



FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
NANOBİLİM VE NANOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

**GRAFEN OKSİT TEMELLİ POLİMERİK NANOFİBRÖZ
DOKU İSKELELERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE
KARAKTERİZASYONU**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Rumeysa Hilal ÇELİK

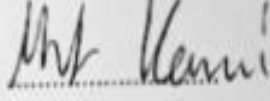
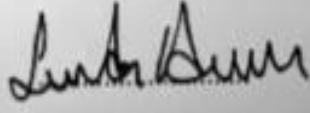
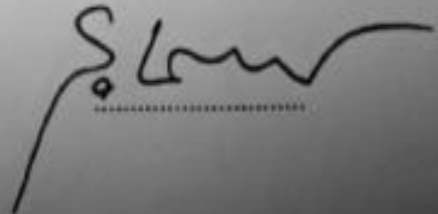
Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Murat KAZANCI

Ocak-2019

ONAY

İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nde yüksek lisans öğrencisi olan Rumeysa Hilal ÇELİK'in hazırladığı ve jüri önünde savunduğu " GRAFEN OKSİT TEMELLİ POLİMERİK NANOFİBRÖZ DOKU İSKELELERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE KARAKTERİZASYONU" başlıklı tez başarılı kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ	İMZA
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Murat KAZANCI Kurumu : İstanbul Medeniyet Üniversitesi	
Üyeler: Doç. Dr. Sevda AVCİ Kurumu : İstanbul Medeniyet Üniversitesi	
Prof. Dr. Şahin UYAYER Kurumu : Türk-Alman Üniversitesi	

Tez Savunma Tarihi: 8 Ocak 2019

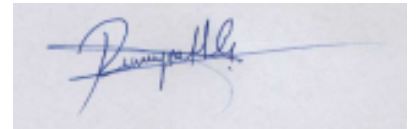
ETİK İLKELERE UYGUNLUK BEYANI

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü bünyesinde hazırladığım bu yüksek lisans tezinin bizzat tarafımdan ve kendi sözcüklerimle yazılmış orjinal bir çalışma olduğunu ve bu tezde;

1. Çeşitli yazarların çalışmalarından faydalandığımda bu çalışmaların ilgili bölümlerinin doğru ve net bir şekilde göstererek yazarlara açık biçimde atıfta bulunduğumu;
2. Yazdığım metnin tamamı yada sadece bir kısmı daha önce herhangi bir yerde yayınlanmışsa bunu da açıkça ifade ederek gösterdiğimi;
3. Alıntılanan başkalarına ait tüm verileri (tablo, grafik, şekil vb. dahil olmak üzere) atıfta belirttiğimi;
4. Başka yazarların kendi kelimeleriyle alıntıladığım metinlerini kaynak göstererek atıfta bulunduğum gibi, yine başka yazarlara ait olup fakat kendi sözcüklerimle ifade ettiğim hususları da istisnasız olarak kaynak göstererek belirttiğimi,

beyan ve bu etik ilkeleri ihlal etmiş olmam halinde bütün sonuçlarına katlanacağımı kabul ederim.

Rumeysa Hilal ÇELİK



Yüksek lisans eğitimimin her aşamasında bana yardımcı olan, desteğini ve emeğini benden esirgemeyen, karşılaştığımız tüm zorluklarda benimle birlikte çözüm yolları arayarak bu sorunların aşılmasını sağlayan, en önemlisi de bana bilimsel bir çalışmanın nasıl yapılması gerektiğini gösteren, gerçekte neyin doğru neyin yanlış olduğu görmemi sağlayan saygıdeğer ve değerli tez danışmanım **Doç. Dr. Murat KAZANCI**'ya teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tüm hayatımda benden desteğini esirgemeyen, bana her zaman, her alanda yardımcı olan, eğitimim için bu denli özen gösteren, başaramayacağımı düşündüğüm zamanlarda dahi bana güvenip, arkamda durup beni başarılı olabileceğime yeniden inandıran başta babam **Mehmet ÇELİK**, annem **Yasemin ÇELİK** ve kardeşlerim **Abdulkerim ÇELİK**, **Eyüp Ensar ÇELİK**, olmak üzere bana okumayı öğretip kitapları sevdiren amcam **Ahmet ÇELİK**'e; elimden tutup beni okula götüren babaannem **Hatice ÇELİK**'e; ve burada tek tek adını yazmak isteyipte yazamadığım tüm aileme en samimi duygularıyla teşekkürü borç bilirim.

Rumeysa Hilal ÇELİK

Ocak, 2019

İçindekiler

ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
Kısaltma Listesi.....	x
Özet	xii
Summary	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Nanoteknoloji, Nanobilim Ve Nanomühendislik	1
1.2. Doku Mühendisliği.....	4
1.2.1. Doku Mühendisliğinde Kullanılan Hücreler ve Hücresel Kaynaklar	4
1.2.2. Doku Mühendisliği Biyosinyalizasyon Molekülleri	7
1.2.3. Doku Mühendisliğinde Kullanılan Doku İskeleleri.....	7
1.3. Neden Doku Mühendisliği ?.....	9
1.4. Doku İskelesi Üretiminde Kullanılan Materyaller	10
1.5. Polimerik Doku İskelesi Üretim Yöntemleri.....	12
1.5.1. Elektroeğirme Yöntemi İle Doku İskelesi Üretimi.....	13
1.5.2. Elektroeğirme Yöntemi İle Doku İskelesi Üretimini Etkileyen Parametreler	14
1.6. Poli(ε-Kaprolakton) (PCL).....	16
1.7. Doku Mühendisliğinde Nanoteknoloji Uygulamaları	17
1.7.1. Karbonik Yapılar Ve Doku Mühendisliğinde Kullanımı	17
1.7.2. Grafen, Grafen Türevleri ve Biyouyumluluğu	19
1.7.3. Grafen Oksit Temelli Doku İskeleleri	23
2. YÖNTEM.....	27
2.1. Modifiye Hummer's Metodu İle Grafen Oksit Sentezi	27
2.2. Poli(ε-Kaprolakton) Solüsyonunun Hazırlanması	29

2.3. Elektroğirme İçin Uygun PCL Konsantrasyonunun Belirlenmesi	29
2.4. Grafen Oksit-Poli(ε-Kaprolakton) (GO-PCL) Kompozitinin Hazırlanması ...	30
2.5. Elektroğirme İle GO-PCL Kompozit Doku İskelesi Üretimi	31
2.6. Vücut Sıvısı Benzeri Çözelti (SBF) Hazırlanması	32
2.7. Çözünürlük Deneyleri.....	32
3. SONUÇ	33
3.1. Modifiye Hummer's Metodu Kullanılarak Sentezlenen Grafen Oksitin FT-IR İle Karakterizasyonu.....	33
3.2. Elektroğirmeye Uygun PCL Konsantrasyonunun Tespit Edilmesi	36
3.3. GO-PCL Karışımının Hazırlanması ve Kompozit Doku İskelesi Üretimi	37
3.4. SBF Hazırlanması ve Çözünürlük Deneyleri	41
4. TARTIŞMA	52
4.1. Grafen Oksit Nanopartikül Sentezi Ve Karakterizasyonu.....	53
4.2. Elektroğirmeye Uygun L-PCL Konsantrasyonu Belirlenmesi	53
4.3. GO-PCL Kompozit Doku İskelesi Üretimi Ve Karakterizasyonu	54
4.4. Doku İskelelerinin Fizyolojik Şartlarda Davranışlarının İncelenmesi	55
ÖZGEÇMİŞ	59
KAYNAKÇA.....	66

