kolajen
Cu	Bakır
CVD	Chemical Vapour Deposition (Kimyasal buhar biriktirme)
dk	Dakika
ECM	Extra cellular matrix (Hücre dışı matrisi)
ESC	Embryonic stem cell (Embriyonik kök hücre)
F-TIR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Kızılötesi Spektroskopisi)
Gen	Gentamisin
GO	Grafen oksit
Gr	Gram
H&E	Hematoksilin/Eozin
H_2SO_4	Sülfirik asit
H_3PO_4	Fosforik asit
HA	Hidroksiapatit
hMSC	Human Mesenchymal Stem Cells (İnsan Mezenkimal Kök Hücreleri)
HyA	Hyalüronik Asit
iPSC	Induced pluripotent stem cell (İndüklenmiş pluripotent kök hücre)
$KMnO_4$	Potasyum permanganat
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NGF	Sinir büyüme faktörü
NSC	Neural stem cells (Nöral kök hücre)
PBS	Phosphate-buffered saline (Fosfat tamponlu salin)
PCL	Polikaprolakton
PEO	Polietilen oksitin

PLGA	Polilaktik glokolik asit
PVA	Poli(vinil) alkol
rpm	Revolutions per Minute (Dakikada dönüş / devir sayısı)
SBF	Simüle edilmiş vücut sıvısı
SEM	Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu)
SiC	Silisyum karbür
sp	s ve p atom orbital hibritleşmesi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1 Soldan sağa: Doku nakli, Doku transplantasyonu ve Protez fiksasyon....**2**

Şekil 2.1 SBF (simüle edilmiş vücut sıvısı)'nın daldırılmasından sonra.....**5**

Şekil 2.2 HEMAPTMC hibrid hidrojelinin genel morfolojisi ve MI'dan sonra sıçan miyokardiyumuna implantasyondan 8 hafta sonraki deneysel sonuçlar..... **7**

Şekil 2.3 Hücre Dışı Matriks ve Hücre Duvarında Kolajen..... **8**

Şekil 2.4 PVA yapısı.....**10**

Şekil 2.5 Karbon Allotroplarının Moleküler Yapısı..... **14**

Şekil 2.6 Epitaksiyel Büyütme.....**16**

Şekil 2.7 Katman ayırma yöntemi ile grafen sentezi..... **16**

Şekil 2.8 Grafen sentezinin CVD yöntemi ile yapılması.....**17**

Şekil 2.9 Grafen kimyasal ayrıştırma yöntemi [46].....**18**

Şekil 2.10 Karmaşık ipliksi yapıların elektroeğirme düzeneğiyle istenilen şekilde modifiye edilerek çok farklı ve kolayca elde edilebilmesi.....**21**

Şekil 2.11 Elektro eğirme yöntemi çalışma prensibi..... **22**

Şekil 2.12 Yüksek gerilim amplifikatörü.....**23**

Şekil 3.1 Farklı bileşenler kullanılarak doku iskelesi gruplarının hazırlanması….**30**

Şekil 3.2 Elektro eğirme cihaz düzeni..... **31**

Şekil 3.3 Elektroeğirme ile nanofiber üretim süreci şematize gösterimi.....**31**

Şekil 3.4 Etüvde çaprazlama süreci..... **32**

Şekil 3.5 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) (MA-EVO10, ZEISS, Almanya) **33**

Şekil 3.6 Fourier Dönüşümü Kızılötesi (FTIR) spektroskopisi (JASCO 4700, ABD).....**33**

Şekil 3.7 Kesilen 15 örneğin her biri çekme cihazında (A) iki uçtan mekanik tokalarla dikey şekilde tutturulmuştur. (B) Çekme testi oda sıcaklığında (23 °C) ve 5 mm/dk hız ile gerçekleştirilmiştir.....**34**

Şekil 3.8 A. Çekme cihazı düzeneği (EZ-LX, Shimadzu, Japonya) B. Örneklerin tutturulması..... **34**

Şekil 4.1 GO'nun FT-IR spektrumu..... **35**

Şekil 4.2 A. saf PVA, B. PVA/Col, C. PVA/Col/Gen, D. PVA/Col/GO, E. PVA/Col/GO/Gen nanofiberleri..... **36**

Şekil 4.4 Nöral doku iskelelerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) sonuçları **39**

Şekil 4.5 Nanofiberlerin 15 noktadan alınan örnek otalamalarının kalınlık analizi **41**

Şekil 4.6 Nanofiberlerin maksimum gerilme analizi..... .**42**
Şekil 4.7 Nanofiberlerin çekme testi grafiği..... .**42**
Şekil 4.8 PVA/Col/GO/Gen Filmlerinin Şişme ve Bozunma Analizi.....**43**

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Nöral doku mühendisliğinde karbon nanomalzemelerin uygulamaları **12**

Tablo 2.2 Karbon allotroplarının bazılarının fiziksel özellikleri.....**13**

Tablo 3.1 Grafen oksit sentezinde kullanılan kimyasallar..... .**26**

Tablo 3.2 PVA/Col/GO/Gen çözeltisinde kullanılan kimyasallar.....**27**

Tablo 3.3 Tezde kullanılan teçhizat/makina listesi..... .**28**

Tablo 3.4 5 farklı bileşenle hazırlanan doku iskelesi grubu.....**29**

Tablo 4.1 PVA/Col/Gen ve PVA/Col/GO/Gen nanofiberlerinden salınan ilaç yüzdesi..... .**44**

ÖZET

Nöral Doku Mühendisliği Uygulamalarında Kullanılabilecek Doku İskelelerinin Üretimi

Tuğçe ERGÜN

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU

Eş-Danışman: Prof. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ

Doku mühendisliği, biyolojik fonksiyonları iyileştirmek amacıyla mühendislik ve yaşam bilimi uygulamalarını birleştiren bir alandır. Dokularda meydana gelen ciddi hasarlar, doğal iyileşme sürecini zorlaştırabilir. Geleneksel onarım yöntemleri genellikle immünolojik sorunlara yol açar. Ancak günümüzde, immünolojik sorunlara neden olmayan ve hasarlı dokuların hızla rejenerasyonunu sağlayan yenilikçi uygulamalar bulunmaktadır.

Doku mühendisliğindeki önemli iskele türlerinden biri, hücrelerin tutunmasını, yeni doku oluşumunu hızlandırmasını ve yapay organ ve dokuların oluşturulmasını sağlayan nanofiber iskelelerdir. İskeleler, hücre dışı matrisin (ECM) mimari ve biyolojik özelliklerini taklit etmelidir. ECM'yi taklit eden doku iskelesi, biyouyumluluk, biyobozunurluk ve mükemmel mekanik özelliklere sahip bir biyomalzemeden üretilmelidir. İskelelerin biyolojik olarak uyumlu ve biyolojik olarak bozunabilen malzemelerden üretilmesi, hücre tutunmasını, farklılaşmasını ve büyümesini desteklemesi önemlidir.

Nanofiber yapılı iskeleler, mikro yapılı iskelelere göre daha yüksek performans sergiler. Bu yüzden doku mühendisliği uygulamalarında biyouyumlu nanofiberler elde etmek için genellikle elektroeğirme tekniği kullanılmaktadır.

Bu çalışmada da elektroeğirme yöntemiyle poli(vinil alkol)(PVA)/kolajen (Col)/grafen oksit (GO)/Gentamisin (GEN) karışımını içeren nanofiberler üretilmiştir. Nanofiberlerin yüzey özellikleri ve çözelti parametrelerinin bu yüzey etkilerine çözeltinin etkisi incelenmiş, bu nanofiber yüzeylerinin nöral doku örtüsü olarak kullanılabilmesi için in vitro testler yapılmıştır.

İlk olarak, PVA ile hazırlanan sulu çözeltisinin elektroeğirme ile nanofiber üretim denemeleri yapılmıştır. Ardından, kolajen eklenmiş, elde edilen çözeltilere grafen oksit ve gentamisin eklenerek elektroeğirme yöntemi ile üretilen nanolifiberler, çapraz bağlama-etüv işleminden sonra morfolojik test için Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile analiz edilerrek kimyasal yapısı Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile incelenmiştir. Nanofiber iskelelerinin stabilitesinin ve bütünlüğünün belirlenmesi için ortalama lif kalınlıkları hesaplanmış, sonrasında çekme testi ile analiz edilmiştir. Son olarak, %13 PVA / %0,25 Col / %0,5 GO ve gentamisin örtüsü karakterizasyonu yapılmış ve mekanik testlere tabi tutulmuştur. Mekanik karektarizasyonu için; swelling-degradasyon (bozulma ve şişme) testleri ve antibiyotik salım testleri yapılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre, PVA/Col/GO nanofiber doku iskelelerinin, nöral doku mühendisliğindeki uygulamalar için çok yönlü ve uygulanabilir olduğu ancak geliştirilmesi gerektiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Nöral doku, PVA (polivinil alkol), GO (grafen oksit), kolajen, elektro eğirme

-

ABSTRACT

Production of Tissue Scaffolds That Can Be Used in Neural Tissue Engineering Applications

Tuğçe ERGÜN

Department of Chemistry

Master of Science Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU

Co-supervisor: Prof. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ

Tissue engineering is a field that combines engineering and life science applications to improve biological functions. Severe damage to tissues can complicate the natural healing process. Traditional repair methods often lead to immunological problems. However, today there are innovative applications that do not cause immunological problems and provide rapid regeneration of damaged tissues.

One of the important types of scaffolds in tissue engineering is nanofiber scaffolds, which enable cells to adhere, accelerate new tissue formation, and create artificial organs and tissues. Scaffolds should mimic the architectural and biological properties of the extracellular matrix (ECM). The ECM-mimicking tissue scaffold must be produced from a biomaterial with biocompatibility, biodegradability, and excellent mechanical properties. It is important that scaffolds are produced from biocompatible and biodegradable materials, supporting cell attachment, differentiation and growth.

Nanofiber structured scaffolds exhibit higher performance than microstructured scaffolds. Therefore, electrospinning technique is generally used to obtain biocompatible nanofibers in tissue engineering applications.

In this study, nanofibers containing a mixture of poly(vinyl alcohol)(PVA)/collagen (Col)/graphene oxide (GO)/Gentamicin (GEN) were produced by electrospinning method. The surface properties of nanofibers and the effect of solution parameters on these surface effects were examined, and in vitro tests were carried out to use these nanofiber surfaces as neural tissue covers.

Firstly, nanofiber production experiments were carried out by electrospinning the aqueous solution prepared with PVA. Then, collagen was added, and the nanofibers produced by the electrospinning method by adding graphene oxide and gentamicin to the resulting solutions were analyzed by Scanning Electron Microscope (SEM) for morphological testing after the cross-linking-incubation process, and their chemical structure was analyzed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). To determine the stability and integrity of nanofiber scaffolds, average fiber thicknesses were calculated and then analyzed by tensile test. Finally, 13% PVA / 0.25% Col / 0.5% GO and gentamicin coating were characterized and subjected to mechanical tests. For mechanical characterization; Swelling-degradation tests and antibiotic release tests were performed.

According to the results obtained, it was observed that PVA/Col/GO nanofiber tissue scaffolds are versatile and applicable for applications in neural tissue engineering, but need to be improved.

Keywords: Neural tissue, PVA (polyvinyl alcohol), GO (graphene oxide), collagen, electrospinning

-

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

İnsan beynindeki nöronların nörodejenerasyonu; doğrudan etkilendiğinde ortaya çıkan ve nöral işlevsellik kaybına neden olan bir dizi olaydır. Nörodejeneratif hastalıkların tanımlaması ve tedavisi zor olmakla birlikte, son yıllarda yapılan araştırmalar, sinir sistemi hücrelerinin sınırlı çoğalma yeteneklerine rağmen, yetişkin beyinde nöron oluşumu ve rejenerasyonun mümkün olduğunu göstermiştir. Bu, nörorejeneratif tedaviler için umut verici bir gelişme olarak kabul edilmektedir. Önceden, sinir sistemi hücrelerinin çoğalma yeteneklerinin sınırlı olduğu ve rejenerasyonun mümkün olmadığı düşünülmekteydi. Ancak, yapılan araştırmalar, yetişkin beyindeki belirli nörojenik bölgelerde yeni nöronların oluştuğunu ve devrelere eklendiğini göstermiştir. Bu, sinir hücrelerinin belirli koşullar altında çoğalma ve yeni nöronlar oluşturma kapasitesine sahip olduğunu gösteren önemli bir keşiftir.

Nörorejeneratif tedaviler, bu doğal nöron oluşumu süreçlerini anlamak ve yönlendirmek üzerine odaklanmaktadır. Ancak, tedaviyi zorlaştıran bir dizi faktör bulunmaktadır. Merkezi sinir sistemi kök hücre çoğalmasını önleyici bir ortamın varlığı, aktif inhibitörlerin bulunması ve kafatası yapısının cerrahi uygulamaları zorlaştırması gibi faktörler, nörorejenerasyon sürecini etkileyen engellerdir. Yine de bu alandaki gelişmeler ve bilimsel bulgular, nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için yeni stratejilere ulaşma konusunda umut vadetmektedir. Araştırmalar, sinir hücreleri ve nörojenesis üzerine odaklanarak, nörolojik hastalıkların etkili tedavilerinin geliştirilmesi için yol açabilir. Nörodejenerasyon birçok farklı nedenden dolayı ortaya çıkabilir. Bunlardan birkaçı; motorlu araç kazaları, düşme ve şiddet gibi travmalar gelmektedir. Dünyada binlerce insan bu travma sonucunun Merkezi Sinir Sistemi (MSS)'ne getirdiği zararlardan mustariptir. Hasar sonrasındaki rejenerasyon sürecine bakılacak olursa bu travmalardan etkilenen Merkezi Sinir Sisteminde (MSS) kendi inhibitör çevresinden kaynaklanan ve bundan dolayı oluşan glial skar dokusu sebebiyle kısıtlı düzeyde kalması söz konusudur. [1,2] Bununla birlikte; omurilik dahil olmak üzere

merkezi sinir sisteminin yapısının diğer dokulardan farklı olması ve patofizyolojisinin karmaşık olması dolayısıyla bu tür yaralanmalarda henüz etkin bir tedavi bulunamamıştır. Hasarlı sinir dokusunda endojen rejenerasyon gerçekleşse de kişinin hasardan önceki haline dönmesi pek mümkün değildir. İyileşme olasılığı %1 den azdır. Modern farmakolojik tedaviler, nöronların ve dokuların işlevini eski haline getirmekten çok komplikasyonları gidermeyi amaçlamaktadır. Fizik tedavi ve rehabilitasyon tedavileri ise sınırlı bir iyileşmeye olana tanır. [3]

Etkin tedavi için öngörülen hücre terapisi tedavisinin etkinliği bazen hasarlı bölgelere direkt enjekte edildiğinde zor olmakta ve doku kayıpları büyük derecelerde olduğunda bu bölgelerin birbiriyle köprülenmesi gerekmektedir. Bu sebeple, hücre terapilerinin yanı sıra doku iskeleleri kullanımı da uzun süredir üzerinde düşünülen bir yaklaşımdır. Bir hastadan vücudun başka bir yerine doku nakli, başka bir kişiden doku nakli/transplantasyon veya protez fiksasyon (Şekil 1.1) birleşimiyle bu araçların kullanımı en sık uygulanan tedavi yöntemleridir. [4, 5, 6] Ancak; bu yöntemler donör eksikliği ve doku uyumsuzluğu gibi çeşitli sorunları da beraberinde getirebilmektedir. Sonuçta da implantı vücuttan çıkarmak için gerekli olabilecek cerrahi müdahale çeşitli sorunlar oluşturabilmektedir.



Şekil 1.1 Soldan sağa: Doku nakli [4], Doku transplantasyonu [5] ve Protez fiksasyon [6]

Doku mühendisliği, bu problemlere alternatif olarak fonksiyonel olarak kullanılabilecek doku ve organların rejenerasyonunu amaçlayan geleneksel tedavi yöntemlerinin dışında bir seçenektir. Doku birimini onarmayı ve iyileşmesini desteklemeyi amaç edinen; doğa bilimlerinin ve mühendisliğin harmanlandığı bir

alan olarak karşımıza çıkmaktadır. Doku iskeleleri, hücrelerin ekiminden sonra hücrelerin çoğalmasını, farklılaşmasını ve bağlanmasını kolaylaştırmak için 3B doku şablonlaru olarak kullanılmaktadır. Bu şablonlardan salınacak çeşitli biyolojik moleküller ile dokuda görülmesi istenen işlemler hızlandırılabilir ve/veya çeşitlendirilebilir. Dokusal mühendislik yaklaşımıyla üretilen nöral doku iskeleleri, sinir hücrelerinin uzunlamasına akson büyümesini kolaylaştırmalı, rejenerasyon kabiliyeti olan sinir liflerine yeterli fiziksel destek sunmalı ve besinlerin alışverişini sağlamalıdır. [7] Klinik kullanım açısından ise doku iskeleleri kolayca üretilebilmeli, steril edilebilmeli ve implantasyon için uygun olmalıdır. Nöral doku iskeleleri, sadece fiziksel bir yapı olarak hizmet etmekle kalmaz, aynı zamanda nörotrofik faktörlerin veya ilaçların yerel tesliminde taşıyıcı olarak da görev yapabilmektedirler.

2
GENEL BİLGİLER

2.1 Nöral Doku İskelesi

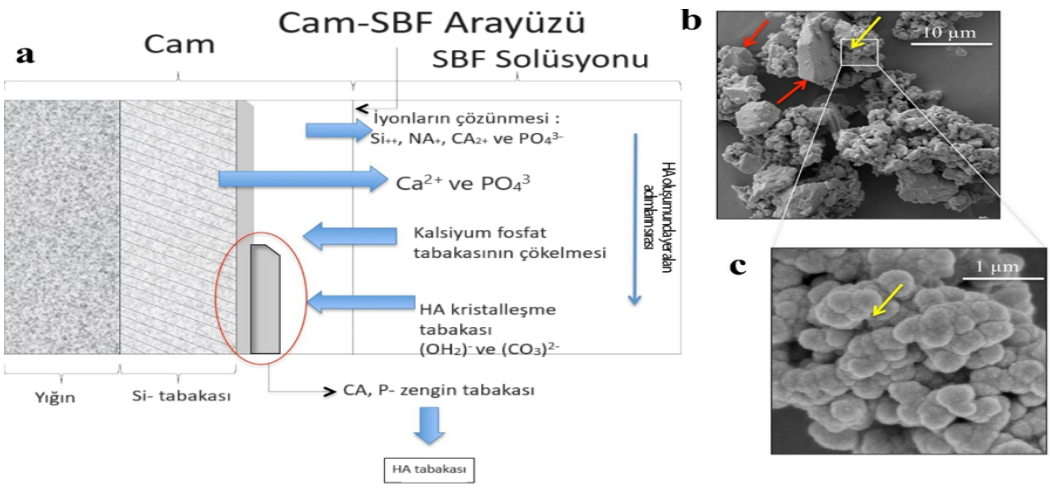
Doku mühendisliği ve nöral doku iskeleleri, hasarlı dokuların onarımında önemli bir rol oynamak için geniş potansiyele sahip yöntemlerdir. Bu alan, sürekli gelişen teknolojilerle birlikte hastalık ve yaralanma sonrası dokusal onarım için umut vadetmektedir. Hücrelerin hareketi ve tutunabilmesi, doku iskelesinde bulunan kimyasal bileşimi de fiziksel yapısıyla bağlantılıdır. Bileşimde ise akson rejenerasyonu için hızlı ve düzenli topografik yapı önemlidir. Doku iskelesinin ve konak dokunun mekanik özelliklerinin uyumu da büyük bir öneme sahiptir. Mikro/nano üretim teknikleri farklı şekillerde kullanılarak başka 3B(üç boyutlu) doku iskeleleri elde edilebilmektedir. Doku iskeleleri; seramikler, sentetik polimerler ve doğal polimerler olmak üzere genelde üç grupta toplanılan malzemelerden üretilmektedir. Doğal polimerlere bakıldığında sınırlı mekanik özelliklerin yanı sıra biyolojik olarak uyumlu ve parçalanabilir olduğu görülmektedir. Sentetik polimere bakıldığında kolayca işlenmesiyle beraber istenilen kadar biyouyumluluk gösteremeyebilmektedir. Doku iskelesi üretiminde, üretilen dokuların ve hücrelerin yapısında gösterdiği doğal özellikleri dikkate alınmadığında vücudun doğal savunma sistemi tepki vermesi sonucu kabul görülmeyen biyouyumluluk ve mekanik özellikler gösterebilmektedir. Biyouyumluluk bakımından seramik malzemelerin nispeten diğerlerine göre oranı daha yüksektir ama bunların imal edilmesi genelde zor malzemelerden oluşmaktadır. Farklı dokularda, aynı anda farklı parçalara ait bileşenler kullanılarak amaca göre belirlenen özelliklerin aynı yapıda toplanması mümkün olabilmektedir. İstenilen ideal ayarı elde etmek için, seçilen biyomalzemeler sonuçta bir bağışıklık tepkisine neden olmamalıdır. Malzeme gerektiği yere uygulandığında vücut hücrelerinin bu iskeleye yapışması ve kendi hücre dışı matrisini oluşturması beklenmektedir. Gözeneklilik ve ilişkili gözenek yapısı, hücre penetrasyonu, besinlerin hücrelere ve hücre dışı matrise difüzyonu ve hücresel atık ürünlerin hücreden uzaklaştırılması için önemlidir. [8]

Mevcut iskele örneklerinin geometrik özellikleri incelendiğinde gözenek yarıçapı ve gözenekliliği belirlenebilen biyofonksiyonel iskelelerin nöral dokusundaki dinamik yapı kullanımı ümit vericidir ve bu nedenle polimerlerin dokularda kullanımı oldukça yaygındır. [3,9] Özellikle son 15 yılda, biyobozunur veya biyobozunmayan, sentetik veya doğal olan birçok polimerlerden doku iskelesi üretilerek çoğunun etkinlik düzeyi *in vivo* veya *in vitro* testlerle ortaya konmuştur. Elastik modüle sahip doku iskeleleri ise rejenerasyon açısından avantaj sağlayarak kullanım açısından öne geçmiştir.

2.1.1 Seramik Doku İskeleleri

Biyoseramikler, yapısı itibariyle kristal veya kristal olmayan malzemelerle özel olarak tasarlanmış seramik malzemelerden oluşturulan bir gruptur ve vücudun hastalıklı veya hasarlı bölgelerini onarmak ve yeniden yapılandırmak amacıyla kullanılırlar [8].

Biyoseramikler, dokularla etkileşimlerine bağlı olarak üç ana kategoriye ayrılabilir: biyoinert, biyoaktif ve biyoemilabilir. Vücut içine yerleştirildiklerinde, biyoinert seramikler genellikle dokularla tepkimeye girmemektedir. Örneğin; alümina ve zirkonya gibi seramikler, implant ile doku arasında ipliksi bir doku oluşturabilirler. Bu seramiklerin başarısı, dokuya mekanik olarak uygun bir şekilde yerleştirilmelerine bağlıdır, böylece implant ile doku arasında hareket sınırlanır ve ipliksi doku ince bir tabaka halinde oluşum göstermektedir. Aksi takdirde, implantın gevşemesine neden olabilecek kalın bir ipliksi doku oluşabilmektedir [9,10,11].



Şekil 2.1 SBF (simüle edilmiş vücut sıvısı)'nın daldırılmasından sonra

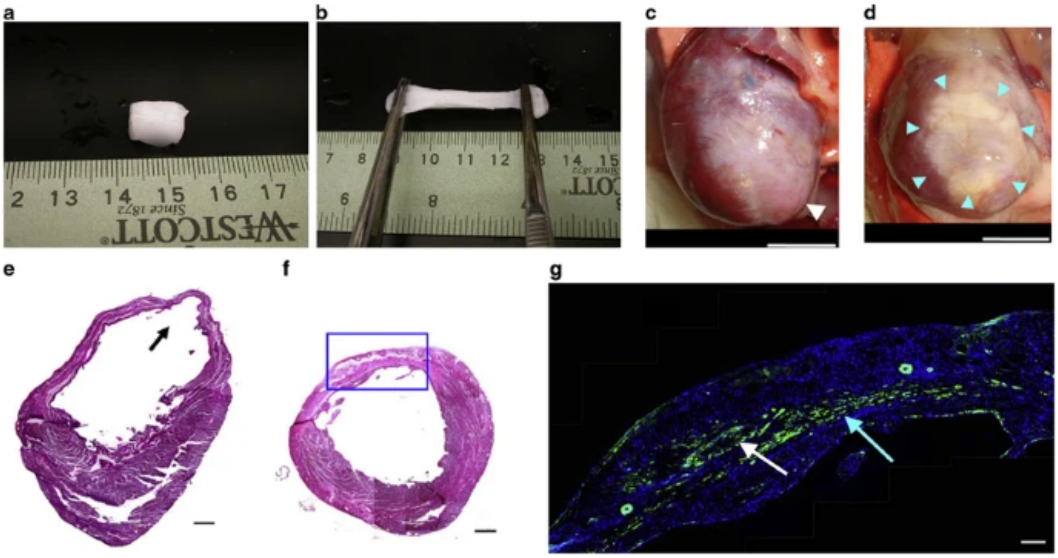
(a) cam parçacıklarının yüzeyinde HA(Hidroksiapatit) oluşum şeması; (b) SEM görüntüleri (5000× büyütme); (c) apatit benzeri yüzey tabakasının detayı (100.000× büyütme).

2.1.2 Hidrojeller

Hidrojeller, çapraz bağlı, hidrofilik polimer zincir ağlarından oluşan jellerdir. Bu hidrofilik yapıları, hücre büyümesini desteklemek için ideal olan 3B bir ağda bol miktarda su emmelerine izin verir. Hidrojeller, sulu ortamda çözünmeden orijinal ağırlığının 1000 katına kadar su emebilirler [12]. Ayrıca, oksijen, besin maddeleri ve diğer suda çözünür bileşiklere karşı oldukça geçirgen olan hidrojeller, doku mühendisliği uygulamaları için çekici malzemeler haline getirir.

Kemik doku mühendisliği uygulamalarında, hidrojellerin anjiyogenez, osteokondüktivite, hücre tutunması ve matris entegrasyonunu kolaylaştırma özellikleri önemlidir [13]. Hidrojeller, doğal polimerlerden (kolajen, jelatin, aljinat, kitosan, HyA ve agaroz dahil) veya sentetik malzemelerden türetilebilir. Doğal polimerler genellikle kolajen ve HyA gibi hücre dışı matris bileşenlerinden elde edildikleri için düşük toksisite, yüksek biyouyumluluk ve hücre afinitesine sahiptirler [13]. Ancak, doğal polimerler kontrollü bir bozunmaya neden olabilecek mekanik özelliklerde bazen sorunlara yol açabilirler.

Polimerik hidrojeller genellikle 3B baskıya uygun olmaları ve hücre dostu özelliklere sahip olmaları nedeniyle biyomürekkeplerin ana bileşenidir [13]. Hidrojel bazlı biyomürekkepler, genellikle hücre proliferasyonuna ve farklılaşmasına yardımcı olmak için büyüme ortamı, hücreler, biyomateryaller, ilave besinler ve büyüme faktörleri içeren kompozit malzemelerdir [14, 15].



Şekil 2.2 HEMAPTMC hibrid hidrojelinin genel morfolojisi ve MI'dan sonra sıçan miyokardiyumuna implantasyondan 8 hafta sonraki deneysel sonuçlar.

(a) Isıya duyarlı hidrojelin bileşimi (HEMAPTMC) (86/4/10) (b) Terapötik hidrojel (c) Fosfat tamponlu salin (PBS) enjeksiyonu ile kontrol deneyi. (d) Hibrit hidrojel enjeksiyonunu takiben sıçan kalbinin görüntüsü. (e) PBS enjekte edilmiş kalp için hematoksilin/eozin (H&E) boyama ile histoloji analizi. (f) Hibrit hidrojel enjekte edilmiş kalp için H&E boyamasıyla histoloji sonuçları. (g) Enjekte edilen hidrojelde doku içe büyümesine ilişkin immünohistokimya sonuçları. (Telif hakkı (2009), Elsevier'in izniyle.) [16]

2.1.3 Polimerik Biyomalzemeler

Monomer malzemelerin birbirine eklenmesiyle meydana gelen uzun zincirden oluşan büyük molekül ağırlıklara sahip bileşiklere "polimerler" denir. Bu polimerler, yapısal özellikleri istenilen şekilde ayarlanabilen ve ekonomik olarak elde edilebilen maddelerdir, bu nedenle biyomalzemeler olarak geniş bir kullanım yelpazesine sahiptirler [18,19]. Doğal polimerlerin yanı sıra, günümüzde sentetik olanlar da bulunmaktadır.

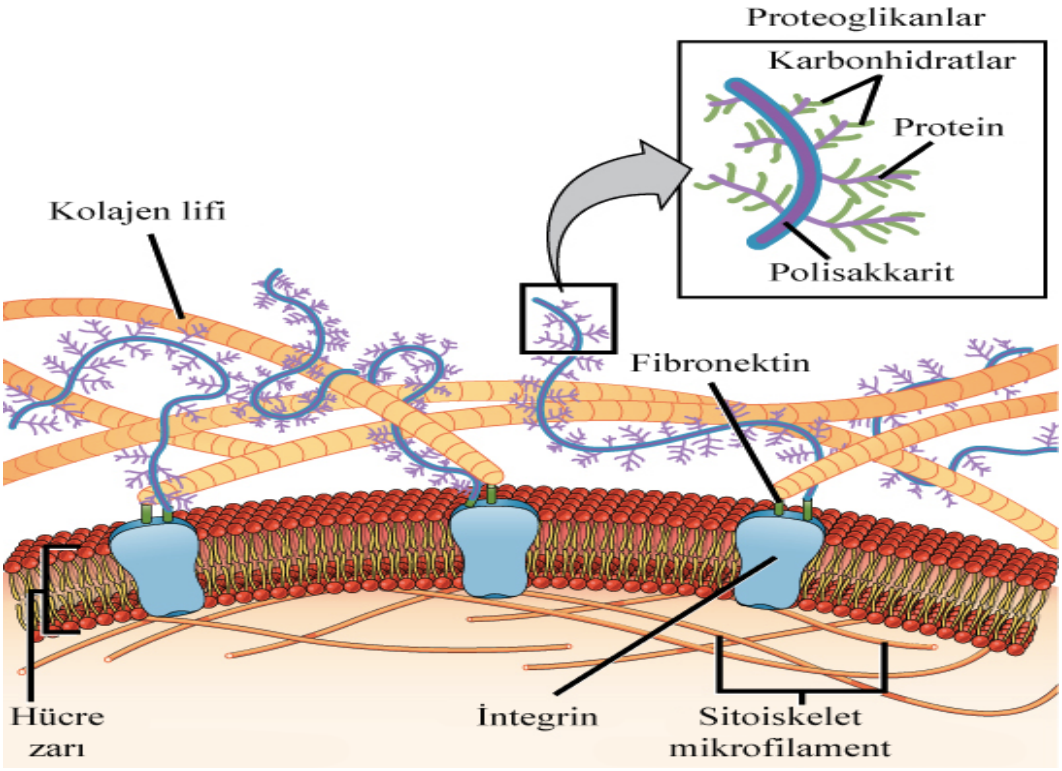
Polimerler, çeşitli şekillerde (jel, boncuk, lif, nanopartikül, film) ve bileşimlerde hazırlanabilmektedirler. Yapıları sıvı emebilme özelliği kazanarak şişebilir veya istenmeyen zehirli maddeleri (örneğin monomerler, antioksidanlar) salgılayabilirler. Bunun yanı sıra sterilizasyon işlemleri, polimerlerin özelliklerini etkileyebilir [20,21].

2.1.3.1 Doğal Biyopolimerler

Doğal polimerler arasında agaroz, doğal ekstrasellüler matriks, fibrin, kitosan, kolajen, hyalüronik asit, aljinat ve metilselüloz yer alırken, sentetik malzemeler

arasında PLGA, PCL, PGA, PHPMA, PHEMA ve bozunabilir PLA-b-PHEMA vb. kopolimerleri bulunmaktadır. [22,23,24]

Kolajen, insan vücudunda en bol miktarda bulunan protein olup toplam protein içeriğinin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır. Tendonlar, Şekil 2.3'te görüldüğü gibi bağlar, deri ve kemik gibi bağ dokularının önemli bir bileşenidir. Kolajen, çeşitli dokulara yapısal destek ve esneklik sağlayarak dayanıklılık ve bütünlüklerine katkıda bulunmaktadır.



Şekil 2.3 Hücre Dışı Matriks ve Hücre Duvarında Kolajen [25]

Kolajen molekülleri, üç polipeptid zincirinin bir araya gelerek üçlü sarmal bir yapı oluşturduğu bir yapıya sahiptir. Bu benzersiz yapı, kolajene karakteristik çekme dayanıklılığını ve kararlılığını verir. Vücutta belirli işlevlere ve dağılıma sahip farklı tiplerde kolajen bulunmaktadır. Biyobenzerliği ve biyokorunurluğu nedeniyle çok değerlidir. Jeller, süngerler, filmler ve lifler gibi farklı formlarda kolayca işlenebilir, bu da çeşitli uygulamalar için çok yönlülüğünü artırmaktadır. Kolajen tabanlı malzemeler, doku mühendisliği, yara iyileşmesi, ilaç dağıtım sistemleri ve kozmetik ürünlerde yaygın olarak kullanılmıştır.

Kolajenin hücre yapışması, göçü ve çoğalması konusunda destek sağlayabilme özelliği, hücre kültürü ve doku yenilenmesi için ideal bir altlık olmasını

sağlamaktadır. Ayrıca, kolajen, mekanik özelliklerini, kararlılığını ve işlevselliğini artırmak için diğer malzemelerle modifiye edilebilir veya birleştirilebilmekte, böylece biyomedikal alandaki potansiyel uygulamaları genişletebilmektedir. Her malzemenin avantajları ve dezavantajları olsa da biyomalzemenin seçimi doku onarımına uygunluk, biyouyumluluk ve mekanik dayanım gibi kriterlere dayanmalıdır.

2.1.3.2 Sentetik Biyopolimerler

Her gün gelişen sentez metotları sayesinde binlerce yeni polimer üretilmekte ve bu polimerler mevcut olanlara eklenmektedir. Bazı uygulamalarda, doğal polimerlerin kimyasal yapısı değiştirilerek yeni özelliklere sahip polimerler üretilmektedir. Dünya genelinde işlenen petrolün yalnızca %2'si polimer endüstrisinde kullanıldığından petrol rezervleri kontrollü kullanılmalıdır. Çünkü; birçok sentetik polimerin üretiminde ham madde olarak petrol kullanılmaktadır. Bu sentetik polimerler, monomerlerin endüstriyel senteziyle üretilmektedir. İlk sentetik polimerlerden biri olan bakalit, fenol ve formaldehit reaksiyonuyla sentezlenir. Bakalit ticari olarak üretilebilmekte ve alet sapları, vana parçaları, düğmeler, bıçak sapları vb. gibi kalıplanmış ürünlerin yapımında kullanılmaktadır.

Örneğin, etilen gazının polimerizasyonuyla üretilen polietilen, ticari anlamda en yaygın olarak kullanılan polimerdir. 1000-3000 atm basınç ve 250°C sıcaklıkta yapısındaki pi bağlarının açılmasıyla reaksiyona giren etilen, yüksek yoğunluklu polietilen boru üretiminde ve araç yakıt depolarının yapımında kullanılırken esnek ve yumuşak olmasıyla birlikte düşük yoğunluklu ve polietilen özelliktedir. Selofan bant, yiyecek ambalajları ve plastik oyuncak üretiminde kullanılmaktadır. [26]

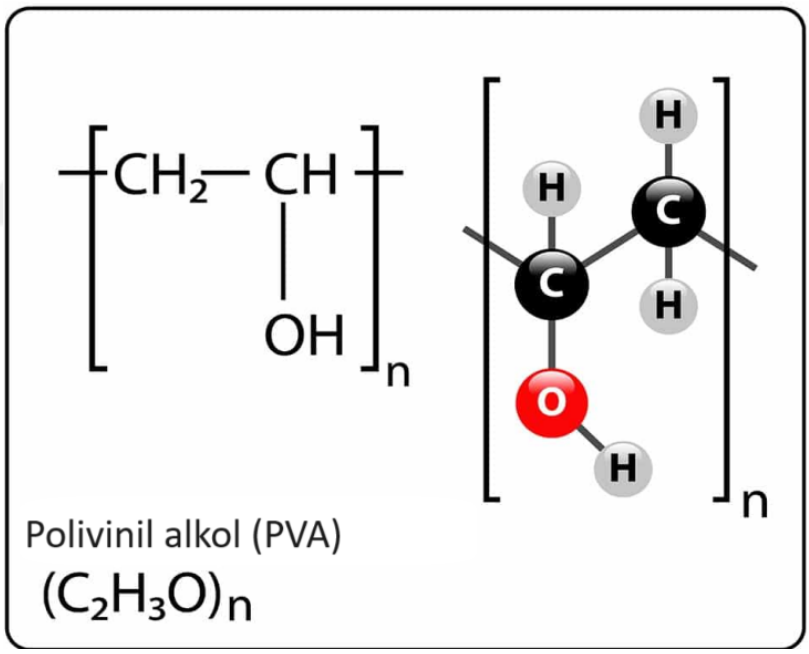
Etilenin yanı sıra PVA (Polivinil Alkol) da vinil asetatın hidroliz yoluyla elde edilen sentetik bir polimer olup suda çözünebildiği ve biyoudasılabilir bir polimer olmasıyla beraber, çok yönlülüğü, kararlılığı ve işleme kolaylığı nedeniyle çeşitli endüstrilerde yaygın olarak kullanılmaktadır.

PVA, yüksek çekme dayanımı, esneklik ve şeffaflık gibi özelliklere sahiptir. Bu sebeple; film, kaplama, yapıştırıcı ve tekstil gibi uygulamalar için uygun kılmaktadır. İyi bir bariyer özelliği sağladığı için ambalaj malzemesi olarak

yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu sayede nem, gazlar ve kokulara karşı iyi koruma sağlamaktadır. Ayrıca, PVA filmlerinin su buharı geçirgenliği ve mekanik özellikleri kontrol edilebilmektedir.

Tıbbi alanda, PVA ilaç dağıtım sistemleri, doku mühendisliği ve yara pansumanları gibi alanlarda da kullanılmaktadır. Örneğin, PVA hidrojelleri, hücre kapsülleme ve üç boyutlu hücre kültürü için iskele olarak yaygın olarak kullanılır. PVA'nın hidrofilik doğası, verimli ilaç yükleme ve salınımını sağlar, bu da kontrol edilen ilaç dağıtımı için uygundur.