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1 : Çeşitli materyallerin nanoölçekte yerleri.	1
Şekil 2 : Solda (a) altın nanoyüzeylerin SEM görüntüsü (ölçek çizgisi 400 nm), ortada (b) polimer nanofiberlerin SEM görüntüsü (ölçek çizgisi 5 µm), sağda (c) silika naopartiküllerin SEM görüntüsü (ölçek çizgisi 200 nm).....	2
Şekil 3 : Çeşitli biyolojik yapıların boyutları ve nano ölçekte yerleri.....	3
Şekil 4 : Doku mühendisliğinin temel unsurları.	4
Şekil 5 : Doku mühendisliğinde kullanılan ergin hücre/doku tipleri ve nakil aşamaları.....	5
Şekil 6 : Elde edildikleri bölgelere göre kök hücreler ve kök hücre türleri	6
Şekil 7: Doku mühendisliği uygulamalarının şematik gösterimi.	9
Şekil 8 : Doku mühendisliğinde kullanılan polimerler ve özellikleri (Kai vd., 2014)	11
Şekil 9 : Farklı doku iskelesi üretim yöntemleri ve elde edilen doku iskelelerinin topografileri (Nigam ve Mahanta, 2014).	12
Şekil 10 : Elektroegirme cihazı şematik gösterimi	13
Şekil 11 : Farklı toplayıcılarla elde edilebilecek hizalı (üstte) veya random (altta) fiberlerin mikroskop görüntüleri.	15
Şekil 12 : ε-kaprolaktondan halka açılması polimerizasyonu ile PCL sentezi.	16
Şekil 13 : Farklı karbon formları.....	18
Şekil 14 : Karbon atomu sp ² hibritleşmesi (a) ve grafen molekül yapısı (b).....	19
Şekil 15 : Grafen oksit moleküler yapısı ve üzerinde yer alan reaktif oksijen grupları.....	20
Şekil 16 : Grafen oksit kimyasal sentez metodları.....	21
Şekil 17 : Gel-GO nanofiber iskelelerin (1; 5000, 2; 1000) ve iskelelere ekilen L929 fibroblast hücrelerin 3 günlük kültür sonrası SEM görüntüsü (3).....	25
Şekil 18 : GO-PLGA/Col hibrit iskele AFM (1), HDF hücrelerin iskeleye ekildikten 5 gün sonraki AFM (2) ve SEM (3) görüntüleri (Lee vd., 2014).	25
Şekil 19 : Modifiye Hummers Metodu ile grafen oksit sentezinin şematik gösterimi.	27
Şekil 20 : Elektroegirme sisteminin ve bu yöntemle doku iskelesi üretiminin şematik gösterimi.	31
Şekil 21 : Sentez sonucunda elde edilen GO numunelerinin distile su içinde (a), santrifüj sonucunda falkonda (b) ve vakum kurutma sonucunda toz halinde ki fotoğrafları.	33
Şekil 22 : GO FT-IR Analizi sonucunda elde edilen grafik.	34
Şekil 23 : Sol üstte %15'lik, sağ üstte %20'lik, sol altta %25'lik ve sağ altta %30'luk PCL çözeltilerinin elektro-eğrilmesi sonucunda elde edilen doku iskelelerinin mikroskop görüntüleri yer almaktadır. Kırmızı ölçek çubuğu 500 µm'yi, turuncu ölçek çubuğu ise 200µm'yi ifade etmektedir.	36
Şekil 24 : Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan GO-PCL solüsyonları	37
Şekil 25 : GO-PCL kompozit doku iskelesine ati FT-IR pikleri.	37
Şekil 26 : Sağda (a) 0.0153 g'lık doku iskelesi, solda (b) SBF içindeki doku iskeleleri.....	43

Şekil 27 : Doku iskelelerinin SBF içinde 28 günlük takibinde kütleli değişimleri.....	44
Şekil 28 : Doku iskelelerinin SBF içerisinde inkübasyonları sonucunda kütleli değişimleri. A; 0, B; 1, C; 2, numaralı solüsyonla üretilen doku iskelelerine ait grafiği göstermektedir. Grafiklerde yatay eksenler haftaları, dikey eksenler ise μg cinsinden kütleli değişimleri ifade etmektedir.....	56
Şekil 29 : Doku iskelelerinin SBF içerisinde inkübasyonları sonucunda kütleli değişimleri. A; 3, B; 4, C; 5, numaralı solüsyonla üretilen doku iskelelerine ait grafiği göstermektedir. Grafiklerde yatay eksenler haftaları, dikey eksenler ise μg cinsinden kütleli değişimleri ifade etmektedir.....	57

TABLO LİSTESİ

Tablo 1 : Karbon türevleri ve fiziksel özellikleri (Tiyek vd., 2016).....	19
Tablo 2 : Doku iskelesi üretimi için hazırlanan GO-PCL solüsyonları.....	30
Tablo 3 : GO parmak izi pikleri ve açıklamaları	35
Tablo 4 : GO-PCL kompozit doku iskelesine ait FT-IR pikleri ve açıklamaları (Elzein, Nasser-Eddine, Delaite, Bistac, ve Dumas, 2004; Wan ve Chen, 2011).	38
Tablo 5 : %30 PCL ve değişen konsantrasyonlarda GO ile hazırlanan kompozitlerden 1 saatlik elektroegirme ile üretilen doku iskelelerinin mikroskop görüntüleri (Ölçek çizgileri 250 µm'yi ifade etmektedir).....	39
Tablo 6 : İnsan kan plazmasının ve hazırlanan SBF'nin iyon derişimleri	41
Tablo 7 : Doku iskelelerinin 4 haftalık SBF deneyi sırasında kütsel değişimleri.....	45
Tablo 8 : %0 wt GO içeren doku iskelelerinin SBF absorpsiyon oranları.....	46
Tablo 9 : %0.0015 wt GO içeren doku iskelelerinin SBF absorpsiyon oranları.....	47
Tablo 10 : %0.006 wt GO içeren doku iskelelerinin SBF absorpsiyon oranları.....	48
Tablo 11 : %0.024 wt GO içeren doku iskelelerinin SBF absorpsiyon oranları.....	49
Tablo 12 : %0.06 wt GO içeren doku iskelelerinin SBF absorpsiyon oranları.....	50
Tablo 13 : %0.15 wt GO içeren doku iskelelerinin SBF absorpsiyon oranları.....	51

Kısaltma Listesi

μg : mikrogram

AFM : Atomik Kuvvet Mikroskobu

ASTM : Biyobozunurluk Amerikan
Test ve Malzeme Kurumu

ATP : Adenozin trifosfat

bFGF : Fibroblast Büyüme Faktörü

BMP : Kemik Forfogenetik Proteini

C : Karbon atomu

CaCl_2 : Kalsiyum klorür

Col : Kollajen

CS : Kitosan

dH_2O : Distile su

DMF : Dimetilformamid

DNA : Deoksiribonükleik asit

EGF : Epitel Büyüme Faktörü

ESM (ECM) : Ekstrasellüler matriks

FGN: Fonksiyonel grafen nanopartikül

G : Grafen

GDM : Grafen türevli materyaller

Gel-GO : Jelatin-Grafen Oksit

GO : Grafen oksit

GO-PCL : Grafen Oksit - Poli(ϵ -
kaprolakton)

HDF : İnsan Kaynaklı Fibroblast
Hücresi

KCl : Potasyum klorür

KH_2PO_4 : Potasyum di hidrojen mono
fosfat

kV : kilovolt

L-PCL : Düşük Molekül Ağırlıklı
Poli(ϵ -kaprolakton)

lt : Litre

mg : miligram

MgCl_2 : Magnezyum klorür

mL : mililitre

mL/h : Debi (mililitre/saat)

mM : milimolar

MSCs : Mezankimal Kök Hücreler

Mw : Molekül ağırlığı

Na_2SO_4 : Sodyum sülfat

NaCl : Sodyum klorür

NaHCO₃ : Sodyum bi karbonat

nm : nanometre

PCL : Poli(ε-kaprolakton)

PEG : Poli (etilen glikol)

PEO : Poli(etilen oksit)

PGA : Poli(glikolik asit)

PLA : Poli(laktik asit)

PLGA : Poli(laktik-ko-glikolik asit)

PVP : Poli(vinil pirolidon)

rGO : İndirgenmiş grafen oksit

RNA : Ribonükleik asit

ROS : Reaktif oksijen türevleri

SBF : Vücut Sıvısı Benzeri Çözelti

SCs : Kök Hücreler

SEM : Taramalı elektron mikroskobu

STM : Taramalı Tünelleme Mikroskobu

TGF-β : Dönüştürücü büyüme faktörü

VEGF : Vasüler epitelyal büyüme faktörü

wt : Ağırlıkça yüzde konsantrasyon (w/v ; kütle/hacim)

Özet

Richard Feynman'ın 1960 yılında yayınlanan "There's Plenty of Room at the Bottom" isimli konuşması başlangıç noktası kabul edilen nanoteknoloji sayesinde yığın materyallere kıyasla çok daha gelişmiş özelliklere sahip malzemeler üretilmektedir. Nanoskala olarak adlandırılan 1-100 nanometre aralığında yer alan nanomateryaller artan yüzey alanı/hacim oranı sayesinde yüksek elektriksel iletkenlik, yüksek mekanik ve termal dayanım gibi özellikler göstermektedir. Fiziksel, kimyasal, elektriksel, mekanik ve optik özellikleri yığın materyallerden çok daha farklı olan nanomalzemeler canlı organizmalarla etkileşime girdiğinde hücresel davranışları da etkilemektedir. Günümüzde, özellikle doku mühendisliğinin temel bileşenlerinden olan doku iskelelerinin üretiminde veya fonksiyonelleştirilmesinde nanoteknolojiden sıklıkla faydalanılmaktadır.

Ekstrasellüler matriksi taklit etmek amacıyla üretilen doku iskelelerinin sahip olması gereken özelliklerden biri olan homojen ve birbiriyle bağlantılı gözenek yapısını oluşturmak için nanofiber üretim yöntemi olan elektroegirme tekniğinden faydalanılmaktadır. Yüksek voltaj yardımıyla polimer çözeltisinden sürekli fiber çekimi prensibiyle çalışan bu yöntem ile yüksek yüzey alanlı, hücrelerin adhezyon, proliferasyon ve migrasyonunu destekleyen doku iskeleleri üretilmektedir. Doku iskelesi üretiminde doğal, sentetik veya kompozit polimerler kullanılmaktadır. Polimer seçimi rejenerasyonu hedeflenen dokunun gereksinimlerine göre gerçekleştirilmektedir. Poli(ε-kaprolakton) dayanıklılığı, yüksek mekanik özellikleri ve kolay erişilebilirliği ile doku mühendisliği uygulamalarında dikkat çekmektedir. İçinde bulunduğu koşullara bağlı olarak bir yılı aşan bozunum süresiyle poli(ε-kaprolakton) dayanıklılığı en yüksek polimerler arasındadır. Polimerlerin biyobozunum süreleri molekül ağırlıklarıyla değişmektedir. Bu durum aynı polimerin farklı molekül ağırlıklı versiyonlarıyla farklı bozunum sürelerine sahip doku iskelelerinin üretilbileceğini ifade etmektedir. Kullanılacak doku iskelelerinin, rejenerasyonu hedeflenen dokuya spesifik bozunma sürelerine sahip olması bilim dünyasında önem verilen bir özelliktir.

Doku iskelelerinin rejeneratifliğinin ve dayanımının artırılması için polimerler karbonik nanomalzemelerle desteklenmektedir. Literatürde bu karbonik yapılardan

grafen ve türevlerinin diğer karbon formlarına kıyasla daha biyouyumlu olduğu bildirilmektedir. Karbon atomunun sp^2 hibritleşme ürünü olan bal peteği örgü yapısındaki grafen ve türevleri sahip olduğu elektron düzenlemesiyle biyouyumluluk, biyobozunurluk, kimyasal stabilite, yüksek elektriksel iletkenlik, termal iletkenlik, esneklik ve sağlamlık gibi sıradışı özellikler sergilemektedir. Grafenin okside formu olan grafen oksit ise içerdiği alkol, karboksilik asit ve epoksi gruplarıyla grafen türevleri arasında biyomedikal uygulamalarda en çok tercih edilenidir. Literatürde yer alan çalışmalar grafen ve türevlerinin hücrelerin proliferasyon ve gelişmelerini desteklediğini, yara iyileşme sürecini hızlandırdığını bildirmektedir.

Günümüzde doku mühendisliği uygulamalarının nanoteknoloji ile bütünleşmesi sonucunda daha rejeneratif, biyolojik yapılarla daha uyumlu, biyobozunur ve doğal ekstraselüler matriks yapısına çok daha fazla benzeyen doku iskeleleri geliştirilebilmektedir. Geliştirilen bu doku iskeleleri kronik/yanık yara örtü materyali, implant yüzey kaplama materyali veya rejeneratif vücut içi destek materyali olarak kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında grafen oksit nanopartiküllerle fonksiyonalize edilerek rejeneratif özelliği arttırılmış polimerik doku iskelelerinin elektro eğirme yöntemiyle üretilmesi hedeflenmiştir. Çalışmada düşük molekül ağırlıklı poli(ϵ -kaprolakton) ($M_w=60000$) kullanılmış, literatüre kıyasla daha düşük molekül ağırlıklı poli(ϵ -kaprolakton)dan elde edilecek doku iskelesinin davranış özelliklerinin ve fizyolojik şartlara uygunluğunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler : Grafen, grafen oksit, nanoteknoloji, doku mühendisliği, elektroegirme, düşük molekül ağırlıklı poli(ϵ -kaprolakton), nanofiber, biyobozunum

Summary

Richard Feynman's "There's Plenty Of Room At The Bottom" speech, published in 1960, is considered the starting point of nanotechnology. Nanotechnology allows materials to be produced with much more advanced properties than mass materials. The range of 1-100 nanometers is called Nanoscale. Nanomaterials in the range of nanoscale show properties such as high electrical conductivity, high mechanical and thermal resistance due to the increased surface area/volume ratio. At the nanomaterials, physical, chemical, electrical, mechanical and optical properties are much different than mass materials. Moreover, nanomaterials interact with living organisms and affect cellular behavior. Today, nanotechnology is frequently used especially in the production or functionalization of tissue scaffolds, which are the main components of tissue engineering.

Tissue scaffolds are used for mimicking to the natural extracellular matrices in tissue engineering. In order to create a homogeneous and interconnected pore structure, the electrospinning technique is used in tissue engineering. The working principle of this method is continuous fiber extraction from polymer solution via high voltage apply. Thanks to this method, high surfaces scaffolds can be produced. The high surface area provides adhesion, proliferation, and migration of cells on tissue scaffolds. Natural, synthetic or composite polymers could be used in the production of tissue scaffolds. Polymer selection is carried out according to the requirements of the targeted tissue. Poly(ϵ -caprolacton) is an attractive polymer in tissue engineering applications because of its durability, high mechanical properties and easy accessibility. Poly(ϵ -caprolactone) is one of the most durable polymers in consequence of the degradation time exceeding one year depending on the conditions. The biodegradability of polymers changes according to the molecular weights of the polymer. This means that tissue scaffolds which have different degradation times can be produced from different molecular weight versions of the same polymer. The fact that the tissue scaffold has a biodegradation time specific to the target tissue is an important feature in the scientific world.