Şekil 2.4'te yapısı gösterilen PVA, özelliklerini artırmak ve uygulama alanlarını genişletmek için kimyasal olarak değiştirilebilmekte veya diğer polimerlerle birleştirilebilmektedir. Örneğin; PVA'nın kolajen gibi doğal polimerlerle veya grafen oksitle karıştırılması, PVA tabanlı malzemelerin mekanik dayanıklılığını, biyouyumluluğunu ve çözünürlük özelliklerini artırabilmektedir.



Şekil 2.4 PVA yapısı

2.1.4 Karbon Bazlı Nanomalzemeler

Karbon nanotüpler ve grafen veya grafen oksit (GO) nanoparçacıkları, olağanüstü mekanik özelliklere sahiptir ve geniş yüzey alanları sayesinde fizyolojik iyonlar ve biyomoleküllerle kovalent olmayan etkileşimleri kolaylaştırmaktadır. Bu durum, kemik doku mühendisliği uygulamaları için uygun biyomalzemeler olarak öne çıkmalarını sağlamaktadır. Grafen ailesi, grafen oksit, grafen nano tabakaları, grafen kuantum noktaları, tek katmanlı grafen, indirgenmiş grafen oksit ve birkaç katmanlı grafen gibi çeşitli türevleri içermektedir. Bu türevler, benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir ve farklı uygulama alanlarında kullanılmaktadır. Özellikle kemik doku mühendisliği bağlamında, karbon nanotüpler ve grafen türevleri, hücre büyümesini ve doku rejenerasyonunu destekleme kapasiteleri nedeniyle önemli bir potansiyele sahiptir. Bu malzemelerin geniş yüzey alanları, hücre tutunma ve sinyal iletimini artırarak kemik hücrelerinin etkili bir şekilde büyümesini ve kemik dokusunun oluşumunu teşvik edebilmektedir [27,73].

Tablo 2.1 Nöral doku mühendisliğinde karbon nanomalzemelerin uygulamaları [28]

Doku iskelesi	Hücre tipi	Sonuçlar	Ref.
CNT	NSC'ler	Erken nöronal farklılaşmayı ve nöral kök hücre çoğalmasını teşvik etmiştir.	[29]
Grafen/PVA/ Aljinat	Sıçan glioma hücreleri	Hücre bağlanması, yayılması ve hücrelerin çoğalmasında artış gözlenmesinin yanı sıra gelişmiş elektriksel ve mekanik özellikler göstermiştir.	[30]
Grafen	NSC'ler	Nöral çoğalma, stimülasyon, kök hücrelerin uyarılmış farklılaşması, bozunabilirlik ve implante edilebilir nöronal ağlar gözlenmiştir.	[31]
3B yazdırılabilir Grafen/PLGA	hMSC'ler	*In vivo* çalışmalar, kompozitin en az 30 gün boyunca biyouyumlu olduğunu kanıtlanmıştır.	[32]

Tablo 2.1 Nöral doku mühendisliğinde karbon nanomalzemelerin uygulamaları [28] (devamı)

Grafen, GO and CNT	Fare ESC'leri	Sadece GO, grafen ve CNT'ye kıyasla dopaminerjik nöron farklılaşmasını destekleyebilmiştir.	[33]
Grafen oksit (GO)	Nöron	İskele gelişmiş nörit büyümesi ve anjiyojenik restorasyon göstermiştir.	[34]

2.2 Grafenin Nörolojik Doku Mühendisliği Uygulamaları

CVD temelli grafen, doku mühendisliği uygulamalarında özellikle yüksek elektrik iletkenliği ve olağanüstü mekanik özellikleri nedeniyle dikkat çekmektedir. Aynı zamanda, kimyasal eksfoliasyon yöntemiyle grafen oksit elde etmek de kolay ve büyük miktarlarda gerçekleştirilebilmektedir. Grafen oksit içerdiği fonksiyonel gruplar sayesinde hücrelerin büyüyebilmesi ve tutunabilmesi için çok etkili bir hidrofilik yapı oluşturmaktadır. İçerdiği yüzeyin kimyası, bu spesifik ve fonksiyonel gruplarına bağlanmasına izin vererek hücrelerin büyümesi ve farklılaşmasında önemli bir rol oynayabilmektedir. Araştırmalarda, grafenin hücre tutunması, büyümesi, farklılaşması ve çoğalması gibi davranışları etkileyebildiğini, aromatik yapısı sebebiyle en azından laminin, fibronektin ve kolajen gibi ECM'nin yerel konsantrasyon içeriğini artırabildiğini gösterilmiştir [35]. Aynı zamanda, indirgenmiş grafen oksit ile grafen oksitteki kusurların hücre tutunma özelliği, farklılaşması, çoğalması gibi süreçlerde aktif bölgeler olarak işlev gösterdiği gözlemlenmiştir [36].

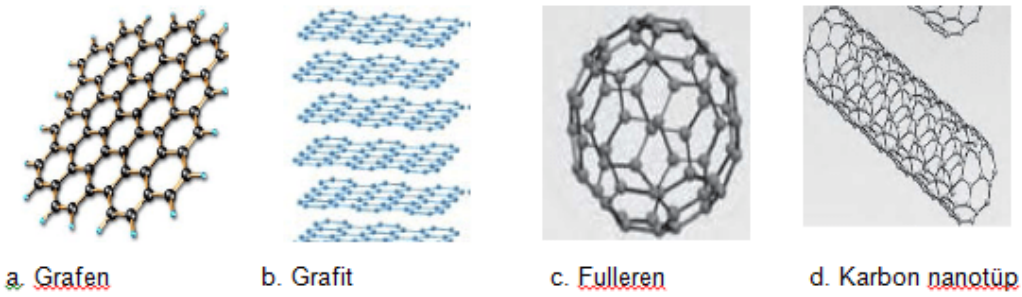
Grafen, temelde karbon atomlarının sp2 hibritleşmesiyle düzenlenmiş tek tabaka halinde bir malzemedir. Bal peteği örgüsü şeklinde bir yapıya sahiptir ve grafit, nanotüp ve C60 gibi karbon allotroplarından farklı özelliklere sahiptir. Çarpıcı bir şekilde mekanik, termal ve elektriksel özelliklere sahiptir [35]. Genelde istenilen grafen yapısı tek tabakadan oluşur, ancak birkaç tabakadan oluşan yapılar da önemlidir. Grafen, 2004 yılında sentezlenebilmiştir ve bu çığır açan deneyler nedeniyle 2010 Nobel Fizik Ödülü'nü kazanan Andre Geim ve Konstantin Novoselov'a verilmiştir. Grafen, doğada bulunan tek iki boyutlu malzemedir ve elektronları silisyumdan 100 kat daha hızlı hareket eder. En ince malzeme olma özelliğine sahiptir ve güçlü karbon bağları nedeniyle en dayanıklı malzeme olarak

kabul edilmektedir. Elastisite modülüne Tablo 2.2'de bakılacak olursa yaklaşık 100 kat daha çelikten yüksektir ve ısıyı iyi iletmek için elmasa göre daha iyi bir ısı iletkenidir [36,75].

Tablo 2.2 Karbon allotroplarının bazılarının fiziksel özellikleri [37]

Karbon allotropları	**Elmas**	**Grafit**	**Fulleren (C60)**	**Karbon nanotüp**	**Grafen**
Hibrit şekli	Sp3	Sp2	Çoğunlukla sp2	Çoğunlukla sp2	Sp2
Boyut	3	3	0	1	2
Sertlik	Ultra yüksek	Yüksek	Yüksek	Yüksek	En yüksek
Yoğunluk (gm-3)	3,5-3,53	2,09-2,23	1,72	>1	>1
Termal iletkenlik (Wm-1K-1)	900-2320	1500-2000, 5-10	0,4	3500	4840-5300
Elektronik özellikleri	Yalıtkan, yarıiletken	Elektriksek iletken	Yalıtkan	Metalik ve yarı-iletken	Yarı-metal
Elektriksel iletkenlik (Scm-1)	-	Ansiotropik 2,3.104	10-10	Yapıya bağlı	2000
Esneklik	-	Elakstik olmayan esnek	Elastik	Elastik esnek	Elastik esnek
Optiksel özellikleri	İzotropik	Tek eksenli	Doğrusal olmayan optik cevap	Yapıya bağlı özellikler	%97,7 optiksel geçirgenlik

Ayrıca, grafen esnek olduğu için farklı malzeme formlarının yüzeyine kolayca uygulanabilmektedir. Tablo 2.2'de görülen bu olağanüstü özellikleriyle grafen, Şekil 2.5'te görülen moleküler yapılarıyla 21. yüzyılın çığır açıcı malzemesi olarak görülmektedir.



Şekil 2.5 Karbon Allotroplarının Moleküler Yapısı [38]

Grafen oksit (GO), grafenin oksidasyon süreciyle elde edilen iki boyutlu bir malzemedir. Karbon atomlarının altıgen bir örgü yapısında bir araya geldiği tek bir tabakadan oluşmaktadır ve karbon örgüsüne bağlı oksijen içeren fonksiyonel gruplara sahiptir. GO, benzersiz özelliklere sahip olması nedeniyle çeşitli uygulamalarda oldukça çekici bir malzeme olarak kabul edilmektedir.

GO'nun dikkate değer özelliklerinden biri, mükemmel mekanik dayanıklılığa sahip olmasıdır. Çeliğin yaklaşık 200 katı olan çekme dayanımına sahiptir, bu da onu bilinen en güçlü malzemelerden biri yapmaktadır. Ayrıca, GO yüksek termal ve elektriksel iletkenliğe sahiptir, bu da onun elektronik cihazlar, enerji depolama sistemleri ve sensörler gibi alanlarda kullanılmasını mümkün kılmaktadır.

GO'nun yüzeyindeki oksijen fonksiyonel grupları, su ve çeşitli organik çözücülerde mükemmel dispersiyon özelliği sağlamaktadır. Bu özellik, ince filmler, kaplamalar ve kompozit malzemelerin üretimi için uygundur. Ayrıca, GO'nun oksijen açısından zengin yüzeyi, farklı moleküllerle fonksiyonelleştirilebilmesini sağlamakta, böylece diğer maddelerle uyumluluğunu artırmakta ve özelleştirilmiş uygulamaların geliştirilmesini mümkün kılmaktadır.

2.2.1 Grafen Sentezi

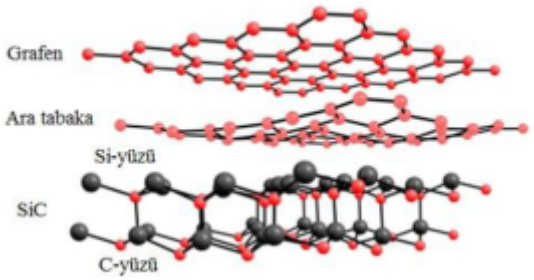
Grafen sentezi için önerilen yöntemler, tabaka sayısının hedefine göre değişmektedir. Literatürdeki araştırmalar, grafit oksidin kimyasal indirgenmesi, mikromekanik ayrıştırma, epitaksiyel büyüme, grafit oksidin ve grafitin sıvı faz ayrılması kimyasal/termal ayrışması vb. teknikleri içermektedir. Bu yöntemler arasında, grafit oksidin oksitleyici maddelerle etkileştirilip ardından kimyasal veya termal indirgenmesi, tek veya birden fazla tabakalı grafen elde etmek için yaygın olarak kabul edilen bir yöntemdir.

Grafen bazlı nanomalzemeler, ilaç taşıma, biyosensörler, kanser tedavisi gibi alanlarda büyük ilerlemeler kaydetmiştir. Ayrıca, doku mühendisliği alanında da kullanılmak üzere yeni ve umut verici bir araştırma alanıdır. Grafenin CVD tabanlı özelliği olağanüstü mekanik özellikleriyle beraber yüksek elektrik iletkenliği sebebiyle doku mühendisliği uygulamalarında öne çıkmaktadır. Diğer yandan, kimyasal eksfoliasyon yöntemiyle elde edilen grafen oksit, yüzeyindeki özel fonksiyonel grupları sayesinde hücrelerin büyüyebilmesi ve tutunabilmesi açısından çok etkili olduğuna inanılan hidrofilik yapıya sahiptir. Aynı zamanda yüzeyindeki kimya içeriği, özel grupların bağlanmasına izin vererek hücrelerin farklılaşabilmesinde önemli bir rol oynayabilmektedir.

Grafendeki bu hücresel davranışları üzerindeki etkileri, tutunma, büyüme, farklılaşma ve çoğalma gibi bir dizi çalışma ile gösterilmiştir. Bu üstün özellikleri nedeniyle grafen, nöral rejenerasyon gibi alanlarda büyük ilgi çekmektedir. Yapılan araştırmalarda grafen sentezi için önerilen yöntemler, katman sayısında elde edilmek istenen sayıya göre değişmektedir. Şu ana kadar yapılan birçok araştırma, grafit oksidin kimyasal indirgenmesi, mikromekanik ayırma, grafitin sıvı faz ayrımı, grafit oksidin kimyasal veya termal ayrışması ve epitaksiyel büyüme dahil olmak üzere tek tabakalı grafen üretimde etkili sentez teknikleri geliştirmeye odaklanılmıştır. Bahsedilen bu üretim yöntemleri içinde grafitin oksidanlarla etkileşimi ile üretilen ve grafit kemiğinin termal veya kimyasal olarak indirgenmesi en ünlü yöntemlerden biri olarak kabul edilmektedir. Bahsedilen yöntem aynı zamanda bir/daha fazla grafen yaprağının üretilmesinde de başarılıdır. [39]

2.2.1.1 Epitaksiyel Büyütme

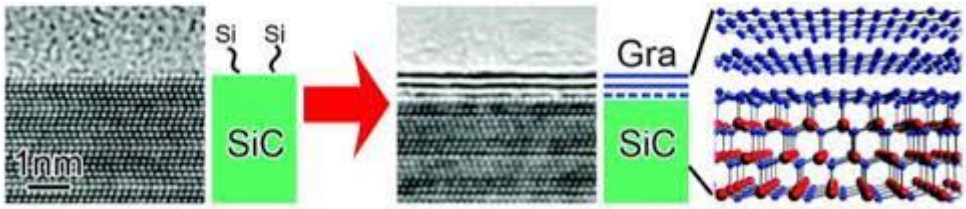
Bu süreçte grafen tabakaları SiC katmanları büyütülür. Sıcaklık 1150-200°C arasında SiC'deki silyum atomlarında süblimleşerek Şekil 2.6’daki gibi geride kalan karbon atomları epitaksiyel bir tabaka oluştuktan sonra Si atomları gücünden dolayı uzaklaşamayarak saflık oranını indirmektedir.



Şekil 2.6 Epitaksiyel Büyütme [39]

2.2.1.2 Katman Ayırma

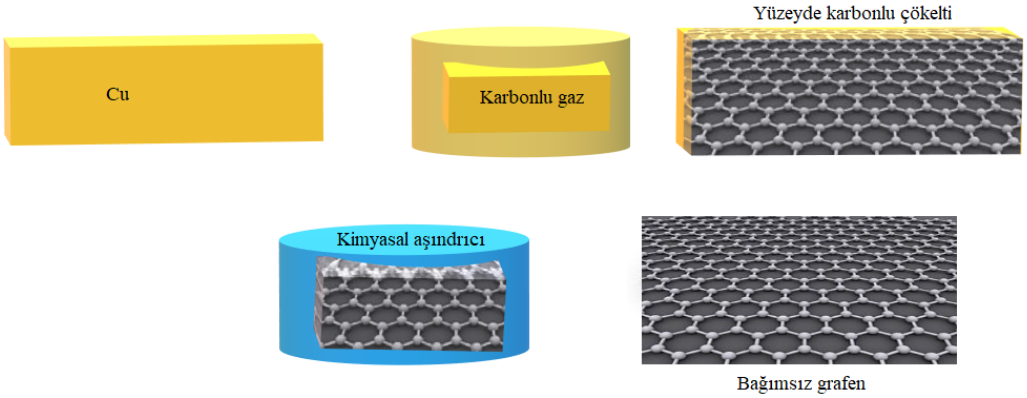
Grafit tabakalarının arasındaki zayıf bağların mekanik yöntemlerle kırılmasına dayanan bu yöntemde tabakalın daha ince yapılar olarak elde edilebilmesi için fazla miktarda üretim yapılamasa da ayırma işlemi birkaç kez tekrar edilmektedir. Üretimden çıkan ürünler 100 μm büyüklükte oluşmakta ve sonuçta grafen parçacıkları da bu yöntemle sentezlenmeye devam edilebilmektedir. Başlangıç olarak tek kristal olan grafit kaynağı yüksek kaliteli olarak kullanılırsa mikromekanik ayrıştırma sonrasında elde edilen grafenin yapısal ve elektriksel kalite oranı Şekil 2.7'de görüldüğü gibi en yüksek olarak karşımıza çıkmaktadır. [40]



Şekil 2.7 Katman ayırma yöntemi ile grafen sentezi [41]

2.2.1.3 Kimyasal Buhar Biriktirme

Geçiş metallerinin üzerinde C(karbon) atomlarının birikerek grafen tabakaları oluşturmasına dayanan bu kimyasal buhar biriktirme (CVD) tekniğinde [42] grafen veya tek tabakalı grafit, birden fazla metal yüzeyin üstünde büyütülebilmektedir.