Polymers are supported by carbonic nanomaterials to increase the regeneration and strength of tissue scaffolds. In the literature, it is reported that the graphene and its

derivatives are more biocompatible than other carbon forms. Graphene and its derivatives are two-dimensional materials in the honeycomb lattice structure, which is the sp^2 hybridization of the carbon atom. Graphene and its derivatives show unusual properties such as biocompatibility, biodegradability, chemical stability, high electrical conductivity, thermal conductivity, flexibility and durability thanks to the its electron arrangement. Graphene oxide, which is an oxidized form of graphene, is most preferred graphene type in biomedical applications because of includes alcohol, carboxylic acid and epoxy groups. Studies in the literature suggest that graphene and its derivatives promote the proliferation and development of cells and accelerate the wound healing process. Nowadays, as a result of the integration of tissue engineering applications with nanotechnology, tissue scaffolds which are more regenerative, more compatible with the biological structures and much more similar to the natural extracellular matrix structure can be developed. These scaffolds are used as chronic / burn wound dressing material, implant surface coating material or regenerative supporting material.

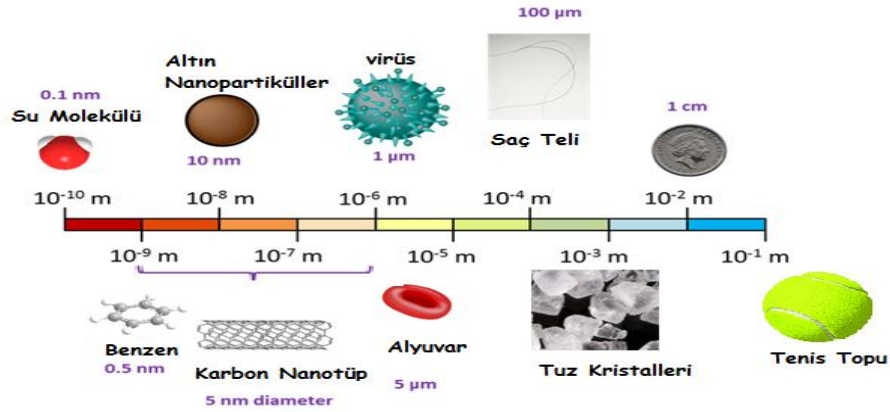
In this thesis, it is aimed to produce polymeric scaffolds which functionalized with graphene oxide nanoparticles via electrospinning method. In this study, low molecular weight poly (ϵ -caprolactone) ($M_w = 60000$) was used. And it was aimed to determine the behavior characteristics in physiological conditions of the tissue scaffold obtained from lower molecular weight poly (ϵ -caprolactone) compared to the literature.

Key Words: Graphene, graphene oxide, nanotechnology, tissue engineering, electrospinning, low molecular weight poly(ϵ -caprolactone), nanofiber, biodegradation

1. GİRİŞ

1.1. Nanoteknoloji, Nanobilim Ve Nanomühendislik

Nanobilim, herhangi bir ayrıtının boyutu 1-100 nanometre (nm) arasında kalan materyallerin özelliklerini inceleyen bilim dalıdır (Sweeney vd., 2003; Whitesides, 2005). Nanobilim ile maddeler atomik, moleküler ve makromoleküler boyutta manüpile edilebilmektedir. Bir nanometre ölçü birimi olarak metrenin milyarda birine eşittir. "Nanoskala" (Şekil 1) olarak belirtilen bu aralıkta malzemelerin özellikleri değişmekte, davranışları Newton fiziği ile değil kuantum fiziği ile açıklanabilmektedir. 1 nanometreye 3.5 altın atomu sığmaktadır. Nanoboyutun alt sınırını oluşturan 1 nanometrenin (nm) altında tek atom boyutuna inilmesinden dolayı atomlar arası ilişkilerden bahsedilememektedir. Üst sınırı oluşturan 100 nm üzerinde ise yeniden Newton fiziği kuralları geçerli olmaktadır.

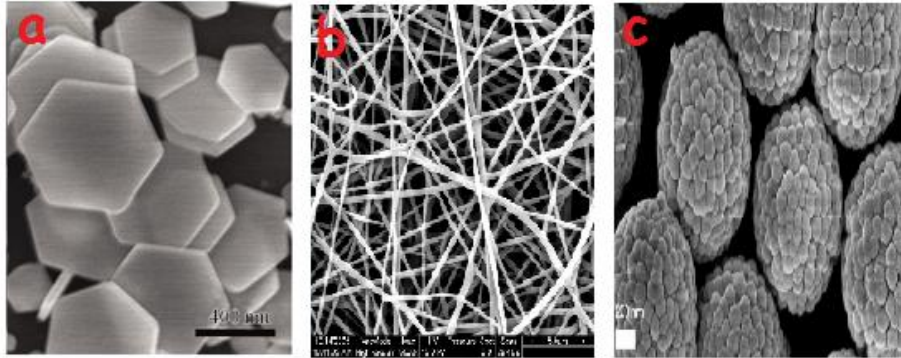


Şekil 1 : Çeşitli materyallerin nanoölçekte yerleri.

Richard Feynman'ın 1959 yılında yaptığı ve 1960 yılında yayınlanan konuşması nanobilim ve nanoteknolojinin başlangıç noktası kabul edilmektedir. Feynman konuşmasında gelecekte üretilmek istenen malzemelerin atom seviyesinden başlanarak atom-atom inşa edilebileceği ifade etmiştir (Feynman, 2012). Feynman'ın konuşmasında yirmi yıl kadar sonra, 1981 yılında IBM mühendisleri tarafından taramalı tünelleme mikroskobu (STM) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) keşfedilmiştir. Bu iki mikroskop sayesinde malzemelerin yüzeyleri atomik seviyede incelenebilmiş ve nanoboyutun varlığı kanıtlanmıştır.

Nanoteknoloji nanoboyut olarak adlandırılan 1-100 nm aralığında moleküllerin atomik, moleküler veya makromoleküler düzeylerde manüpülasyonu sonucunda yeni sistemlerin geliştirilmesidir (Sweeney vd., 2003; Whitesides, 2005). Söz konusu manipülasyonlar sonucunda geleneksel malzemelere kıyasla daha üstün özelliklere sahip yeni malzemeler üretilmektedir. Kısacası, nanoteknoloji, nanobilimin farklı teknolojik alanlara uygulanmasıdır. Nanoteknoloji terimi ilk kez 1974 yılında Tokyo Bilim Üniversitesi'nden Prof. Norio Taniguchi tarafından kullanılmıştır. Prof. Taniguchi nanoteknolojiyi; "*esas olarak, malzemelerin bir atom veya bir molekül tarafından ayrıştırılması, birleştirilmesi ve deformasyonu*" olarak tanımlamıştır (Taniguchi, 1974).

Nanoteknoloji ile üretilen, genellikle gelişmiş elektriksel iletkenlik, yüksek mekanik ve/veya termal dayanım, gibi özelliklerle karakterize olan malzemeler "**nanomateriyaller**" olarak adlandırılmaktadır (Sweeney vd., 2003). Bir malzemenin nanomalzeme olarak kabul edilebilmesi için en az bir boyutu 100 nm'nin altında olmalıdır. Sadece 1 ayrıtı 100 nm'nin altında olan materyeller "*nanofilm*", 2 ayrıtı 100 nm'nin altında olan materyaller "*nanotüp*", "*nanofiber*" veya "*nanotel*", 3 ayrıtı da 100 nm'nin altında olan materyaller "*nanopartikül*" olarak isimlendirilmektedir (Şekil 2).

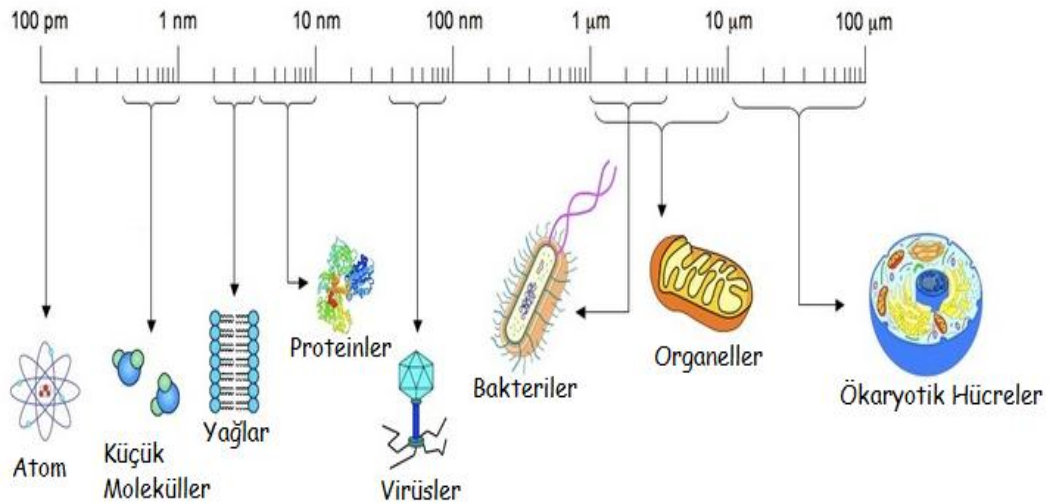


Şekil 2 : Solda (a) altın nanoyüzeylerin SEM görüntüsü (ölçek çizgisi 400 nm), ortada (b) polimer nanofiberlerin SEM görüntüsü (ölçek çizgisi 5 µm), sağda (c) silika naopartiküllerin SEM görüntüsü (ölçek çizgisi 200 nm)

Boyutun küçülmesiyle artan "**yüzey alanı/hacim**" oranı nanomalzemelere yığın materyallere kıyasla daha üstün fiziksel, mekanik, elektriksel ve optik özellikler kazandırmaktadır (Saallah ve Lenggoro, 2018).

Nanomalzemelerin üretim yöntemlerinin araştırılması ve incelenmesi, yeni nanomateriyallerin keşfedilmesi ve karakterizasyonu, bu nanomateriyallerden insan hayatını kolaylaştıracak yeni nesil yüksek teknoloji ürünlerinin geliştirilmesi nanomühendislik olarak tanımlanmaktadır.

Nanobilim ve nanomühendislik mekanik, elektrik-elektronik, fizik, kimya, biyoloji, tıp, optik ve malzeme bilimi gibi bir çok alanla iç içe, disiplinlerarası bir alandır (Zarzycki, 2014). Şekil 3'de görüldüğü üzere nükleik asitler, DNA, RNA, ATP, proteinler, yağlar ve bunlar gibi yaşamsal öneme sahip daha bir çok biyomolekül nanoboyutta yer almaktadır (Saallah ve Lenggoro, 2018). Organik yapıları nanopartiküller olarak da bilinen bu yapıların yer aldığı çalışmalar noteknolojinin biyoteknoloji içerisindeki uygulama alanlarını oluşturmakta ve "**nanobiyoteknoloji**" terimi ile ifade edilmektedir.

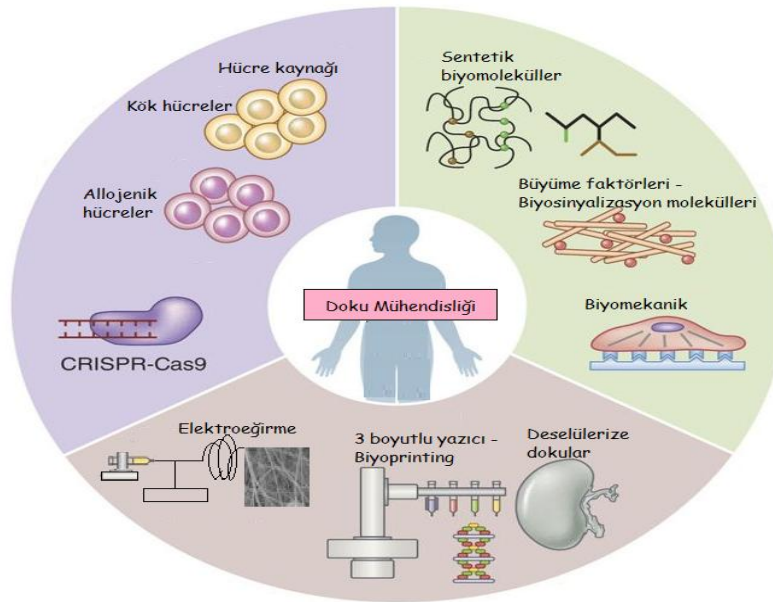


Şekil 3 : Çeşitli biyolojik yapıların boyutları ve nano ölçekte yerleri

Nanobiyoteknolojinin uygulama alanları arasında yeni nesil ilaçların, ilaç taşıyıcı sistemlerin, biyosensörlerin, görüntüleme ajanlarının ve yapay organ ve dokuların geliştirilmesi bulunmaktadır (Saallah ve Lenggoro, 2018). Literatürde yer alan bir çok çalışma nano yapıların hücresel davranışları etkilediğini bildirmektedir (Dhandayuthapani vd., 2011; Ma vd., 2005).

1.2. Doku Mühendisliği

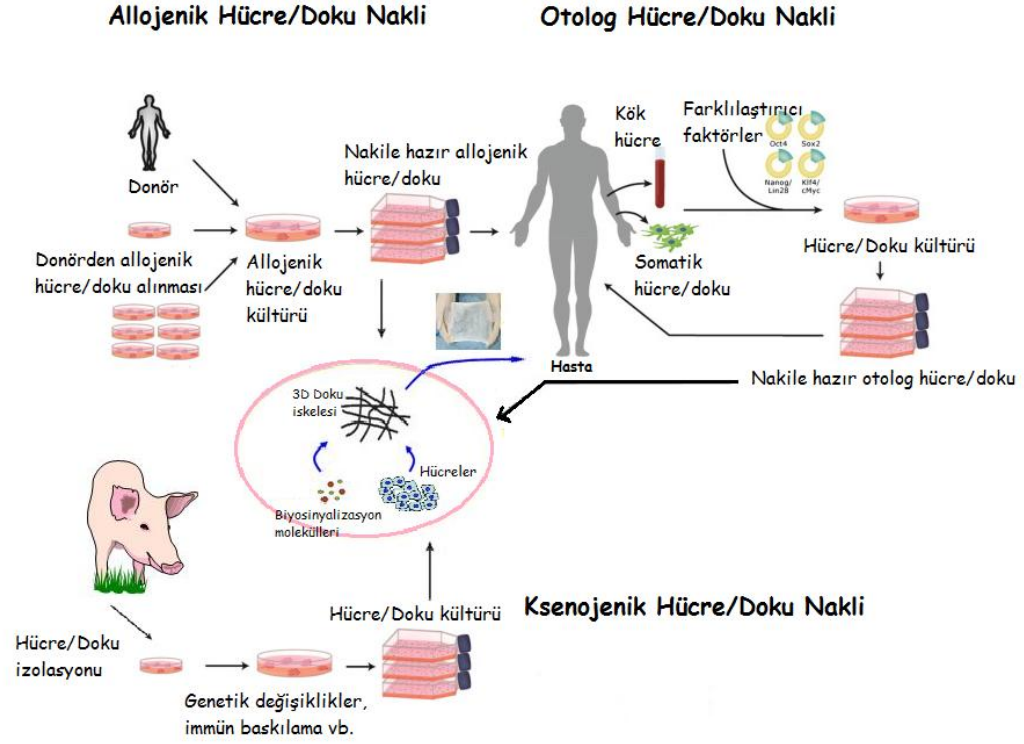
Doku mühendisliği hayat bilimlerinin mühendislik yaklaşımlarıyla ele alınarak biyolojik bir dokunun veya bütün bir organın fonksiyonunun sürdürülebilir olarak geliştirilmesi ve iyileştirilmesi amacıyla bir araya getirildiği multidisipliner bir alan olarak tanımlanmaktadır (Langer ve Vacanti, 1993; Lanza vd., 2011). Doku mühendisliğinin amacı doğal ekstrasellüler matriksin (ESM) başarıyla taklit edilmesidir. Bunu gerçekleştirmek için doku mühendisliği biyosinyalizasyon moleküllerini, doku iskelelerini ve hücreleri kullanmaktadır (Akter, 2016; Griffith ve Naughton, 2002). Bu üç unsur doku mühendisliğinin temel bileşenleridir (Şekil 4).