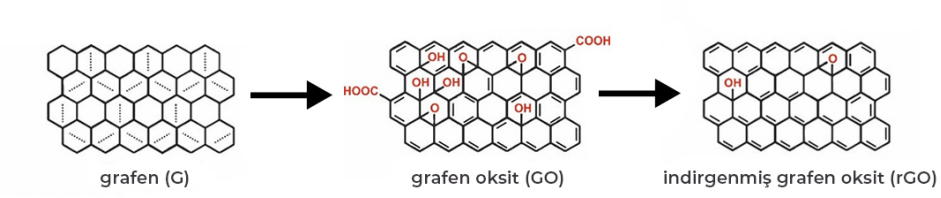
Şekil 2.8 Grafen sentezinin CVD yöntemi ile yapılması [43]

Grafen tabakası büyütüldükten sonra Şekil 2.8'deki gibi ayırıcı herhangi bir ajan yardımıyla alınmaktadır. CVD yönteminde bakır en çok tercih edilen ve kullanılan metaldir. Ucuz olması ve kolay aşındırılabilmesi bakımından Cu, grafenle etkileşiminin fiziksel düzeyde olduğu bir metal olarak karşımıza çıkmaktadır. Metan ise karbon kaynağı olarak genelde tercih edilmektedir. [43]

2.2.1.4 Kimyasal Ayrıştırma

Kimyasal ayrıştırma yöntemi, grafenin çok fazla miktarda üretimi için kullanılan bir tekniktir. Grafitin asitlerle oksitlenerek tabakalarının ayrıştırılma işlemini içerir. Elde edilen ürün grafen oksittir ve bu malzeme yalıtkandır. İletken hale getirilmesi için grafen oksidin yapısındaki oksitler, kimyasal veya termal yöntemlerle uzaklaştırılmaktadır. Bu metot, 1958 yılında Hummer tarafından grafiti oksitlemek için potasyum permanganat ve yoğun sülfürik asit kullanılarak geliştirilmiş ve günümüzde hala yaygın olarak kullanılmaktadır. [44]

Oksijen içeren çeşitli fonksiyonel gruplara (hidroksil, karboksil ve epoksi) sahip olan Grafen oksidin (GO) farklı moleküllerle fonksiyonlandırılmasını bu fomksiyonel gruplardaki oksijenli gruplar mümkün kılmaktadır. Laboratuvarlarda kullanılan farklı yöntemlerle grafen oksidin üretilebilmesi ve karakterize edilebilmesinde analitik yöntemin tek bir metoda dayanmaması, günümüzde kesin olarak moleküler yapısını anlamamızı engellemektedir. GO'nun yapısıyla alakalı hala tartışmada hala sonuca varılmasa da genel olarak içeriğimdeki karboksil gruplardaki bazal düzlemin kenarlarında bulunduğu ve hidroksil ile epoksi gruplarında bulunan bazal düzlemin içinde konumlandığı konusunda bir uzlaşmaya varılmış gibi görünmektedir. [45]



Şekil 2.9 Grafen kimyasal ayrıştırma yöntemi [46]

2.3 Nöral Doku Mühendisliği Uygulama Yöntemleri

Nörolojik doku mühendisliğinde ilk uygulanan yöntemler ve stratejiler, günümüz nanobiyoteknolojisine şekil vermiştir. Geçmişte yaygın olarak kullanılan bazı yaklaşımlar ve malzemeler şu şekildedir:

1. Sentetik İskeleler: Poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) ve polikaprolakton (PCL) gibi sentetik biyolojik olarak parçalanabilir polimerler, nöral doku mühendisliği için yaygın olarak kullanılmıştır. Bu iskeleler, nöronal büyüme ve rejenerasyon için yapısal destek ve rehberlik sağlamıştır.
2. Doğal Polimerler: Kolajen, hiyalüronik asit ve kitosan gibi doğal polimerler, nörolojik doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılmıştır. Bu malzemeler, mükemmel biyo-uyumluluk sunmakla birlikte hücre yapışması, migrasyon ve farklılaşma gibi süreçleri teşvik eden hücre dışı matriks (ECM) ortamını taklit edebilmiştir.
3. Sinir Kök Hücreleri (SKH): Embriyonik dokudan veya indüklenmiş pluripotent kök hücrelerden (iPSC'ler) türetilen sinir kök hücreleri, nöronlar ve destek hücreleri olarak farklılaşma yetenekleri nedeniyle kullanılmıştır. Bu hücreler, iskelelere ekilebilmekte veya doğrudan hasarlı bölgeye enjekte ediliyor ve doku rejenerasyonunu teşvik edebilmiştir.
4. Büyüme Faktörleri ve Biyomoleküller: Sinir büyüme faktörü (NGF) ve beyin türetilmiş nörotrofik faktör (BDNF) gibi büyüme faktörleri, nöronların hayatta kalması, farklılaşması ve aksonal büyümesinin geliştirilmesi için kullanılmıştır. Ayrıca; lamine ve fibronektin gibi biyomoleküller, hücre yapışması ve sinir çıkışının teşvik edilmesi için iskelelerin üzerine kaplama olarak kullanılmıştır.

5. Biyoreaktörler: Biyoreaktörler, nöral doku mühendisliği için kontrol edilebilmiştir ve dinamik bir ortam oluşturmak için kullanılmıştır. Bu sistemler, mekanik uyarım, besin sağlanması ve atık uzaklaştırma sağlayarak hücre büyümesini ve doku gelişimini artırmak için fizyolojik koşulları taklit etmiştir.

Nöral doku iskelesi üretimi, karmaşık bir süreçtir ve çeşitli adımları içerir. İlk olarak, uygun bir biyomalzeme seçilmelidir. Bu biyomalzeme, hücrelerin büyümesi ve fonksiyonlarını yerine getirmesi için uygun fiziksel, kimyasal ve mekanik özelliklere sahip olmalıdır. Özellikle, nöral hücrelerin adezyonu, göçü ve farklılaşması üzerinde olumlu etkileri olan yüzey özelliklerine sahip olmalıdır.

İlk aşamada, hücrelerin biyomalzemeler üzerine eklenmesi gerekmektedir. Bu adımda, nöral hücrelerin iskele yüzeyine tutunması ve hücre-matris etkileşimi sağlanmalıdır. Hücrelerin iskele içinde yayılabilmesi ve düzenli bir şekilde organize olabilmesi için uygun mikro çevre koşulları oluşturulmalıdır. Bu hedefe ulaşmak için hücreleri büyüme faktörleri veya biyolojik sinyal molekülleri ile uyarmak gibi stratejiler kullanılabilmektedir.

Son aşamada, oluşturulan nöral doku iskelesi, hasarlı veya eksik nöral doku bölgelerine uygulanmaktadır. İskele, yetersiz veya hasar görmüş nöral ağların onarımını desteklemek ve işlevselliği yeniden kazandırmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu uygulama, sinir sistemi yaralanmaları, dejeneratif sinir hastalıkları veya nörolojik bozuklukların tedavisi için potansiyel bir çözüm olabilir. Öncelikle Nörolojik doku mühendisliğinde ilk uygulanan yöntemler ve stratejiler günümüz nanobiyoteknolojisine şekil vermiştir.

2.3.1 Doku Üretim Yöntemleri

Günümüzde, geleneksel üretim teknikleri arasında elektroeğirme, faz ayrımı, gaz köpürme, dondurarak kurutma ve çözücü dökümü bulunmaktadır.

2.3.2 Faz Ayrımı

Faz ayrımı tekniği, düşük ve yüksek polimer konsantrasyonlarına sahip iki fazda polimerik çözeltiyi ayıran bir sıcaklık değişimini gerektirir. Polimer, genellikle fenol veya naftalin içinde çözülmekte, ardından biyolojik olarak aktif molekül bu çözeltiler içinde dağılmaktadır. Sıcaklığın düşürülmesiyle sıvı-sıvı faz ayrılması gerçekleşir ve iki fazlı bir katı oluşur. Çözücü daha sonra bu yapıdan

ekstraksiyon, buharlaştırma ve süblimleşme yoluyla uzaklaştırılarak gözenekli yapı iskeleleri oluşturulur.

2.3.2.1 Gaz Köpürme

Gaz köpürme tekniği, organik çözücülerin ve yüksek sıcaklıkların kullanılmasını gerektirmez. Bu teknik, yüksek basınçlı karbondioksit gazının kullanılmasıyla yüksek gözenekli yapı iskeleleri üretir. İskelelerin gözenekliliği ve yapısı, polimerde çözünen gaz miktarına bağlıdır. Bu teknik genellikle 30 ila 700 μm gözenek büyüklüğünde ve %85'e kadar gözenekliliğe sahip sünger benzeri yapılar üretir.

2.3.2.2 Dondurarak Kurutma

Dondurarak kurutma tekniği, gözenekli yapı iskeleleri oluşturmak için kullanılır. Bu teknik üç ana aşamadan oluşur: çözeltinin düşük sıcaklıkta dondurulması, dondurulmuş numunenin basınç düşürülen bir odada kısmi bir vakumda birincil kurutma işlemine tabi tutulması ve ardından malzemenin içindeki buzun süblimleşmesi ve donmamış suyun ikincil kurutma işlemiyle uzaklaştırılması.

2.3.2.3 Çözücü Dökümü ve Parçacık süzme

Bu teknikte, belirli bir boyutta düzgün dağılmış tuz parçacıkları ile birleştirilmiş bir çözücü kullanılarak polimer çözeltisi çözülür. Çözücü buharlaştığında, tuz parçacıkları içeren bir matris oluşur. Matris, suya batırıldığında tuz, yüksek gözenekliliğe sahip bir yapı oluşturmak üzere süzülür. Parçacık süzme ve çözücü dökümü, ince duvarlı üç boyutlu örneklerin zarlarına uyum sağlamak için kullanışlıdır, aksi halde çözünebilen partiküller polimer matrisinden ayrılamaz. Bu yöntemle üretilen iskelelerin gözenekliliği genellikle %50 ila %90 arasında değişmektedir.

2.3.2.4 Elektroeğirme

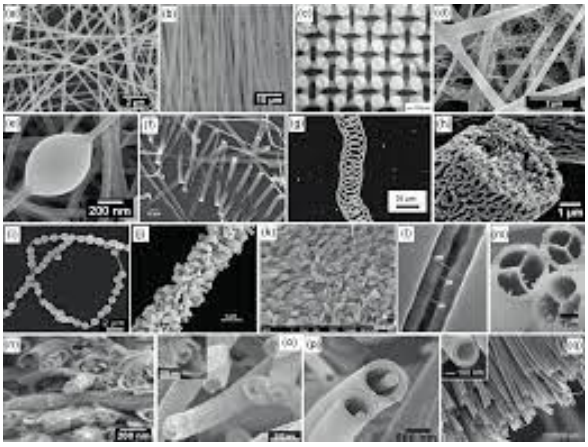
Elektroeğirme, genellikle nano ölçekte (<1000 nm) veya mikro ölçekte (>1 μm) fiberler üretmek için kullanılan bir tekniktir.[47]

Bu yöntemin uygulanması için yüksek voltaj kaynağıyla birlikte şırınga pompası ve bir toplayıcı gereklidir. İlk önce, polimer çözeltisiyle doldurulmuş şırıngadaki sıvının yüzey gerilimi ile tutulması için şırınga pompasına yerleştirilmesi ve ardından çok yüksek bir voltaj uygulanması gerekmektedir. Elektrik alanının

etkisiyle, karşılıklı yük itme, polimer çözeltisi içinde oluşur. Elektrik alanının yoğunluğu arttıkça, yük itme gücü yüzey gerilimini aşarak bir püskürtme oluşturur. En sonunda, püsküren polimer çözeltisi toplayıcıya yönlendirilirken çözücü buharlaşır. [48]

2.4 Nöral Doku Mühendisliğinde Elektro Eğirme Yöntemi

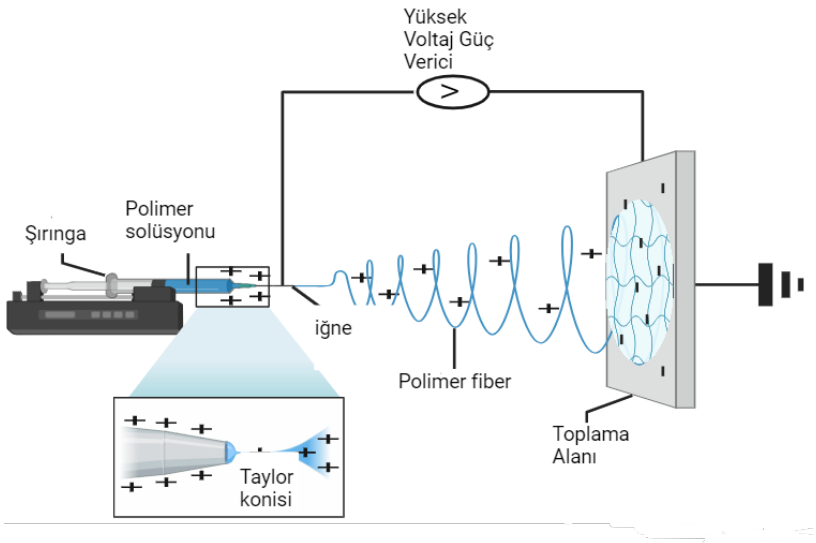
Elektro eğirme, nanofiberlerin üretiminde kullanılan bir nano mühendislik yöntemidir. Bu süreçte, polimer çözeltisi veya eriyiği yüksek elektrik alanlarının etkisiyle ince iplikçiklere çekilmektedir. Elektrik alanın etkisiyle eksi veya artı olarak yüklenen sıvı çözelti molekülleri, tıpkı birbirini iten iki mıknatısın benzer kutupları gibi davranarak birbirinden uzaklaşma eğilimindedir. Bu birbirini itme kuvveti, içeriğindeki sıvının elektrik alan doğrultusunda su damlası şeklini alabilmesine neden olmaktadır ama bu kuvvet, belirli bir noktada o kadar güçlü noktaya gelir ki bu sıvı damlası adeta bir sakız gibi uzar ve incelir. Hava içinde ilerleme halindeyken kuruyan bu sıvı çözelti, karşısındaki plaka üzerinde çözülmüş bir yumak gibi kesintisiz bir şekilde ipliksi fiberler halinde toplanmaktadır. Bu elektroeğirme yöntemiyle, günümüzde 20.000 kat (mikron büyüklüğünde) daha yani bir insan saçından daha ince, nano ölçekte ipliksi yapıların üretilmesi mümkün olmaktadır. Oluşturulan bu ipliksi yığın, biyotıp alanında birçok uygulamada kullanılabilecek yüzey özellikleri ve fiziksel özelliklere sahiptir. Bu alanlar arasında Şekil 2.10'da görüldüğü gibi doku mühendisliği, ilaç taşıma sistemleri, yara iyileşmesi, filtrasyon ve tekstil endüstrisi gibi geniş bir yelpaze yer almaktadır. [49,53,78]



Şekil 2.10 Karmaşık ipliksi yapıların elektroeğirme düzeneğiyle istenilen şekilde modifiye edilerek çok farklı ve kolayca elde edilebilmesi [50]

1. Polimer Çözeltisi Hazırlama: İlk adım, polimerin uygun çözücü içinde çözülmesidir. Bu çözelti, nanofiber üretimi için kullanılacak olan polimerin özelliklerine bağlı olarak özel olarak tasarlanmalıdır.
2. İğne Ucu ve Toplayıcı Hazırlama: Elektro eğirme düzenekleri, yüksek voltajın uygulandığı bir iğne ucunu ve nanofiberlerin toplandığı bir yüzeyi içermektedir.
3. Elektro Eğirme: Polimer çözeltisi, yüksek voltaj uygulanan iğne ucundan damlacıklar halinde akıtılır. Elektrik alan, damlacıkları yüzeyden çekme ve ince iplikçikler oluşturur. Bu iplikçikler toplayıcı yüzeye biriken nanofiberler olarak biriktirilir.
4. Nanofiberlerin Toplanması: Toplayıcı yüzeyde biriken nanofiberler, istenilen kalınlık ve yoğunlukta bir mat oluştururlar. Bu mat, çeşitli uygulamalarda kullanılabilmektedir.

Elektro eğirme yöntemi, çok düşük akış hızlarında kV uygulanarak viskoz sıvıların nano boyutlu liflere dönüştürülmesi işlemidir. Viskoz sıvı olarak bu işlemin uygulamasında polimer eriyik veya solüsyon kullanılmaktadır. Tekdüze akışla tıbbi şırınganın ucuna gelen çözelti, yüzey gerilimlerinin etkisiyle küresel bir damlacık oluşturur ve bu noktada elektrik kuvvetlerinin etkisi altında gittikçe incelerek (Taylor konisi) [51,52,53] nanolifler olarak topraklanmış toplayıcıya aktarılır. Aralarında belirli bir mesafede gerçekleştirilen bu yöntem Şekil 2.11'de gösterildiği gibidir.



Şekil 2.11 Elektro eğirme yöntemi çalışma prensibi

2.4.1 Elektro Eğirme Parametreleri

- Polimer Çözeltisi Hazırlama: İlk adım, polimerin uygun çözücü içinde çözülmesidir. Bu çözelti, nanofiber üretimi için kullanılacak olan polimerin özelliklerine bağlı olarak özel olarak tasarlanmalıdır.
- İğne Ucu ve Toplayıcı Hazırlama: Elektro eğirme düzenekleri, yüksek voltajın uygulandığı bir iğne ucunu ve nanofiberlerin toplandığı bir yüzeyi içermektedir.
- Elektro Eğirme: Polimer çözeltisi, yüksek voltaj uygulanan iğne ucundan damlacıklar halinde akıtılır. Elektrik alan, damlacıkları yüzeyden çekme ve ince iplikçikler oluşturur. Bu iplikçikler toplayıcı yüzeye biriken nanofiberler olarak biriktirilir.
- Nanofiberlerin Toplanması: Toplayıcı yüzeyde biriken nanofiberler, istenilen kalınlık ve yoğunlukta bir mat oluştururlar. Bu mat, çeşitli uygulamalarda kullanılabilmektedir.

Uygulama düşük voltajlarda gerçekleştiğinde damla iğnenin ucuna asılma ve Taylor konisi oluşturabilecek jet sferoid olmayan bir dönüş üretme prensibine dayanmaktadır. Şekil 2.12'de görülen yüksek gerilim amplifikatöründen voltaj artmaya devam ettikçe, iğne ucundaki düşüşün hacmi azalmasıyla beraber Taylor konisinin de geri çekilmesine sebep olmaktadır. Voltaj biraz daha artırıldığında, jet iğne ucunun kenarında görünmektedir. Taylor konisi olmadan dolaşmaya başlarsa bu koşullar altında birçok partikül yapısı gözlemlenebilmektedir. Sonuçta da oluşan gerilimin fiberlerin çapları üzerindeki etkisi görülebilmektedir.



Şekil 2.12 Yüksek gerilim amplifikatörü

Diğer bir önemli parametre de şırıngadaki polimer çözeltisinin akış hızıdır. Genelde, polimer çözeltisinin yeterli sürede polarizasyona ulaşması için verilecek düşük bir akış hızı tavsiye edilmektedir. Çok yüksek bir akış hızı verildiğindeyse ince çaplı düz lifler yerine büyük çaplı parçacıklı lifler oluşabilmektedir. Bunun

sebebiyse toplayıcı plakaya ulaşmadan önceki düşük gerdirme kuvveti ve kısa kuruma süresidir.

Son olarak; toplayıcı plaka ve şırınga arasındaki mesafenin, lif çapını ve morfolojisini etkilediği bilinmektedir. Özetlenecek olursa aradaki mesafe kısaldığında liflerin toplayıcı plakaya ulaşmadan katılaşması için yeterli zamanı olamayacaktır. Buna karşılık aralarındaki mesafe biraz daha fazlalaştığında partikül lifleri elde edilebilmektedir.

Bu şekilde potansiyel çözümlerin ileri gitmesi için kullanılan ve nöral doku mühendisliğinde grafen ve grafen oksitle yapılan çalışmalar da aynı zamanda hız kazanmıştır. Bununla birlikte; grafen tabanlı nanomalzemelerin ilaç taşıma, biyosensör ve kanser gibi uygulama alanlarında büyük gelişmeler kaydedilmiştir. Bununla birlikte, doku mühendisliği alanında kullanımları yeni olmasıyla birlikte umut verici bir araştırma alanı olarak karşımıza çıkmaktadır. Grafen tabanlı nanomalzemelerin biyouyumu 2B ve 3B morfolojisinde kararlı bir fizikokimyasal yapıya, in vivo bozunmaya ve esnekliğe sahiptir. Kök hücrelerin, bu özellikler sayesinde istenilen belli bir hücre hattına farklılaşması için en iyi seçim olarak düşünülmektedir. Bugüne kadar tedavi olasılığı pek görülmeyen beyin travması, omurilik hasarı, Parkinson ve Alzheimer gibi hastalıkların çözümü için nöral farklılaşma ve nöral kök hücreler büyük ilgi görmektedir.