Şekil 4 : Doku mühendisliğinin temel unsurları.

1.2.1. Doku Mühendisliğinde Kullanılan Hücreler ve Hücresel Kaynaklar

Doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan hücreler 4 farklı kaynaktan elde edilebilmektedir. Bunlardan üçü özelleşmiş, ergin, hücre gruplarını içeren otolog, allojenik ve ksenojenik hücrelerken (Şekil 5), son grubu ise farklı kaynaklardan elde edilen farklılaşmamış kök hücreler oluşturmaktadır (Şekil 6) (Akter, 2016). Çeşitli kaynaklardan izole edilen bu hücreler doku iskelelerine ekilerek proliferasyon olmaları sağlanmakta ve doku mühendisliği tedavisi gören hastalara bu şekilde nakledilmektedir.



Şekil 5 : Doku mühendisliğinde kullanılan ergin hücre/doku tipleri ve nakil aşamaları

Otolog Hücreler

Otolog hücreler hastanın kendisinden alınan hücrelerdir. Bu yöntemin en büyük avantajı immün reaksiyon riski oluşturmamasıdır. Ancak bu yöntemde hastaya 2 kez operasyon yapılması ve doku alınan bölgede oluşan morbidite büyük bir dezavantaj oluşturmaktadır (Akter, 2016; Spector vd., 1998).

Allojenik Hücreler

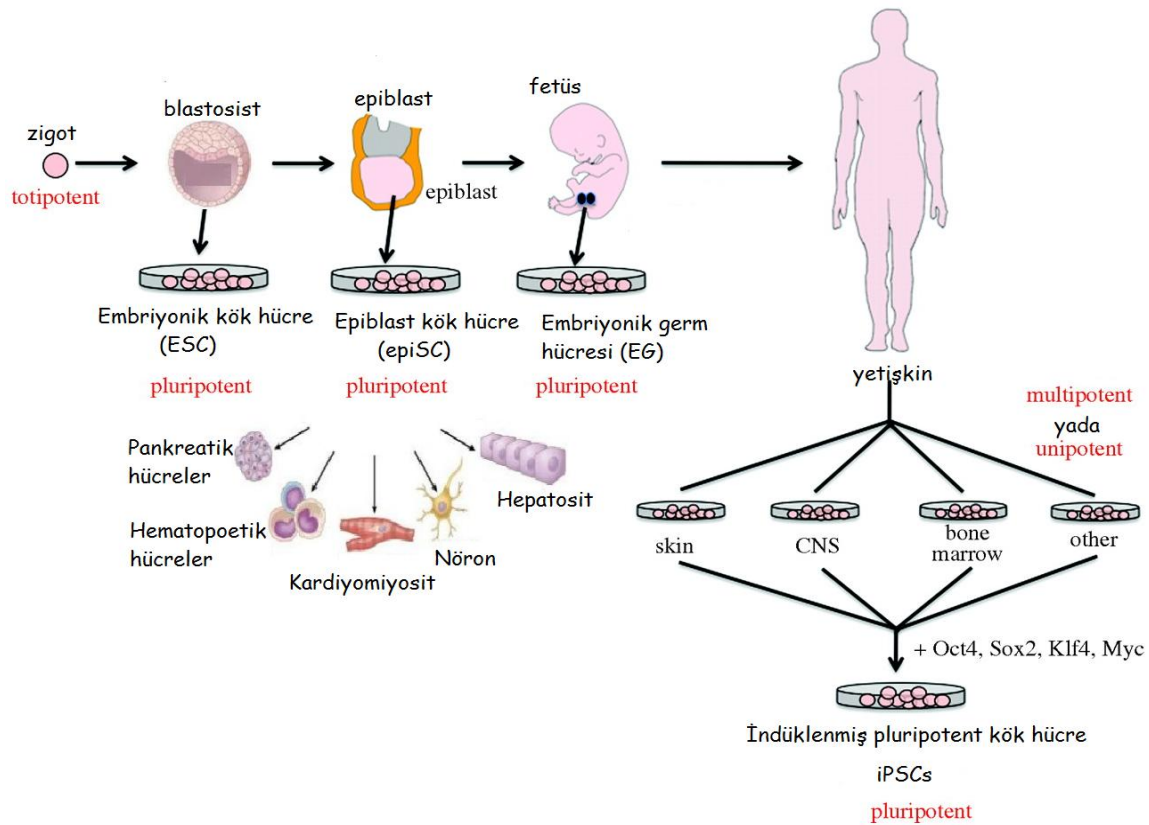
Aynı türden başka bir bireyden alınan hücreler allojenik hücre olarak isimlendirilmektedir. Tür içi hücre ve doku nakillerini kapsayan bu yöntemde bireyler arası doku uyumsuzluğu nedeniyle immün reaksiyon gelişmesi en büyük riski oluşturmaktadır (Akter, 2016; Spector vd., 1998).

Ksenojenik Hücreler

Ksenojenik hücreler farklı türde bir canlıdan alınan hücreleri ifade etmektedir. Diğer yöntemlere göre çok daha az maaliyetli bir yöntem olmasına rağmen immünolojik riskleri en yüksek olan yöntemdir (Akter, 2016; Spector vd., 1998)

Kök Hücreler

Sınırsız bölünebilme, kendini yenileyebilme ve diğer hücre tiplerine farklılaşabilme kapasitesine sahip özelleşmemiş hücreler kök hücre olarak adlandırılmaktadır. İzole edildikleri bölgeye göre isimlendirilen kök hücreler genel olarak "*embriyonik*" ve "*yetişkin*" kök hücreler olarak 2 sınıfa ayrılmaktadır (Şekil 6) (Akter, 2016; Spector vd., 1998). Doku mühendisliği uygulamalarında, iskeleye ekilen kök hücrelerin sitokinlerle veya tek başlarına hedef dokuya özgü hücre türlerine farklılaşmaları ve nakledildikleri bölgede hasarlı dokunun yeniden oluşmasını sağlamaları beklenmektedir.



Şekil 6 : Elde edildikleri bölgelere göre kök hücreler ve kök hücre türleri

1.2.2. Doku Mühendisliği Biyosinyalizasyon Molekülleri

Biyosinyalizasyon molekülleri, büyüme faktörü olarak da bilinmektedir. Bu sinyal molekülleri canlı vücudunda hücrelerin hayatta kalması, proliferasyonu, migrasyonun kontrolü ve gelişmesi üzerinde etkilidir (K. Lee vd., 2011). Doku mühendisliğinde en çok kullanılan büyüme faktörleri fibroblast büyüme faktörü (bFGF), epitel büyüme faktörü (EGF), kemik forfogenetik proteini (BMP), vasküler epitelyal büyüme faktörü (VEGF) ve dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β)'dır (Akter, 2016; K. Lee vd., 2011).

1.2.3. Doku Mühendisliğinde Kullanılan Doku İskeleleri

ESM'i taklit etmek amacıyla üretilen doku iskeleleri biyouyumlu, 3 boyutlu ve birbiri ile bağlantılı gözenek ağına ve kontrol edilebilir bozunma hızına sahip, hücrelerin metabolik faaliyetlerini yürütmelerine olanak veren, hücrelerin gelişimlerini ve proliferasyonlarını destekleyen polimerik doku mühendisliği ürünleridir (KURTOĞLU, 2009; Ma vd., 2005). Doku iskeleleri üzerinde hücreler gelişirken, iskele zamanla toksik metabolitler üretmeden yerini yeni ve doğal ESM'e bırakacak şekilde emilime uğramalıdır (Freed vd., 1994; J. Lee vd., 2008). Ayrıca, hücre-doku iskelesi ara yüzey etkileşimleri de hücrelerin gelişimi açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle doku iskelesi uygulanacağı bölgenin doğal ESM'sine uygun morfolojik özellikte olmalı, doku iskelesinin hücrelerle ara yüzey etkileşimi hücrelerin tutunmasını ve gelişmesini desteklemelidir (Diesner vd., 2011).

Doku iskelesi üretiminde kullanılacak malzeme, malzemenin türü, malzemenin kimyasal özellikleri, molekül ağırlığı, biyouyumluluğu, biyobozunurluğu, hidrofiliği, yüzey alanı/hacim oranı, su absorpsiyon kapasitesi gibi fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal özelliklerine göre seçilmektedir. Yapay doku iskeleleri fiber, köpük, sünger, hidrojel, ve mesh (kafes ağ yapısı) benzeri yapılarda üretilmektedir. Bu yapılardan hangisinin seçileceği yine hedef dokunun gereksinimlerine göre belirlenmektedir (Dhandayuthapani vd., 2011; Nigam ve Mahanta, 2014).

Poroz Doku İskeleleri

Köpük veya sünger yapıdaki bu doku iskeleleri genellikle kemik doku mühendisliğinde tercih edilmektedir. Köpük ve süngerimsi yapıların mesh yapılara kıyasla mekanik dayanımının daha yüksek olmasına rağmen birbiriyle bağlantılı gözenek yapısının eksikliği nedeniyle bu iskelelerin kullanım alanları sınırlıdır (Dhandayuthapani vd., 2011; Nigam ve Mahanta, 2014).

Hidrojel Doku İskeleleri

Doğal makromoleküllerden oluşan hidrojeller, yüksek biyouyumluluk, kontrollü biyobozunum, biyoaktivite gibi avantajlara sahiptir. Ancak mekanik açıdan zayıf olan hidrojeller yara örtüsü ve ilaç taşıyıcı olarak kullanılabilir (Dhandayuthapani vd., 2011; Nigam ve Mahanta, 2014).

Fibröz Doku İskeleleri

Nano ölçekte doğal insan ESM'in nanofibröz yapısının taklit edilmesini sağlamak amacıyla geliştirilen fibröz doku iskeleleri elektroegirme, kendiliğinden oluşum (self assembly) ve faz ayırma yöntemleri ile üretilmektedir. Nanofiberler sahip oldukları yüksek yüzey alanı/hacim oranlarıyla doku iskelelerinde hücresel adhezyon, proliferasyon, göç ve farklılaşmayı artırmaktadır. Nanofibröz doku iskeleleri kemik, kırık, iskelet kasları, deri, damar ve özellikle de nöral doku mühendisliğinde kullanılmaktadır. Ayrıca bu iskeleler ilaç, gen, protein ve büyüme faktörleri gibi moleküllerin taşınmasında akıllı ve hedefli taşıyıcı sistemlerde de kullanılabilir (Dhandayuthapani vd., 2011; Nigam ve Mahanta, 2014; Zou vd., 2018).

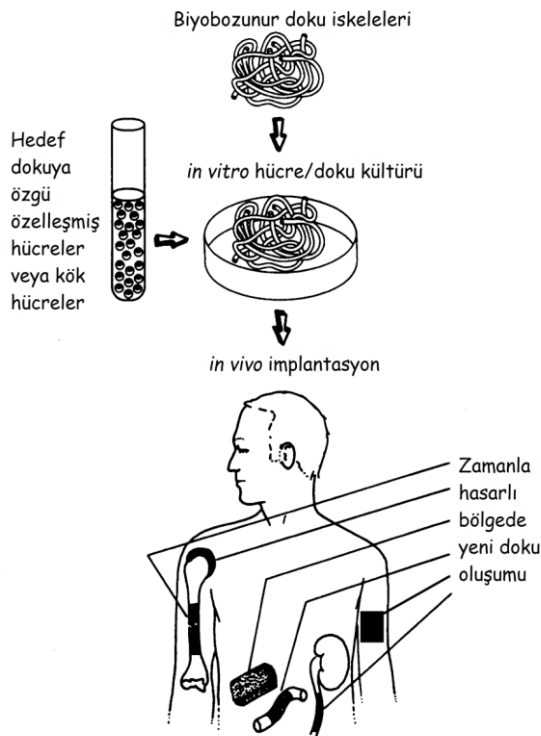
İnce Filmler

Yara örtü materyali olarak kullanılan ince filmler temel olarak hasarlı bölgeyi korumak ve mekanik olarak desteklemek için üretilmişlerdir (Sezer ve Cevher, 2011).

Çok Katmanlı Doku İskeleleri

Doku iskelesi üretiminde yukarıda bahsedilen yöntemlerden bir tanesi kullanılabileceği gibi bu yöntemler birliktede kullanılabilmektedir. Bu sayede 2 veya 3 katmanlı yapılar elde edilebilmekte, belirli bir doku veya organ tam olarak taklit edilebilmektedir. Doku iskeleleri sadece doğal ve/veya sentetik polimerik yapılardan oluşabileceği gibi biyosinyalizasyon molekülleri ile multifonksiyonel hale getirilebilmekte ve hücre ekilmesiyle 3 boyutlu yapay dokular oluşturulabilmektedir. Mühendislik ürünü doku iskelelerinin başarılı bir şekilde büyük ölçekte üretilmesi için hem yeterli sağlıklı hücre kaynağına hem doku iskelelerinin optimizasyonuna hem de vücut ortamını taklit edebilecek biyoreaktörlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır(Griffith ve Naughton, 2002; Nigam ve Mahanta, 2014).

1.3. Neden Doku Mühendisliği ?



Şekil 7: Doku mühendisliği uygulamalarının şematik gösterimi.