2.5 Tezin Amacı

Nörodejeneratif hastalıklar veya fiziksel yaralanmalar, merkezi sinir sistemi fonksiyonunun kaybına yol açabilir. Sinir rejenerasyonu, merkezi sinir sisteminin düşük rejeneratif kapasitesi ve karmaşıklığı nedeniyle zorlu bir klinik süreçtir. Kök hücre tabanlı tedavi, hasarlı sinirin rejenerasyonunda umut verici bir yaklaşım olmasına rağmen, bu hücrelerin doğrudan transplantasyonu, kısa süreli hücre sağ kalımı ve konakçı doku ile sınırlı entegrasyon gibi sorunlara neden olabilmektedir. Bu durum, nöral dokuların tam ve hızlı rejenerasyonunu zorlaştırabilmektedir. Ayrıca, nöral hasarların onarımında hücrelerin belirli bölgelere yönlendirilmesi ve manipüle edilmesi de önemli bir zorluktur. Elektro eğirme yöntemiyle nöral doku mühendisliği yaklaşımı, doğal hücre dışı matrisi taklit eden, biyouyumlu ve biyobozunur, elektroaktif nöral iskelelerin geliştirilmesine olanak tanımaktadır. Bu iskeleler, hasarlı bölgede hücrelere

gerekli fiziksel desteği sağlamakla beraber konakçı doku ile daha iyi entegrasyonu teşvik ederek yeni doku gelişimine katkıda bulunabilmektedir. Ayrıca, doku iskelesi uygulamasının, hasarlı bölgede daha hızlı iyileşmeyi destekleyebileceği düşünülmektedir. Bu tez çalışması, elektro eğirme yöntemiyle omurilik hasarı için uygulama yapılarak, içinde kolajen (Col), grafen oksit (GO) ve polivinil alkol içeren bir yöntem kullanacaktır. Ayrıca, biyomalzeme seçimi, doku iskelesi ve uygulama stratejileri gibi önemli konulara odaklanacaktır.

2.6 Hipotez

Nöral doku mühendisliği için geliştirilen biyouyumlu iskelelerin mekanik dayanımını, iletkenliğini ve biyo-uyumluluğunu artırmak amacıyla, polimerleri iletken nanopartiküllerle birleştirme stratejisi, malzemelerin işlevselliğini artırmada etkili bir yöntem olarak kabul edilir. Bu bağlamda, çalışmada iletken malzeme olarak grafen oksit (GO) tercih edilmiş ve bu malzeme nörit büyümesini destekleyerek anjiyojenik restorasyonu artırması nedeniyle seçilmiştir. Ana malzeme olarak ise nöral iskelede biyo-uyumluluğu, biyobozunurluğu ve uygun hücre ortamı oluşturabilmesi özellikleriyle Polivinil alkol (PVA) kullanılmıştır. Elektro eğirme yöntemiyle üretilen nöral iskeleler, geleneksel yöntemlere göre daha kolay şekil ve yapı kontrolü sağlamaktadır. Grafen oksit, kolajen ve PVA, benzersiz özelliklere sahip üç farklı malzemedir. Grafen oksit, olağanüstü mekanik dayanıklılık ve iletkenlik özelliklerine sahiptir. Kolajen, yapısal destek ve canlı dokularla uyumluluk sunmaktadır. PVA ise suda çözünebilirlik ve çok yönlülük avantajlarına sahiptir. Bu malzemelerin uygun şekillerde birleştirilmesi, elektronik, biyomalzemeler ve biyomedikal uygulamalarda gelişmiş malzemelerin tasarımında büyük potansiyel taşımaktadır. Bu tez çalışması, nöral doku mühendisliği uygulamalarının gelişimine katkıda bulunmayı ve gelecekteki çalışmalara rehberlik etmeyi amaçlamaktadır.

3
HAZIRLIKLAR

3.1 Malzemeler

3.1.1 Kimyasallar

3.1.1.1 Grafen Oksit Sentezinde Kullanılmış Olan Kimyasallar

Grafen oksit sentezinde kullanılan kimyasallar Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1 Grafen oksit sentezinde kullanılan kimyasallar

Malzeme	Özellik	Marka
Grafit	mesh size 300	Graphene Supermarket
Fosforik asit (H_3PO_4)	% 85	Merck Millipore (7664-38-2, Almanya)
Sülfirik asit (H_2SO_4)	% 98	Merck Millipore (7664-93-9, Almanya)
Hidroklorik Asit (HCl)	% 37	ISOLAB (7647-01-0, Almanya)
Potasyum Permanganat ($KMnO_4$)	% 99.9	ISOLAB (7722-64-7, Almanya)
Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	% 20	KIMPA (7722-84-1, Türkiye)
Etanol (C2H5OH)		ISOLAB (64-17-5, Almanya)

3.1.1.2 PVA/Col/GO/Gen Çözeltisinde Kullanılan Kimyasallar

Tablo 3.2 PVA/Col/GO/Gen çözeltisinde kullanılan kimyasallar

Malzeme	Özellik	Marka
Grafit	mesh size 300	Graphene Supermarket
Fosforik asit (H_3PO_4)	% 85	Merck Millipore (7664-38-2, Almanya)
Sülfirik asit (H_2SO_4)	% 98	Merck Millipore (7664-93-9, Almanya)

Tablo 3.2 PVA/Col/GO/Gen çözeltisinde kullanılan kimyasallar (devamı)

Hidroklorik Asit (HCl	% 37	ISOLAB (7647-01-0, Almanya)
Potasyum Permanganat ($KMnO_4$)	% 99.9	ISOLAB (7722-64-7, Almanya)
Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	% 20	KIMPA (7722-84-1, Türkiye)
Etanol (C2H5OH)		ISOLAB (64-17-5, Almanya)
PVA	%13	Sigma-Aldrich
Kolajen (Col)	%0,25	Sigma-Aldrich
Asetik asit (CH_3COOH)	%0,01	Merck Millipore
Gentamisin (Gen)	%1	Sigma-Aldrich

3.2 Kullanılan Teçhizatlar/Makineler

Tezde kullanılan teçhizat/makina listesi Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.3 Tezde kullanılan teçhizat/makina listesi

Cihaz	**Marka**
Hassas Terazi	Precisa (XB 220A)
Ultrasonik banyo	ISOLAB (621.05.001, Almanya)
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	BIOSAN (TS-100, Riga, Letonya)
Termal çalkalayıcı	EVA (MA 10, ZEISS, ABD)
Manyetik karıştırıcı	WiseStir (MSH-20A, Almanya)
Elektro eğirme	New Era Pump Systems (NE-300, ABD)
Elektroeğirme cihazı için voltmetre	Genvolt (7xx30, ABD)
Etüv	Electro-Mag (M 420 P, Türkiye)

Tablo 3.3 Tezde kullanılan teçhizat/makina listesi (devamı)

Çeker ocak	Enlab (Türkiye)

3.3 Grafen Oksit Sentezlenmesi

a. Reaksiyon

360 ml sülfürik asit (H2SO4) ve 40 ml fosforik asit (H_3PO_4), bir beher içinde karıştırılmıştır. Beher, yağ yatağına yerleştirildi ve yağın seviyesi, sıvı karışımın üzerinde olduğundan emin olmak için kontrol edilmiştir. Yağın sıcaklığı 55-60°C arasına ayarlandı; bu sıcaklık, reaksiyonun sıcaklığını 40-45°C arasında sabitlemek için kullanılmıştır. Beher, yağ yatağı ile karıştırıcıya alındı ve 200 rpm hızında karıştırılmıştır. Ardından, 3 g grafen asit solüsyonu yavaşça eklenerek ve buna ek olarak 18 g potasyum permanganat ($KMnO_4$) solüsyonu yavaşça eklenerek devam edilmiştir. Reaksiyon sıcaklığı, termometre ile sık sık ölçülmüştür. Bu reaksiyon, 40-45°C sıcaklıkta 16 saat boyunca karıştırılmıştır.

b. Reaksiyon Söndürme

Büyük bir beherin içine 400 g buz eklenerek süspansiyon karıştırılmıştır. 16 saat boyunca karıştırılan süspansiyon, buz içeren başka bir beher içine aktarılarak karıştırılmıştır. (Süspansiyon aktarılırken, beherde grafen oksit kalmasına dikkat edilmiştir.) Süspansiyon, buzla birlikte karışırken içine 3 ml H2O2 (%30 ağırlıkça) damla damla eklenmiştir. GO sentezlenirken reaksiyonun buz içinde yapılmasının sebebi, reaksiyonun ekzotermik olmasıdır. Elde edilen grafitlerin renginin beyaz olması, reaksiyonun başarılı olduğunu göstermektedir. Eğer grafitler hala gri veya siyahsa, reaksiyona baştan başlanması gerekmektedir.

c. Yıkama

Elde edilen karışım, 3000 rpm'de 45 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant (asit), atık kutusuna boşaltılmıştır. Pelletlerin yıkanması için santrifüj tüpleri, 400 ml'e kadar saf su ile doldurulmuş ve 5000 rpm'de 45 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Daha sonra sırasıyla HCl ile 3 kez ve saf etanol ile 3 kez 5000 rpm'de 45'şer dakika süreyle santrifüj yapılmıştır.

d. Kurutma

Grafen oksitin etüvde kurutulmasıyla nanopartiküller elde edilmiştir. Elde edilen grafitler, şerit şeklinde (yaklaşık 6 mm) kesilerek elektriksel analiz için cam üzerinde olacak şekilde yerleştirilmiştir. Dört noktalı prob (four probe) yöntemi kullanılarak grafen oksit filmlerinin elektriksel analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz için cam lamel üzerine bakır banttan hazırlanan elektrotlar yerleştirilmiştir. Dıştaki kalın bantlar arasına akım uygulanmıştır ve içte kalan ince bantlar arasındaki voltaj ölçülmüştür. GO film yapıda hazırlandıktan sonra elektriksel iletkenlik değerlerinin hesaplanması için tek yöndeki direnç değerleri okunmuştur.

3.4 Doku İskelesi Eldesi

Tablo 3.4'te, 5 farklı bileşenle hazırlanan doku iskelesi grubu listelenmiştir.

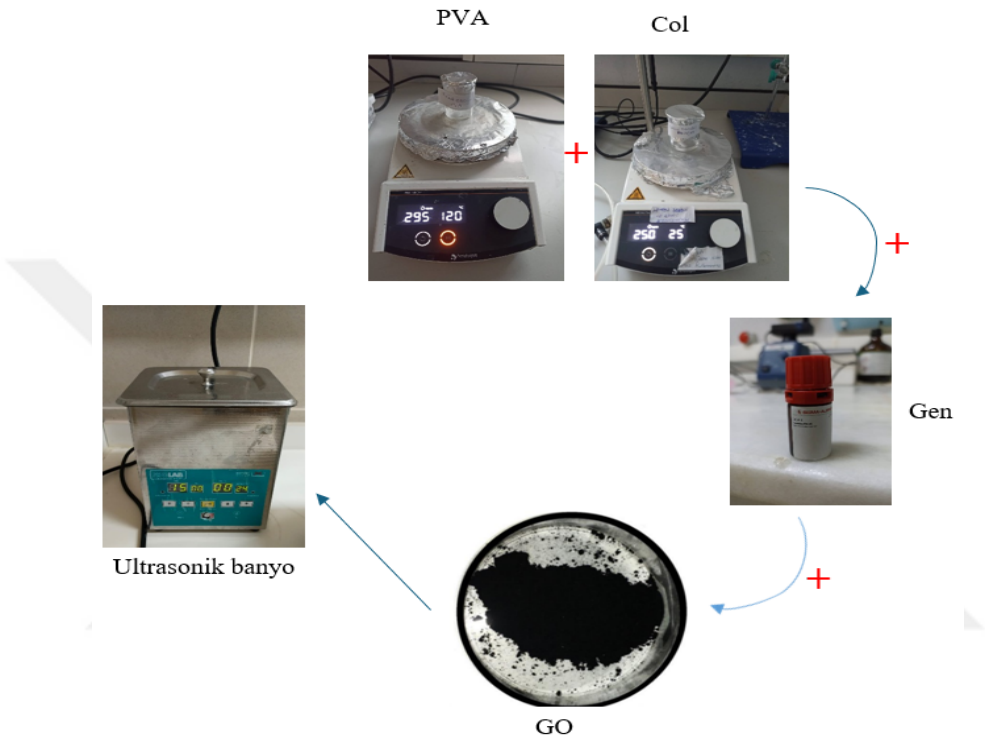
Tablo 3.4 5 farklı bileşenle hazırlanan doku iskelesi grubu

	PVA	**Col**	**GO**	**Gen**
1.grup	+	-	-	-
2.grup	+	+	-	-
3.grup	+	+	-	+
4.grup	+	+	+	-
5.grup	+	+	+	+

5 farklı deney grubunda sırasıyla;

- 1. grupta kör olarak 10mL dH_2O eklenen PVA, ısıtıcılı karıştırıcıda 120°C'de 295 rpm hızında çözdürüldü.
- 2.grupta 1.gruba takiben ayrı bir erlende 4 mL dH_2O ve 1 mL asetik asit eklenen Col 15-20 dk karıştırıcıda karıştırıldı. PVA'nın ısıtıcısı kapatılarak 35°C'ye kadar soğutulup PVA'dan 8 mL ve Col'den 2 mL çekilerek toplam 10 mL solüsyon hazırlandı.
- 3. grupta 2. grubun aynı adımları izlendikten sonra +2 mg Gentamisin(Gen) eklendi.

- 4.grupta 2. grup adımlarına takiben 0,05 gr GO solüsyona eklendikten sonra 15 dk sonikatör yardımıyla parçalama işlemi yapıldı.
- 5. grupta 3. grubu takiben 0,1 gr GO eklendikten sonra Şekil 3.14'te görüldüğü gibi 15 dk ultrasonik ses banyosunda çözdürülme işlemi yapıldıktan sonra tüm gruplar ayrı ayrı dahil olmak üzere elektro eğirme işlemine tabi tutularak nanofiber iskeleler yapıldı.

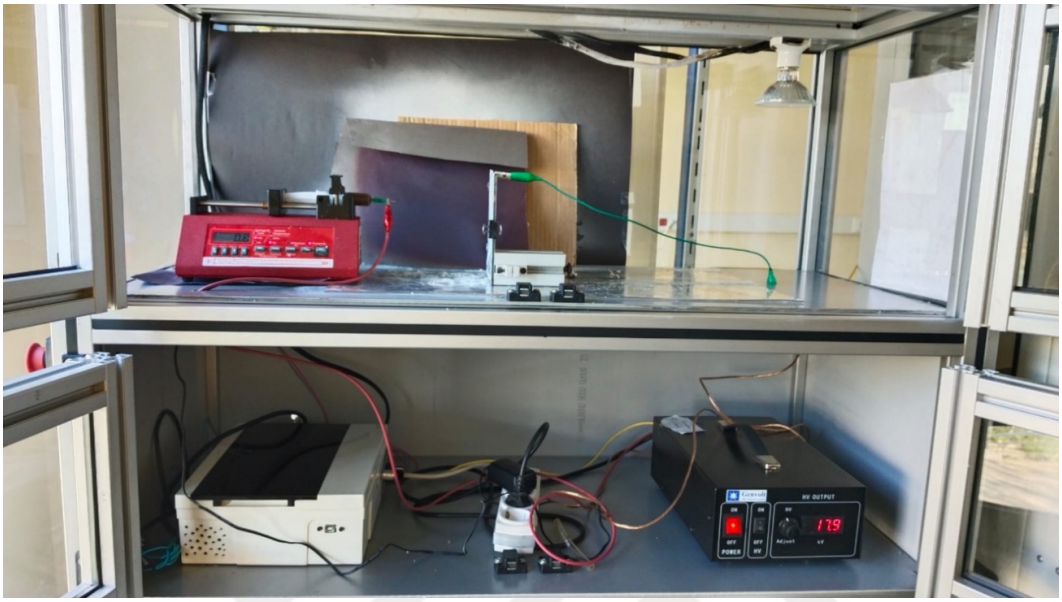


Şekil 3.1 Farklı bileşenler kullanılarak doku iskelesi gruplarının hazırlanması

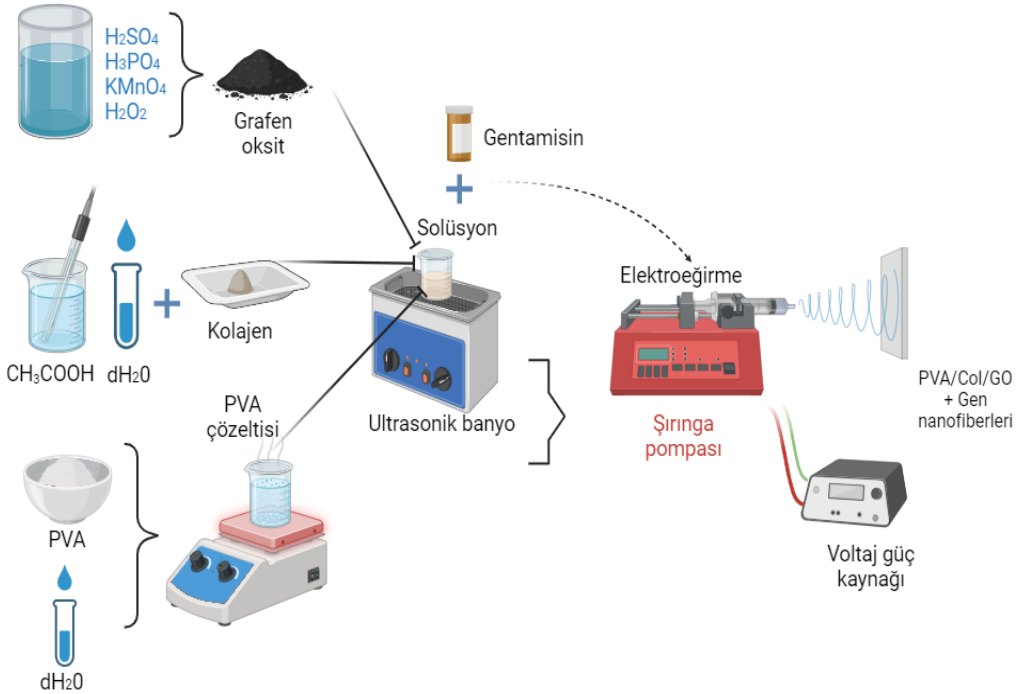
3.4.1 PVA/Col/GO Kompozit Nanofiberler için Elektroeğirme ile Üretimi

Elektroeğirme uygulaması, laboratuvar ölçekli bir elektroeğirme ünitesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nanofiberlerin oluşturulması için PVA/Col/GO polimer çözeltisi, 18 kalibreli paslanmaz çelik iğneye sahip bir plastik şırıngaya yerleştirilmiştir. Şırınga, polimer çözeltisinin akış hızını düzenlemek amacıyla bir şırınga pompasına monte edilmiştir (New Era Pump Systems, NE-300, USA). Elektroeğirme işleminden önce, optimal parametreler belirlenmiş ve cihaz bu parametrelere göre ayarlanmıştır. Şırınga pompasının akış hızı, 0.8 ml/saat sabit bir hıza getirilmiştir. Şırıngadaki iğnenin ucu ile nanofiberlerin toplanacağı levha arasındaki mesafe 15 cm olarak ayarlanmıştır. Nanofiberlerin toplandığı levha, eğriliği önlemek için 20x20 boyutunda yağlı kâğıt ile kaplanmıştır. Elektroeğirme işleminde kullanılan doğru akım güç kaynağı (GENVOLT, 7xx30, USA) 15 kV

olarak ayarlanmıştır. Tüm bu ayarlamalardan sonra Şekil 3.2'de görülen elektroeğirme işlemi başlatılmış ve ortalama olarak 4 saat sürdürülmüştür Aynı elektroeğirme koşulları altında, saf PVA, PVA/Col, PVA/Col/Gen, PVA/Col/GO, PVA/Col/GO/Gen nanofiberleri hazırlanmıştır.



Şekil 3.2 Elektro eğirme cihaz düzeni



Şekil 3.3 Elektroeğirme ile nanofiber üretim süreci şematize gösterimi

3.4.1.1 İskelelerin çapraz bağlanması

Her bir doku iskelesi hazırlanma süreci ve elektro eğirme süreci bittikten sonra çaprazlama için %50'lik gluteraldehit çözeltisi hazırlanarak 5 saat 40°C kalacak şekilde nanofiberler Şekil 3.4.te görülen etüve bırakılmıştır.



Şekil 3.4 Etüvde çaprazlama süreci

3.4.1.2 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

İskelelerin morfolojik özellikleri, Şekil 3.5'te görülen bir taramalı elektron mikroskobu (SEM, Zeiss EVO MA10, Oberkochen, Almanya) kullanılarak tanımlanmıştır. 1, 3 ve 7 günlük inkübasyon sonrasında, numuneler, %2,5 glutaraldehit (Sigma, St. Louis, MO, ABD) içeren bir sabitleyici solüsyonla 2 saat boyunca sabitlenmiş ve ardından seri etanol seyreltmeleri (%30, %50, %70, %90 ve %99) ile kurutulmuştur. Kurutulmuş numuneler, altın/paladyum kaplama (Quorum Technologies SC 7620 model, Sacramento, CA, ABD) ile 90 saniye süresince püskürtülerek hazırlanmış ve ardından SEM ile 10 kV voltajında hızlandırılarak gözlemlenmiştir.



Şekil 3.5 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) (MA-EVO10, ZEISS, Almanya)

3.4.1.3 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Nanofiber numunelerinin kimyasal karakterizasyonu için, 4000-400 cm^{-1} aralığı baz alınarak Şekil 3.6'da görülen Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisinde (FTIR) (JASCO 4700, ABD) yapılmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 Fourier Dönüşümü Kızılötesi (FTIR) spektroskopisi (JASCO 4700, ABD)

3.4.1.4 Mekanik Özelliklerin Analizi

Üretilen 3B iskelelerin mekanik özelliklerini incelemek için, öncelikle Şekil 3.8'de verilen 5000 N'luk maksimum kapasiteye sahip çekme cihazı (EZ-LX, Shimadzu, Japonya) kullanılmıştır. Basılan 5 gruptaki tüm Nanofiber doku iskeleleri her birinden 3'er tane örnek alınacak şekilde 9 mm × 18 mm dikdörtgen

levhalar halinde kesilmiş ve yüksek hassasiyetli dijital mikrometre ile Şekil 3.7'deki gibi kalınlıkları ölçüldükten sonra Şekil 3.8'de görülen çekme testi uygulanmıştır.



Şekil 3.7 Kesilen 15 örneğin her biri çekme cihazında (A) iki uçtan mekanik tokalarla dikey şekilde tutturulmuştur. (B) Çekme testi oda sıcaklığında (23 °C) ve 5 mm/dk hız ile gerçekleştirilmiştir.

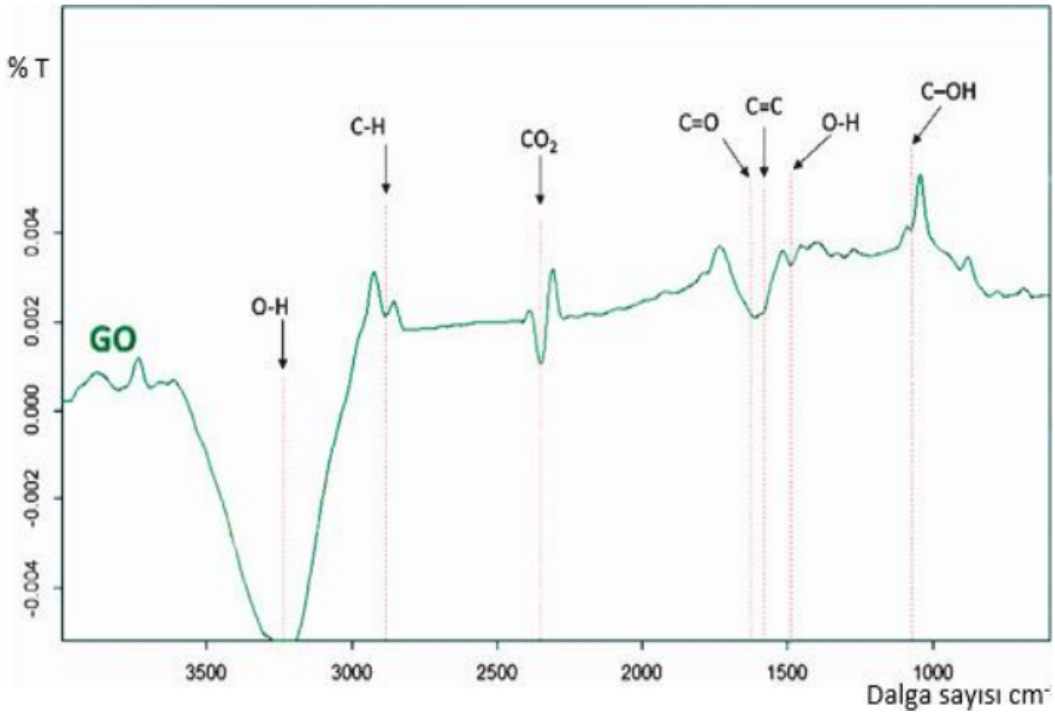


Şekil 3.8 A. Çekme cihazı düzeneği (EZ-LX, Shimadzu, Japonya) B. Örneklerin tutturulması

4
SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1 Sonuç

4.1.1 GO'nun Karakterizasyonu

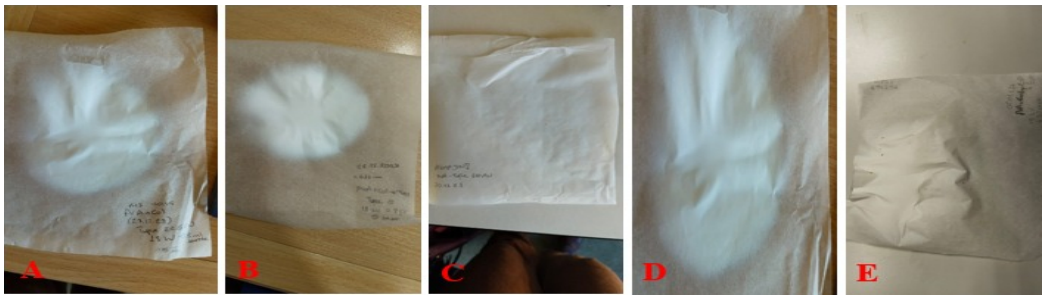


Şekil 4.1 GO'nun FT-IR spektrumu

GO'nun fonksiyonel grupların bağ yapısının FT-IR ile görüntülenmesi için analiz gerçekleştirildi. GO'nun FTIR spektrumu Şekil 4.1'de görülmektedir. 3000- 3500 cm^{-1} arasında, GO üzerine adsorbe olan su moleküllerinin OH gruplarının gerilme ve bükülme titreşimine karşılık gelen geniş bir pik gözlemlenmektedir. Bu pik, GO'nun güçlü bir hidrofilik yapıda olduğunu işaret eder. 1735 cm^{-1}'deki karakteristik pikler karboksil C=O grubunu, 1630 cm^{-1}'deki pik ise aromatik C=C grubunu temsil etmektedir. 1200 cm^{-1}'de görülen absorpsiyon pikleri, karboksilik asitteki C-O bağının gerilme titreşimini yansıtmaktadır. Karboksilik asitte görülen oksijen içeren gruplarının olması, grafitin oksitlenerek grafen oksit yapılarının oluştuğunu göstermektedir. Polar gruplar, özellikle yüzey hidroksil grupları ve grafen oksitle su moleküllerinin arasında hidrojen bağlarının oluşmasına neden olmaktadır. [60] Bu durum, grafen oksidin hidrofilik yapısını daha iyi açıklamaktadır. [61]

4.1.2 Elektroeğirme ile Üretilen PVA/Col/GO Nanofiberlerinin Karakterizasyonu

Elektroeğirme yöntemiyle elde edilen nanofiberlerin yağlı kâğıt üzerine serilmiş durumu Şekil 4.2'de görülmektedir.

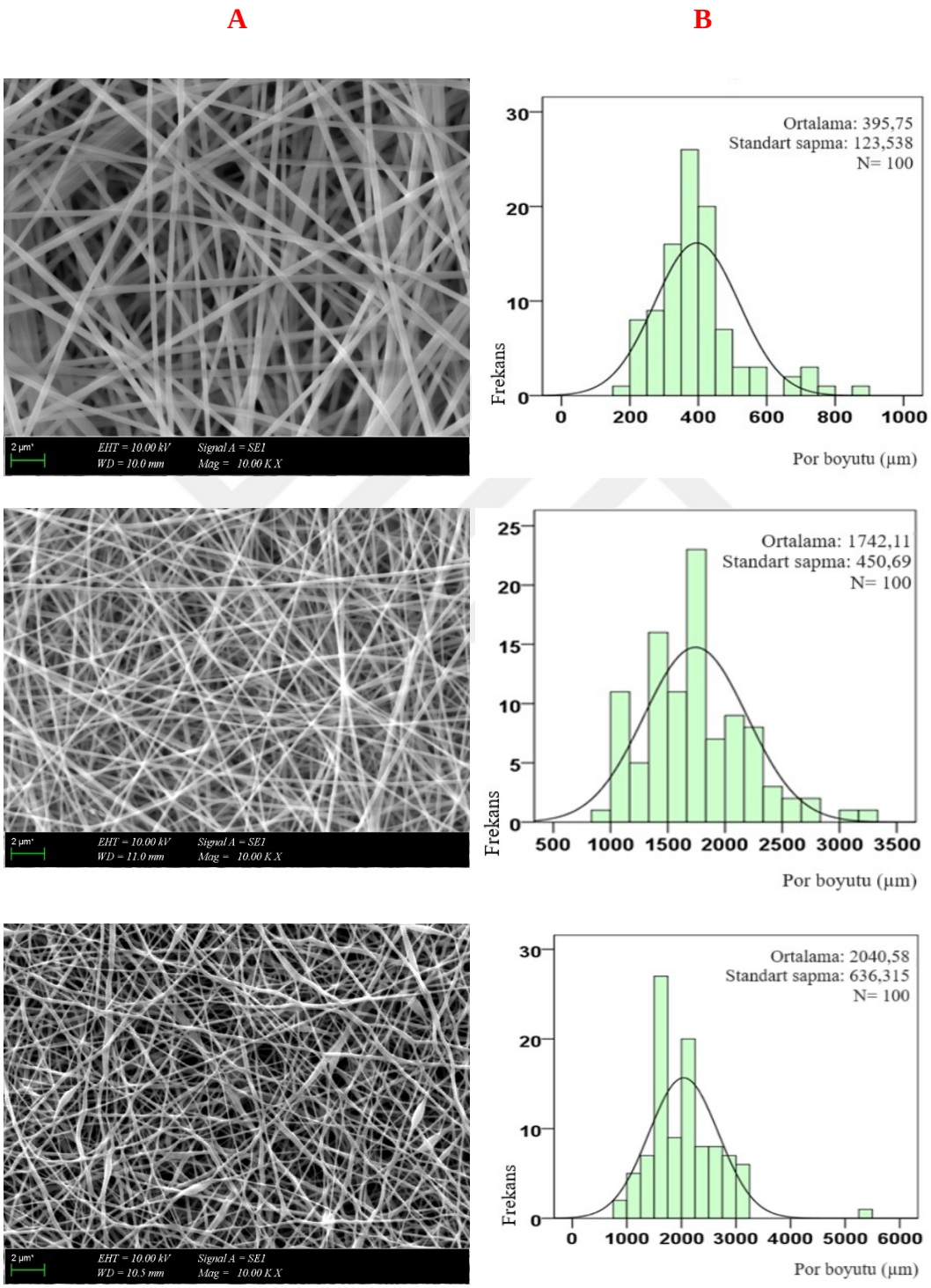


Şekil 4.2 A. saf PVA, B. PVA/Col, C. PVA/Col/Gen, D. PVA/Col/GO, E. PVA/Col/GO/Gen nanofiberleri

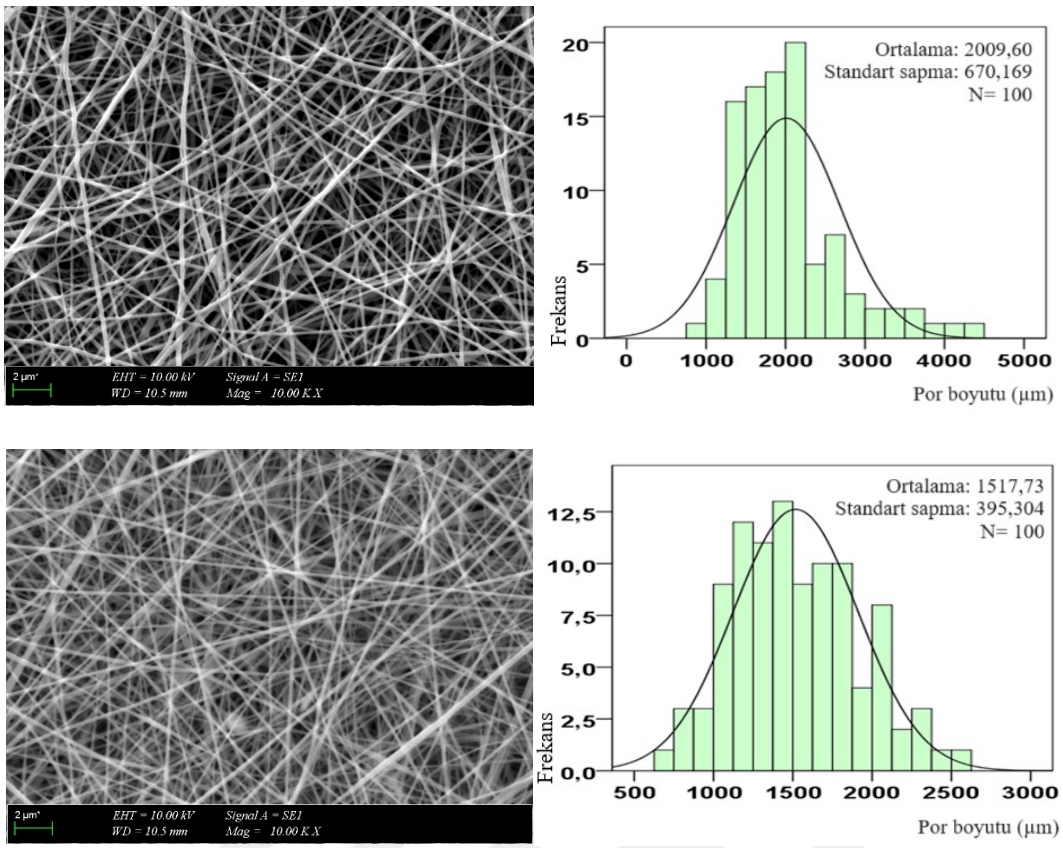
Elektroeğirme yöntemi kullanılarak üretilen nanofiberlerin çapı ile solüsyon içeriği ve süresinin arasında bir ilişki bulunmaktadır. Elektroeğirme işlemi öncesinde voltajın yüksekliği, akış hızı, iğne çapı ve iğne ucu ile levha arasındaki mesafe gibi parametreler de optimize edilmiştir. Elektroeğirme sırasında çözeltiye uygulanan voltaj diğer bir önemli parametredir. Elektrik alanın etkisiyle çözelti üzerinde gerekli yük oluşturularak elektroeğirme tekniğine geçilir. Ancak nanofiber oluşumu için eşik voltajının aşılması gereklidir. Gerilimin değerinin 18 kV olması gerekmektedir. Voltaj değeri bu kritik değerin altına düştüğünde nanofiber oluşumu zorlaşır. İşlem sırasında çok yüksek voltaj uygulandığında daha fazla polimer püskürmesi gözlenir ve polimer jetinin kararlılığı bozulur, bu da nanofiber çaplarının artmasına ve püskürtme sonucu kabarcıklara ve bozulmalara neden olur. Elektroeğirme işleminin bir diğer önemli parametresi ise polimer jetinin akış hızıdır. Hızlı bir akış hızı nanofiber çapında bir artışa neden olurken, çok yavaş bir akış hızı kabarcık oluşumuna neden olabilir. Bu nedenle elektroeğirme işleminin akış hızı ve voltajı, tek tip ve boncuksuz nanofiberler elde etmek için optimize edilmiştir. Elektroeğirme sırasında iğnede tıkanmalar gözlemlenmiştir. Bu durumun birincil nedeni iğnenin iç çapıdır. İğnenin iç çapı küçük olduğunda, nanopartiküller iğneyi tıkayarak fiber oluşumunu engellemiştir. Bu nedenle 18 gauge iğne kullanılmıştır. İkincil neden ise partiküllerin çözelti içinde yeterince dağılmamış olmasıdır. Diğer bir sorun olarak da topraklamada sorun olduğu ve çözelti yeterince homojenize olmadığında yaşanmıştır.

Elektroeğirme işlemine geçmeden önce partiküller iyi bir şekilde çözelti içinde dağıtılmalıdır.

4.1.2.1 Elektroeğirme ile Üretilen Nanofibelerin SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) Sonuçları



Şekil 4.3 Nöral doku iskelelerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) sonuçları



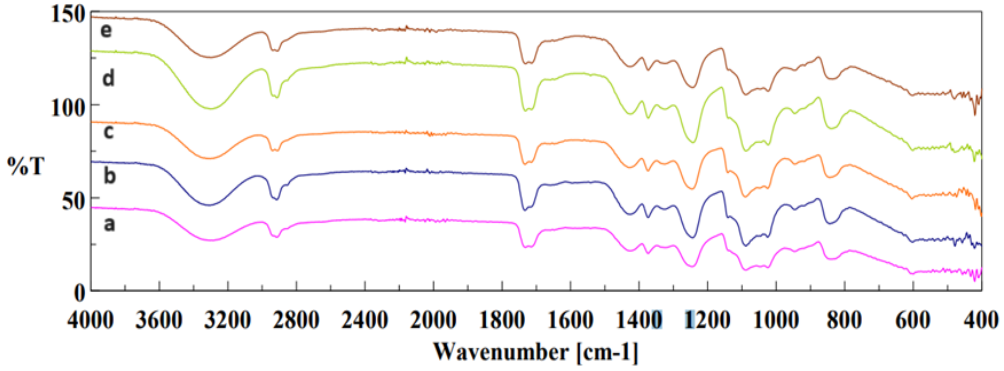
Şekil 4.3 Nöral doku iskelelerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) sonuçları (devamı)

A. SEM görüntüleri (10.00 KX) B. Örneklerin histogram grafikleri 1.PVA 2.PVA/Col 3.PVA/Col/Gen 4.PVA/Col/GO 5.PVA/Col/GO nanolifleri

Farklı içeriklere sahip 5 türden PVA/GO/Col/Gen nanofiberlerinin SEM görüntüleri Şekil 4.3'te A kısmında görülmektedir. Şekil 4.3-4'te GO'nun eklenmesinin nanolif film morfolojisini bozmadığı görülebilmektedir. GO içeriği %1 olduğunda Taylor konisinde tıkanma olmuş fakat %0,5'e düşürüldüğünde nanolif film yüzeyi düz ve GO nanolif yüzeyine daha homojen bir şekilde yapışmıştır. GO içeriği arttıkça, PVA/GO nanoliflerinin yüzeyinde küçük ölçekli aglomerasyonlar görülmeye başlar, bu da GO'nun yüksek yüzey enerjisinden kaynaklanmaktadır.

4.1.2.2 Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Analizleri

Numunelerin bileşimini ve fonksiyonel gruplarını araştırmak için FTIR spektrometresi kullanılmıştır. Şekil 4.4'te PVA, PVA/Col, PVA/Col/Gen, PVA/Col/GO ve PVA/Col/GO/Gen nanofiberlerinin 4000-400 cm-1 FT-IR spektrumları gösterilmiştir.



Şekil 4.4 Nöral doku iskelelerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) sonuçları

A. SEM görüntüleri (10.00 KX) B. Örneklerin histogram grafikleri 1.PVA 2.PVA/Col 3.PVA/Col/Gen 4.PVA/Col/GO 5.PVA/Col/GO nanolifleri

Elektro eğirme işlemi ile üretilen %13 ağırlıklı PVA, %0,5 ağırlıklı Col ve %0,5 GO iskelesinin spektrumları Şekil 4.3'te PVA (a), PVA/Col (b), PVA/Col/Gen (c), PVA/Col/GO (d) ve PVA/Col/GO/Gen (e) sırasıyla görülmektedir. PVA/Col/GO/Gen nanofiberlerinin ana spektrum karakteristiği, 1800-600 cm^{-1} dalga sayısı arasındadır. [62] PVA iskelesi analizi sonucunda ise (pembe spektrum) 3429,43 cm^{-1} dalga sayısında O-H gerilimi ve N-H gerilimi fonksiyon gruplarının varlığını gösterir. C-H gerilim grubu, 2922,16 cm-1 dalga sayısında bulunur. C=C gerilimi ve C=O bağları, 1637,56 cm^{-1} dalga sayısında tespit edilir. C-O gerilim grubu, 1089,58 cm^{-1} dalga sayısında bulunmuştur. %0,5 PVA-kolajen liflerinin analizi sonucunda ise (mavi spektrum) ise 3303,46 cm^{-1} dalga sayısında O-H gerilimi ve N-H gerilimi fonksiyon gruplarının varlığını gösterir. C-H gerilim grubu, 2915,84 cm^{-1} dalga sayısında bulunur. Küme C=C gerilimi ve C=O, 1733,69 cm^{-1} dalga sayısında tespit edilir. C-O gerilim grubu, 1087.66cm^{-1} dalga sayısında bulunur.

2700- 3400 cm^{-1} arasında, GO üzerine (yeşil spektrum) adsorbe olan su moleküllerinin OH gruplarının gerilme ve bükülme titreşimine karşılık gelen geniş bir pik gözlemlenmektedir. Bu pik, GO'nun güçlü bir hidrofilik yapıda olduğunu işaret eder. 1731,76 cm^{-1}'deki karakteristik pikler karboksil C=O grubunu, 1373,07 cm^{-1}'deki pik ise aromatik C=C grubunu temsil etmektedir. 1241,93 cm^{-1}'deki absorpsiyon pikleri, karboksilik asidin C-O bağının gerilme titreşimini yansıtmaktadır. Gruptaki oksijen bulunan grupların varlığıyla grafitin oksitlenerek grafen oksit yapılarının oluşturduğunu göstermektedir. Yüzey hidroksil grupları, özellikle polar gruplar içermesiyle, grafen oksit ve su

molekülleri arasında hidrojen bağlarının oluşmasına neden olur. [60] Bu durum, grafen oksidin hidrofilik yapısını daha iyi açıklamaktadır [63].

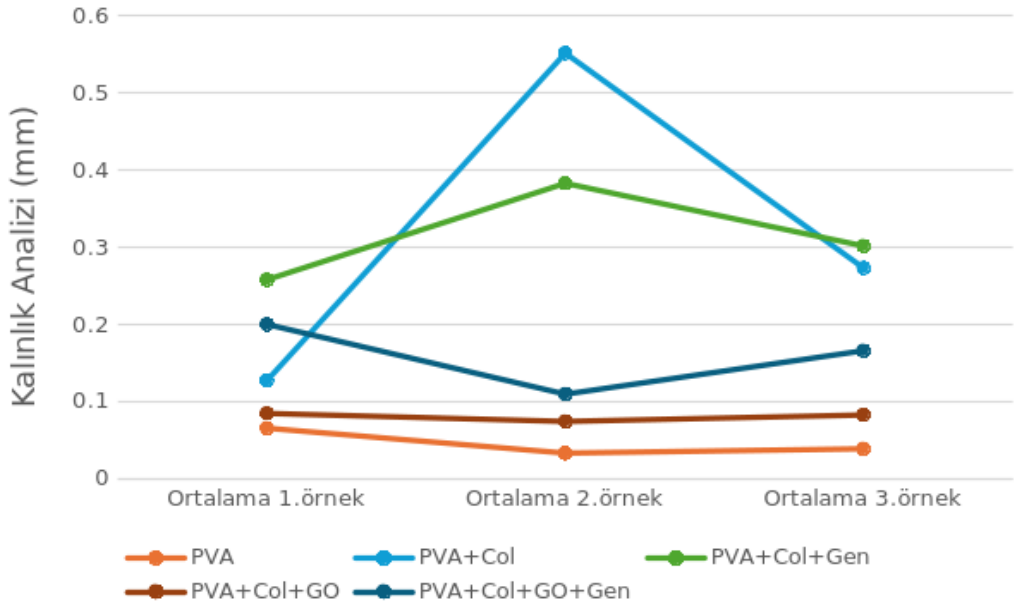
Üzerine gentamisin eklenmiş grupların da (mavi ve kahverengi spektrumlar) PVA/Col/GO nanofiberlerinin ana spektrum karakteristiğiyle Col ve GO titreşim bantlarının üst üste binmesi nedeniyle saf PVA nanofiberlerininkine çok benzer olduğu görülmüştür. PVA/Col/GO nanofiberlerinin saf PVA nanofiberlerine benzerliği, nanopartiküllerin polimer matrisinde iyi dağıldığını ve PVA ile partiküllerin güçlü bağ yaptığı düşünülmektedir. [64]

4.1.2.3 PVA/Col/GO/Gen Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi

- **Kalınlık Analizi**

PVA-kolajen lifinin kalınlığı, hassasiyeti 0.001 mm olan bir dijital vida mikrometre kullanılarak ölçülmüştür. Bu ölçüm, 15 farklı noktada gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, lifin ortalama kalınlığı, solüsyon içeriklerinin 5 farklı türü için verilen Şekil 4.5'te görüldüğü gibi PVA-Kolajen-Gen %16 ağırlığında artmıştır. Bu durum, kolajen ve PVA etkileşiminin düzensiz olmasından kaynaklanmaktadır. [62] Ayrıca, elektrikli iğneleme işlemi sırasında jet çözeltisi kuruduğundan, lifler ilk andaki gibi oluşamamaktadır.

Kalınlık değerine göre, 18 kV voltajla üretilen PVA-Kolajen %0.025 ağırlığındaki lifler en yüksek kalınlık değerine sahiptir ve 0.5193 mm'dir. Diğer taraftan, 18 kV voltajlı saf PVA %13 ağırlığındaki lif en düşük kalınlık değerine sahiptir ve 0.0486 mm'dir. 18 kV voltajlı PVA-Kolajen-GO-Gen lifler yara pansumanı için kalınlık değerine dayanarak en uygun olanıdır. Çünkü; yara iyileşmesinde önemli rol oynayan aktif maddeleri emebilen kalın zar lifleridir. [63,64,65]



Şekil 4.5 Nanofiberlerin 15 noktadan alınan örnek otalamalarının kalınlık analizi

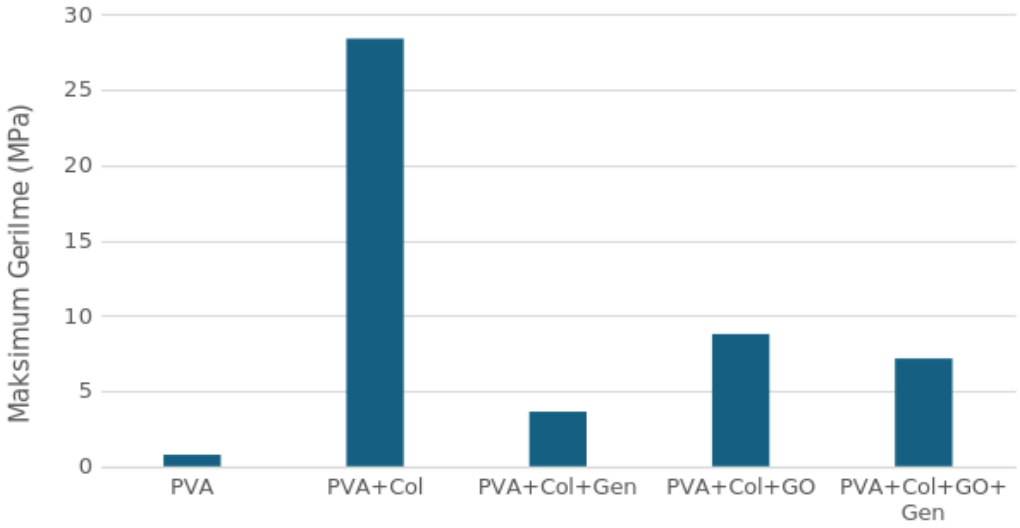
- **Çekme Analizi**

Elektroeğirme ile elde edilen nanoliflerin mekanik özellikleri, çekme testi cihazları kullanılarak yapılan analizlerle incelendi ve çekme dayanımı ile uzama yüzdesi değerleri elde edildi. Çekme dayanımı değeri, zarın kırılması için kullanılan maksimum kuvveti gösterirken, uzama yüzdesi ise zarın uygulanan çekme kuvvetine bağlı olarak gerileme yeteneğini gösterir. Bu mekanik özellikler, bir malzemenin moleküler yapısı ile ilgilidir. Bir malzemenin mekanik özelliklerini etkileyen moleküler yapı, kristallilik, moleküler form, moleküler bağ gücü, moleküler sıkılık ve moleküler arası kuvvetleri içermektedir [66].

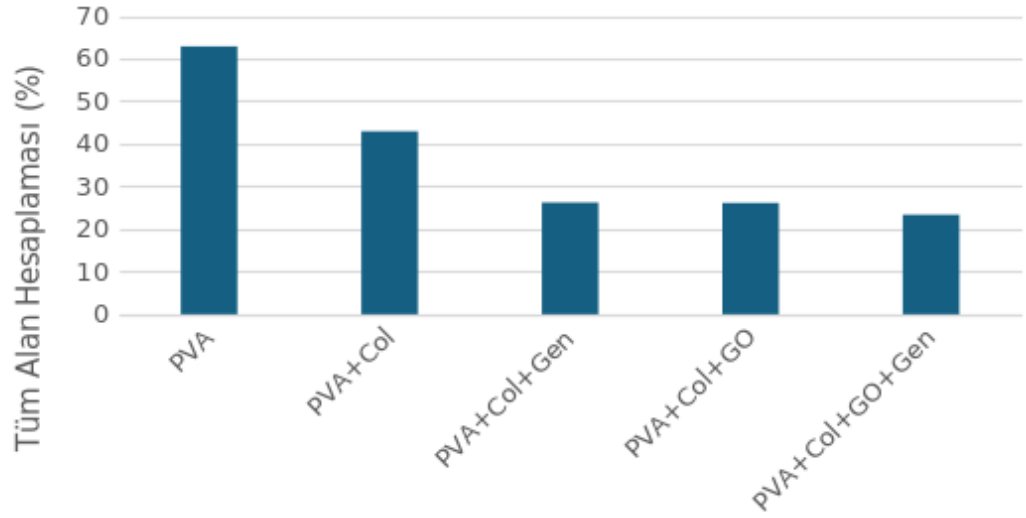
Şekil 4.6'da görülmektedir ki çekme dayanımı değerinin azalması, uzama değerinde bir azalmaya neden olmaktadır. PVA/Col/GO/Gen lifleri arasında en yüksek uzama oranı, %28,4 ile PVA-Kolajen 0.5% ağırlığındaki liflerde bulunurken, en düşük uzama yüzdesi PVA 13% ağırlığındaki liflerde %0.76 olarak tespit edilmiştir.

PVA polimerinin eklenmesi, uzama yüzdesini etkileyebilmektedir. Elongasyon değeri, PVA-Kolajen karışımındaki kolajen konsantrasyonunun artmasıyla birlikte artar. Uzama değerinin %17 ile %207 arasında olması, tıbbi malzeme standartlarına göre beliritlmiştir ve çekme dayanımı değeri 1 ile 24 MPa arasında olması gerekmektedir [67].

`Şekil 4.7'de görülmektedir ki uzama yüzdesi ve çekme dayanımının değerlerine göre, PVA-Kolajen 0.5% ağırlığındaki lifler yara pansumanı için en uygun olanıdır. Bu lif türü en yüksek uzama değerine sahiptir ve çekme dayanımı değeri tıbbi standartlar aralığında bulunmaktadır. Yara pansumanlarında, yüksek bir uzama yüzdesine sahip olmak, yaraları kapatmak için kullanıldığında pedin kırılmasını önemli kılar [68].



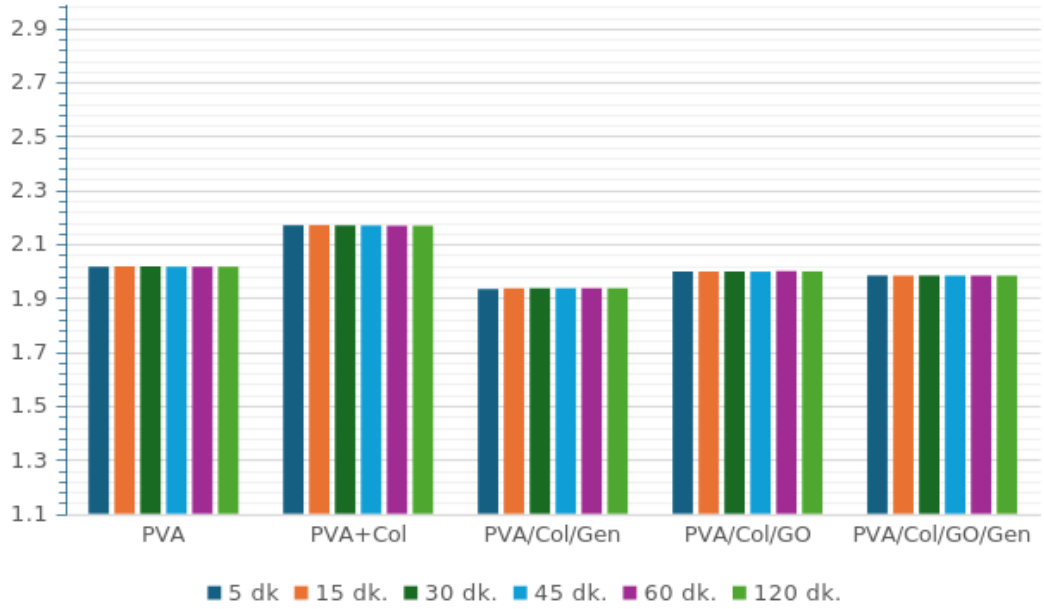
Şekil 4.6 Nanofiberlerin maksimum gerilme analizi



Şekil 4.7 Nanofiberlerin çekme testi grafiği

- **PVA/Col/GO/Gen Filmlerinin Şişme ve Bozunma Analizi**

Şişme testi (pH 7,4) olan PBS çözeltisi içinde tüm numuneler için gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Şekil 4.6' daki grafikte gösterilmiştir.



Şekil 4.8 PVA/Col/GO/Gen Filmlerinin Şişme ve Bozunma Analizi

PVA' nın emme özelliğinden dolayı numunelerin şişme analizi minimum 5 dakika ve 2 saat aralığında yapılmıştır. 2 saat sonrasında nanofiberler erimeye başladığı için şişme gözlemlenememiştir. Grafik incelendiğinde tüm filmlerin yaklaşık olarak bir saat içinde maksimim şişme seviyesine ulaşıp bir süre dengede kaldıktan sonra azalmaya başladığı görülmüştür. [69,70] Bunun sebebi olarak filmlerin bozunmanın etkisiyle ağırlık kaybettiğinden dolayı şişme oranının düşüş görülmüştür. PVA/Col filmi en yüksek şişme oranına sahiptir. GO eklenmiş nanofiberlerin şişme oranı saf PVA nanofiberine kıyasla daha düşüktür. [71,72,73] Eklenen GO'in PVA filmlerinin hidrofobik etki kattığından dolayı daha düşük olduğu düşünülmektedir. En yüksek şişme oranına sahip filmlerin en yüksek bozunma oranına sahip olduğu gözlemlenmiştir. Saf PVA filmi en hızlı ve en yüksek oranda bozunma göstermiştir. [74,75,76]

- **In vitro Salım Kinetiği Bulguları**

PVA/Col/Gen ve PVA/Col/GO/Gen karşılaştırıldığında kısa dönem oda koşullarında 25°C de bekletilen numuneler 5 dk ve 120 dk boyunca bekletilip Tablo 4.9'da karşılaştırılan antibiyotik salım miktar tayini yapılmıştır.

Tablo 4.1 PVA/Col/Gen ve PVA/Col/GO/Gen nanofiberlerinden salınan ilaç yüzdesi

Zaman (Saat)	Salınan İlaç Yüzdesi	
	PVA/Col/Gen	PVA/Col/GO/Gen
5 dk	%2,1	%2,7
15 dk	%5,4	%2,7
30 dk	%6,9	%7
45 dk	%13,4	%9,2
60 dk	%14,7	%13,7
120 dk	%26,4	%27,3

GO içeren formülün salınım stabilitesini arttırdığını görülmektedir. 120 dk sonunda nanofiberler PBS solüsyonu içinde homojen bir şekilde dağılmıştır.

4.2 Öneriler

Bu tez çalışmasında Kolajen ve Grafen Oksit ve Gentamisin katkılı PVA nanofiberleri elektroeğirme yöntemi ile başarılı bir şekilde üretilmiştir. Elektro eğirme yöntemi basit olmasına karşılık optimasyon süreci ve solüsyon içerikleri oranları bakımından titizlikle çalışılması gereken bir yöntemdir. Çalışmada PVA nanofiber yapısı ile kolajen ve grafen oksit eklemesinin dayanıklılığı, morfolojisi ve salımı karşılaştırılması yapılmıştır. Nanofiberlerin morfolojik yapısı Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve kimyasal yapısı FT-IR analizi ile belirlenmiştir. PVA nanofiberlerin içinde SEM analizi sonucundan pürüzsüz ve homojen dağıldığı görülmüştür. Fiberlerin FT-IR sonuçlarına göre, PVA/Col/GO/Gen nanofiberlerinin spektrum aralıkları aynı düzeylerde çıkması homojen dağıldığına işaret etmektedir. Mekanik özellikleri ise çekme testi ile belirlenmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Buna göre PVA'nın Kolajen ile birleşimi filmlerin esnekliğini arttırdığı ve çekmeye karşı daha dirençli olduğu sonucuna varılmıştır. Mekanik analiz sonucundan elde edilen bulgulara bakıldığında en iyi mekanik dayanıma sahip olan nanofiberin PVA/Col olduğu düşünülmektedir. Nanofiberlerin su tutma

kapasitesi şişme analizi ile belirlenmiş, fakat istenilenin aksine sadece 2 saat ile süre sınırlı tutulabilmiştir. Şişme ve salım analizinden elde edilen bulgular göstermektedir ki nanofiberlerin kısa sürede erimesinin şu şekilde sebepleri olabilir:

- Çözelti etkileşimi: PVA, kolajen ve grafen oksit nanofiberleri, PBS gibi fosfat tamponlu çözeltilerde çözünebilen veya etkileşime girebilen materyallerdir. Özellikle PVA, suyla iyi çözünebilen bir polimerdir ve çözelti içinde hidrolize olabilir.
- Çözeltinin pH değeri: Çözeltinin pH değeri, çözelti içindeki materyallerin çözünürlüğünü etkileyebilir. PBS, genellikle nötr pH değerine sahiptir, bu da çözeltideki materyallerin çözünürlüğü üzerinde belirleyici bir faktör olabilir.
- Kolajenin yapısı: Kolajen, doğal bir protein olup belirli koşullar altında çözünebilir veya hidrolize olabilir. Çözeltinin özellikleri, kolajenin bu şekilde davranmasını etkileyebilir.
- PBS içindeki çözelti kompozisyonu: PBS içindeki çözelti bileşimi, çözelti içindeki materyallerin çözünürlüğünü etkiler. İlgili polimerler ve materyallerin çözünürlüğü, çözeltinin içindeki tuz, iyon ve diğer bileşenlere bağlı olarak değişebilir.
- Eğirme parametreleri: Elektroeğirme işlemi sırasında kullanılan parametreler, nanofiberlerin çözeltide çözünürlüğünü etkileyebilir. Örneğin, voltaj, akım, elektrot uzaklığı gibi parametrelerin yanı sıra kullanılan çözelti bileşimi, nanofiberlerin çözünürlüğünü etkileyebilir.
- Kolajen ve PVA hidrolizi: Kolajen ve PVA gibi biyopolimerler, belirli şartlarda hidrolize uğrayabilir. Özellikle PVA, su içinde hidrolize olabilir, bu da çözeltide çözünürlüğünü artırabilir. [77,78,79]

PVA/Col/GO/Gen nanofiber içeriği mekaniksel ve homojen dağılımı olarak istenilen bir nörolojik doku örtü iskelesi olsa da geliştirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKÇA

[1] S. Gezici, D. Koçum, "Nörodejeneratif Hastalıkların Tedavisinde Nöroprotektif Ajan Olarak Tıbbi Bitkiler ve Fitokimyasallar", Türkiye Doğa ve Fen Dergisi, 10 (2), ss. 325-337, 2021.

[2] M. Rekatsina, A. Paladini, A. Piroli, P. Zis, J.V. Pergolizzi, G. Varrassi., "Pathophysiology and therapeutic perspectives of oxidative stress and neurodegenerative diseases: a narrative review." Adv Ther.; sayı 37, ss. 113-39, 2020.

[3] S. Guerreiro, AL. Privat, L. Bressac, D.Toulorge, "CD38 in Neurodegeneration and Neuroinflammation. Cells".; 9(2), ss. 471, 2020.

[4] Z.Y. Ha, S. Mathew, K.Y. Yeong., "Butyrylcholinesterase: a multifaceted pharmacological target and tool." Curr Protein Peptide Sci.; 21(1), ss. 99-109, 2020.

[5] İ.Özçiçek, , "Nöral Doku Mühendisliği Uygulamalarına Yönelik Mikro-oluklu İpek Fibroin/Polietilen Oksit Film İskelelerin Geliştirilmesi", Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, sayı 41, ss. 343-348, 2022.

[6] B.Başkapan, , "Omurilik Hasarlarının Tedavisinde Kullanılabilecek Doku İskelelerinin Geliştirilmesi". Yüksek lisans tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, 2022.

[7] M.Pérez-Garnes, J.A.Barcia, U.Gómez-Pinedo, M.M. Pradas ve A.Vallés-Lluch, "Materials for Central Nervous System Tissue Engineering, Cells and Biomaterials in Regenerative Medicine", 2014. DOI: 10.5772/59339

[8] F. Candar, "Constructıon Of A Bıodegradable Scaffold With Enhanced Biocompatibılity For Bone Tıssue Engıneerıng", Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, 2018.

[9] SV. Dorozhkin, "A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till Mater" Sci Eng.; sayı 33, ss. 3085–110, 2013.

[10] J. Fernandes, S. Gentile, P. Pires, R.A. Reis, L. Hatton, "Multifunctional bioactive glass and glass-ceramic biomaterials with antibacterial properties for repair and regeneration of bone tissue", Acta Biyomateryalia, sayı 59, ss. 2-1, 2017. doi: 10.1016/j.actbio.2017.06.046

[11] Estaş Medikal. Pediatrik Fiksasyon Sistemi, https://www. estasmedikal.com/tr/ pediatrik-fiksasyon-sistemi, 2023.

[12] S. Gezici, "Nörodejeneratif Hastalıkların Tedavisinde Nöroprotektif Ajan Olarak Tıbbi Bitkiler",Türk Doğa ve Fen Dergisi, ss. 325-337, 2022.

[13] E. M. Ahmed, "Hydrogel: Preparation, characterization, and applications:A review,"J.Adv.Res.,6(2), ss. 105–121, 2015.

[14] D. Chimene, K. K. Lennox, R. R. Kaunas ve A. K. Gaharwar, "Advanced Bioinks for 3D Printing: A Materials Science Perspective," Ann. Biomed. Eng., 44 (6), ss. 2090–2102, 2016. doi: 10.1007/s10439-016-1638- y.

[15] A. G. Tabriz, M. A. Hermida, N. R. Leslie ve W. Shu, "Three-dimensional bioprinting of complex cell laden alginate hydrogel structures," Biofabrication, 7 (4), ss. 9, 2015. doi: 10.1088/1758- 5090/7/4/045012.

[16] G. Çamcı-Ünal, N. Annabi, M. Dokmeci, ve ark., "Kalp dokusu mühendisliği için hidrojeller." NPG Asia Mate, 2014.

[17] L. Ouyang, R. Yao, Y. Zhao, and W. Sun, "Effect of bioink properties on printability and cell viability for 3D bioplotting of embryonic stem cells," Biofabrication, 8(3), ss. 1–12, 2016. doi: 10.1088/1758- 5090/8/3/035020.

[18] D. J. Cornelissen, A. Faulkner-Jones ve W. Shu, “Current developments in 3D bioprinting for tissue engineering,” Curr. Opin. Biomed. Eng., (2): ss. 76–82, 2017. doi: 10.1016/j.cobme.2017.05.004.
[19] F. Baino, Bioceramics in ophthalmology, 2014.
[20] L.L. Hench, “The story of bioglass”, J Mater Sci Mater Med, sayı 17, ss. 967–978, 2016.
[21] R.Z. LeGeros, “Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates”, Clin Orthop Relat Res., sayı 395, ss. 81–98, 2022.
[22] V. A. Dubok, “Bioceramics-Yesterday, Today, Tomorrow, “Powder Metallurgy and Metal Ceramics”, sayı 39, ss. 381-394, 2000.
[23] L. H. Larry, S. M. Best, “Classes of Materials Used in Medicine, Ceramıcs, Glasses and Glass-Ceramıcs: Basıc Prıncıples”, Biomaterials Science, ss. 128-151, 2013.
[24] Z. Konukoğlu, “Pirinç Kabuğu Kökenli Silika İçerikli MgO, SrO ve Al_2O_3 İlaveli 45S5 Biyoaktif Cam Üretimi ve Karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, 2017.
[25] J. Chevalier, L. Gremillar, “Ceramics for medical applications: a picture for the next 20 years.”” J Eur Ceram Soc, sayı 29, ss.1245–5, 2019.
[26] B. Gürbüz, S. Ayan, M. Bozlar ve C. B. Üstündağ, “Carbonaceous nanomaterials for phototherapy: a review,” Emergent Mater., 3(4), ss. 479–502, 2020. doi: 10.1007/s42247-020-00118-w.
[27] T. Bedir ve C.B. Üstündağ, “Nöral Doku Mühendisliği İçin Doku İskelesi Tasarımı ve Geliştirilmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, 2020.
[28] Se-Jun Lee vd., “3D printing nano conductive multi-walled carbon nanotube scaffolds for nerve regeneration,” J. Neural Eng., 15(1), ss. 0–12, 2018.
[29] N. Golafshan, M. Kharaziha ve M. Fathi, “Tough and conductive hybrid graphene-PVA: Alginate fi brous scaffolds for engineering neural construct,” Carbon N. Y., sayı 111, ss.752–763, 2017.
[30] O. Akhavan, “Graphene scaffolds in progressive nanotechnology/stem cell based tissue engineering of the nervous system,”. Mater. Chem., (4) 19, ss. 3169–3190, 2016.
[31] A. E. Jakus, E. B. Secor, A. L. Rutz, S. W. Jordan ve M. C. Hersam, “Three Dimensional Printing of High-Content Graphene Scaffolds for Electronic and Biomedical Applications,” ACS Nano., (9) 4, ss. 4636–4648, 2015.
[32] W.L. Jaffe, D.F. Scott, “Current concepts review-total hip arthroplasty with hydroxyapatite-coated prostheses”, J Bone Joint Surg. Am., sayı 78, ss. 1918–34, 1996.
[33] Y. Qian vd., “3D Fabrication with Integration Molding of a Graphene Oxide/ Polycaprolactone Nanoscaffold for Neurite Regeneration and Angiogenesis,” Adv. Sci., (5) 4, 2018.
[34] Raslan, A., del Burgo, L. S., Ciriza, J., & Pedraz, J. L. “Graphene oxide and reduced graphene oxide-based scaffolds in regenerative medicine”, International Journal of Pharmaceutics, 119226, 2020.
[35] L.C. Gerhardt, A.R. Boccaccini, “Bioactive glass and glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering.” Materials, sayı 3, ss. 3867–910, 2010.
[36] F. Baino, C. Vitale-Brovarone, “Three-dimensional glass-derived scaffolds for bone tissue engineering: current trends and forecasts for the future”, J Biomed Mater Res. A., sayı 97, ss. 514–35, 2011.

[37] Yeni Ufuklar, “Geçmişten Geleceğe Uzanan Biyomalzemeler,” Bilim ve Teknik Dergisi, 2002.
[38] A. Evcin, Polimerik Biyomalzemeler, Afyon Kocatepe Üniversitesi, 2016.
[39] Fizik akademisi, Grafen sentezi, https://fizikakademisi.com/2015/09/29/grafen-sentezi/, 2015.
[40] M. Wang, P. Zhai, X.Chen, , D.J. Schreyer, , X. Sun, ve F. Cui, , “Bioengineered Scaffolds for Spinal Cord Repair”, Tissue Eng Part B, 17(3), ss.177-194, 2011.
[41] Khan Academy, Hücre Dışı Matriks ve Hücre Duvarı Ders Notları, OpenStax Biology, 2023.
[42] C. Karakaya, “Stronsiyum Katkısının Biyocam Doku İskelesinin Özelliklerine Olan Etkisinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, 2018.
[43] A.N Obraztsov, “Chemıcal Vapour Deposıtıon: Making Graphene on A Large Scale’’, Nature Nanotechnology, 4(4), ss. 212-213, 2009.
[44] Ak-Bel Kimya, Polivinil Alkol Ürün Kataloğu, https://akbelkimya.com.tr/polivinil-alkol-157-urun, 2023
[45] O. A. Mohamed, S. H. Masood ve J. L. Bhowmik, “Optimization of fused deposition modeling process parameters: a review of current research and future prospects,” Adv. Manuf, sayı 3, ss. 42–53, 2015.
[46] J.R. Potts, D.R.Dreyer, C.W. Bielawski ve R.S. Ruoff, “Graphene-based Polymer Nanocomposites’’, Polymer, sayı 52, ss. 5-25, 2011.
[47] M.C. Şenel, M. Gürbüz ve E. Koç, ‘’Grafen Takviyeli Alüminyum Matrisli Yeni Nesil Kompozitler’’, Mühendis ve Makina, 56(669), ss. 36-47, 2015.
[48] R. M. M. Chra, “Characterization of TiO2/WO3/C/N composite nanofibers prepared by electrospinning”, Yüksek Lisans Tezi, Budapest Unıversıty, 2021.
[49] S. Alwarappan, S. Boyapalle, A. Kumar, C. Li ve S. Mohapatra, “Comparative study of single-, few-, and multilayered graphene toward enzyme conjugation and electrochemical response”. J. Phys. Chem. C., sayı 116, ss. 6556−6559, 2012
[50] O. Abdelaal ve S. M. H. Darwish, “Review of Rapid Prototyping Techniques for Tissue Engineering Scaffolds Fabrication,” Characterization and Development of Biosystems and Biomaterials, sayı 29, ss. 33–54, 2014.
[51] H. N. Chia ve B. M. Wu, “Recent advances in 3D printing of biomaterials,” J. Biol. Eng., 9(4), ss.1–14, 2015.
[52] Ž. P. Kačarević vd., “An introduction to 3D bioprinting: Possibilities, challenges and future aspects,” Materials Basel, 11(11), 2018.
[53] B. Subia, J. Kundu ve S. C. Kundu, “Biomaterial Scaffold Fabrication Techniques for Potential Tissue Engineering Applications,” Tissue Eng., sayı 7, ss. 141-57, 2010
[54] A. Eltom, G. Zhong ve A. Muhammad, “Scaffold Techniques and Designs in Tissue Engineering Functions and Purposes: A Review,” Adv. Mater. Sci. Eng., sayı 4, ss. 1–13, 2019.
[55] T. Lu, Y. Li ve T. Chen, “Techniques for fabrication and construction of threedimensional scaffolds for tissue engineering,” Int. J. Nanomedicine, sayı 8, ss. 337–350, 2013.
[56] H. T. Şaşmazel, O. Özkan ve A. E. Haydardedeoğlu, “Elektroeğirme “Sıvıyı İpliğe Dönüştürme Sanatı ve Biyotıp Eserleri", Bilim ve Teknik, sayı 46, ss.785-80, 2012.

[57] X. Zong, K. Kim, D. Fang, S. Ran, B. S. Hsiao ve B. Chu, “Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes,” Polymer, 43(16), ss. 4403-12, 2002. doi: 10.1016/S0032-3861(02)00275-6.
[58] N. E. Duygulu, F. Ciftci ve C. B. Ustundag, “Electrospun drug blended poly(lactic acid) (PLA) nanofibers and their antimicrobial activities,” J. Polym. Res., sayı 23, 2020. doi: 10.1007/s10965-020-02215-0.
[59] C. P. Barnes, S. A. Sell, E. D. Boland, D. G. Simpson ve G. L. Bowlin, “Nanofiber technology: Designing the next generation of tissue engineering scaffolds,” Advanced Drug Delivery Reviews., 59(54), ss. 1413-33, 2007. doi: 10.1016/j.addr.2007.04.022.
[60] S. G. Kumbar, R. James, S. P. Nukavarapu ve C. T. Laurencin, “Electrospun nanofiber scaffolds: Engineering soft tissues,” Biomed. Mater., sayı 3, 2008. doi: 10.1088/1748-6041/3/3/034002.
[61] J. Doshi ve D. H. Reneker, “Electrospinning process and applications of electrospun fibers,” J. Electrostat., 35(2-3), ss. 151-160, 1995. doi: 10.1016/0304-3886(95)00041- 8
[62] A. L. Andrady, Science ve Technology of Polymer Nanofibers. 2008.
[63] B. Oktay, C. B. Üstündağ ve E. A. Özerol, “Pla/Ha/Go Nanokompozit Doku İskelesinin Elektroeğirme Yöntemiyle Üretimi ve Karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, 2022.
[64] T. Rattana vd., “Preparation and characterization of graphene oxide nanosheets,” Procedia Eng., sayı 32, ss. 759–764, 2012
[65] S. Sudirman, A. Karo, G. Sukaryo, K. D. Adistiana, K. Dahlan. “Synthesis of Nanofiber from Poly Vinil Alcohol (PVA) Collagen”, 21(2), ss. 55 – 65, 2020. e-ISSN:2527-7669.
[66] Rattana vd, () “Preparation and characterization of graphene oxide nanosheets,” Procedia Eng., sayı 32, 759–764, 2012.
[67] A. Haleem, M. Javaid, R. H. Khan ve R. Suman, “3D printing applications in bone tissue engineering,” J. Clin. Orthop. Trauma, sayı 11, ss. 118-124, 2020. doi: 10.1016/j.jcot. 2019.12.002.
[68] A. A. Aldana ve G. A. Abraham, "Current advances in electrospun gelatin-based scaffolds for tissue engineering applications", International Journal of Pharmaceutics, sayı 523, ss. 441-453, 2017
[69] A.M. Abd El-aziz, A. El-Maghraby, N. A. Taha, "Comparing between polyvinyl alcohol (PVA) nanofiber and polyvinyl alcohol (PVA) nanofiber/Hydroxyapatite (HA) for removal of Zn^{+2} inos from waste water", Arabian Journal of Chemistry, sayı 10, ss. 1052-60, 2017.
[70] C. I.C. Crucho, M. T. Barros. "Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods", Materials Science and Engineering, sayı 80, ss. 771-784, 2017
[71] S. H. Xia, S. H. Teng, P. Wang, "Synthesis of bioactive polyvinyl alcohol/silica hybrid fibers for bone regenration", Materials Letter, sayı 213, ss. 181-184, 2018
[72] J.R. Gong, “Graphene-Synthesis, Characterisation, Properties and Applications”, Books on Demand, 2011.
[73] D. İçkecan, Grafen Sentezi, http://fizikakademisi.com/2015/09/29/grafen-sentezi, 2017.
[74] R.M. Boehler, J.G. Graham ve L.D. Sheaet, “Tissue Engineering Tools for Modulation of the Immune Response”, Biotech., 51(4), ss. 239-244, 2011.

[75] J. Chen, B.W. Yao, C. Li, ve G.Q. Shi, “An Improved Hummers Method for Eco-Friendly Synthesis of Graphene Oxide”, Carbon, sayı 64, ss. 225-229, 2013.
[76] Tekay, E., “Biyomedikal Uygulamalar için Grafen oksit/Polimer Kompozitlerinin Hazırlanması”, Yüksek Lisans Tezi, Yalova Üniversitesi, 2014.
[77] S.Y. Park, J. Park, S.H. Sim, M.G. Sung, K.S.Kim, , B.H. Hong, ve S. Hong, “Enhanced Differentiation of Human Neural Stem Cells into Neurons on Graphene”, Adv. Mater., sayı 23, ss. 263-267, 2011.
[78] R. A. O’Connor, P. A. Cahill ve G. B. McGuinness, “Effect of electrospinning parameters on the mechanical and morphological characteristics of small diameter PCL tissue engineered blood vessel scaffolds having distinct micro and nano fibre populations–A DOE approach.” Polymer Testing, sayı 96, 107119, 2021.
[79] X. Wang, B. Ding, J. Yu, M. Wang, “Engineering biomimetic superhydrophobic surfaces of electrospun nanomaterials”. Nano Today, sayı 6, ss. 510–30, 2011.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. T. Ergün, D. Baykara, S. Cesur, C. B. Üstündağ ve B. Nalbantoğlu, “Nöral Doku Mühendisliği Uygulamalarında Kullanılabilecek Doku İskelelerinin Üretimi”, 25. Ulusal Biyoloji Kongresi, ss. 61-62, 2023.