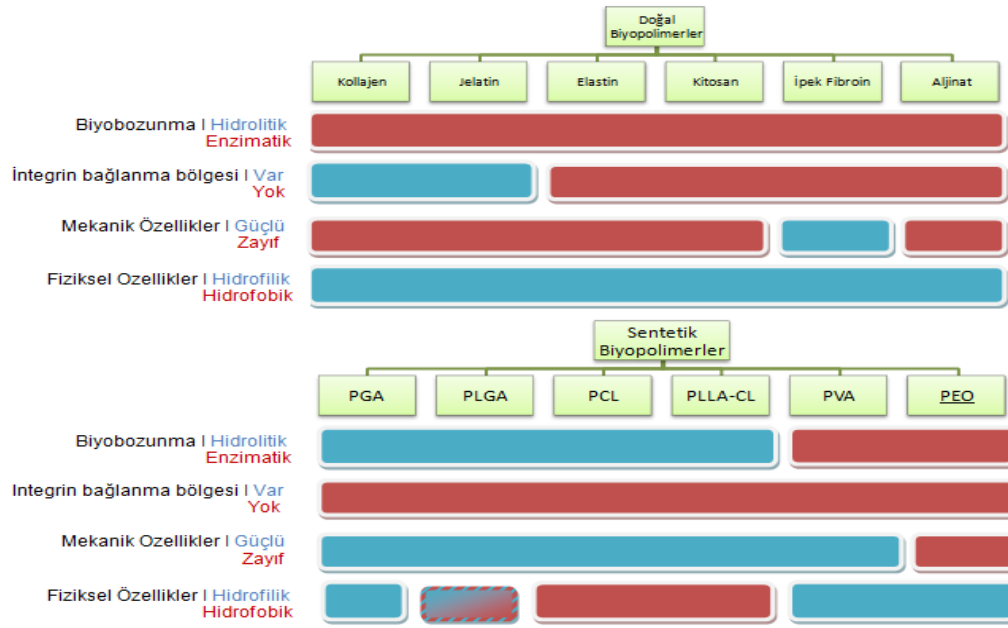
Herhangi bir travma sonucunda doku bütünlüğünün bozulmasıyla sonuçlanan, ilgili dokuda oluşan kesik, yırtık veya yanıklar yara olarak tanımlanmaktadır. Yara iyileşme süreci inflamasyon, proliferasyon, yara izi oluşumu ve maturasyon ile sonuçlanmaktadır. İyileşme sürecinde organizma bir bütün olarak hareket etmekte, bu sayede homeostazın yeniden sağlanması için hasarlı bölgede ESM bileşenlerinin salgılanması ve doku bütünlüğünün yeniden oluşturulması sağlanmaktadır (Gurtner vd., 2008; Han ve Ceilley, 2017).

Doku iskeleleri ise dokunun kendi kendine iyileşmesinin mümkün olamadığı kaza veya cerrahi operasyon sonrası oluşan akut yaralar ile hastalık sonucunda oluşan kronik yaraların tedavisinde kullanılan doku mühendisliği ürünleridir. Doku mühendisliğinin ilk ticari başarısı yapay deri ve dermal yara örtü malzemeleridir. Yara örtü materyalleri en basit haliyle pasif, interaktif ve biyoaktif örtüler olarak sınıflandırılmaktadır. Pasif örtüler sargı bezi şeklindeki yarayı sadece kapatarak koruyan ve iyileşme sürecinde aktif etkisi olmayan ürünlerdir. İnteraktif örtüler, polimerik film ve köpüklerden oluşan, nem ve gazlara karşı geçirgen örtülerdir. Biyoaktif yara örtüleri ise doğal ESM'yi taklit etmek üzere geliştirilmiş, doku mühendisliği çalışmaları sonucunda hücreleştirilmiş dokulardan, çeşitli biyopolimerlerden veya kompozit materyallerden elde edilen, yara dokusuyla etkileşime girerek iyileşme süreçlerinde aktif rol oynayan yeni nesil yara örtü materyalleridir (Dhivya vd., 2015; ResearchAndMarkets, 2018).

1.4. Doku İskelesi Üretiminde Kullanılan Materyaller

Doku iskeleleri metal, seramik veya polimerik kaynaklı olabilmektedir. Metalik ve seramik iskeleler dental veya kemik doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmaktadır. Metalik doku iskeleleri uygulandıkları bölgeye mekanik dayanım sağlayan, biyobozunur olmayan ve uygulandığı bölgenin ESM yapısını taklit etmeyen doku iskeleleridir. Seramikler ise metalik iskelelerden farklı olarak sınırlı biyobozunum kabiliyetine sahiptir. Polimerler ise hem işlenebilirliğinin kolaylığı hem tüm doku tiplerine uygulanabilirliği hem de biyobozunum ve biyouyumluluk özelliklerinden dolayı metalik ve seramiklere göre daha fazla avantaja sahiptir (X. Liu vd., 2012).

Şekil 8'de görüldüğü gibi polimerik doku iskeleleri kollajen, fibrin, fibroin, hiyalüronik asit, kitosan, aljinat ve nişasta gibi doğal ESM bileşenlerinden üretilebileceği gibi poli(glikolik asit), poli(laktik asit) ve poli(ε-kaprolakton) gibi sentetik polimerlerden veya bunların kompozitlerinden de üretilebilmektedir (Griffith ve Naughton, 2002).



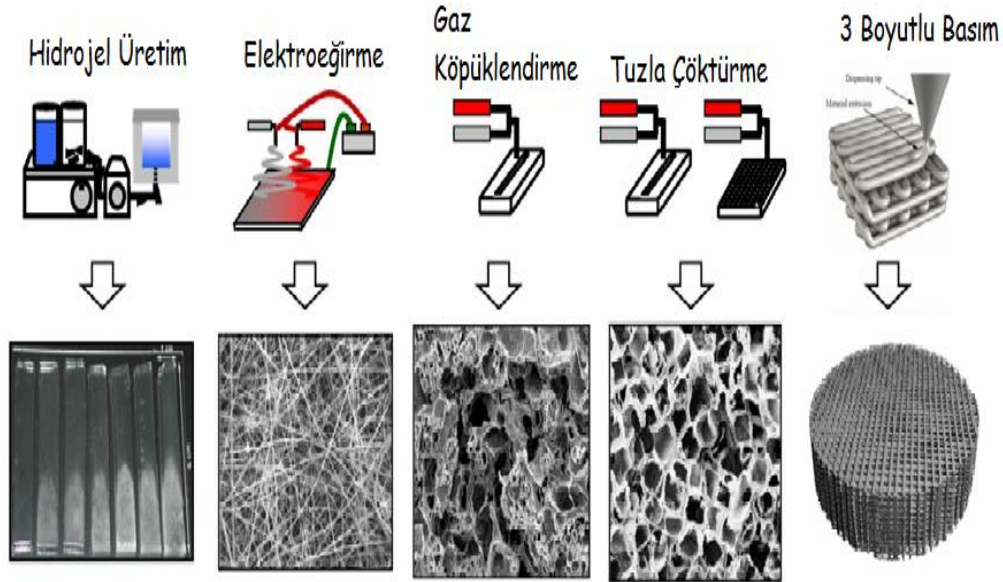
Şekil 8 : Doku mühendisliğinde kullanılan polimerler ve özellikleri (Kai vd., 2014)

Doğal polimerler, ESM'in yapısında bulunmaları, yüksek biyouyumlulukları ve biyoaktif özellikleriyle ilgi çekmektedir. Sentetik polimerler ise daha çok kolay üretilmesi ve ucuz olması sebebiyle tercih edilmektedir (Bürck vd., 2013; Fu ve Cao, 2012; Sezer ve Cevher, 2011; A. M. Smith vd., 2016). Genellikle biyouyumluluğu yüksek ve toksisite riski düşük olarak kabul edilen doğal polimerler, direkt olarak bitkilerden, hayvanlardan ve hatta insan dokularından ekstrakte edilebilmektedirler (S.-H. Lee ve Shin, 2007). Bahsi geçen avantajlarına rağmen doğal biyopolimerler zayıf mekanik dayanım, büzülme, zor elde edilmesi, pahalı olması ve immünolojik riskleri uygulamalarda sorunlara neden olmaktadır (Zhong vd., 2010). Bu sorunlardan dolayı son yıllarda doku mühendisliği çalışmalarında sentetik biyopolimerlerin kullanımı artmıştır. Sentetik biyopolimerlerin sağladığı avantajlar yüksek mekanik dayanım, kolay ve ucuz olarak elde edilebilmesi, biyoinertlik ve biyobozunurluk olarak listelenebilmektedir (Dhandayuthapani vd., 2011). Bu avantajlarına ek olarak sentetik biyopolimerler kuru fazda yüksek oranda su absorplayabilmekte ve hidratlandıklarında absorbe ettikleri suyu dışarı verebilmektedir (A. M. Smith vd., 2016). Poli(glikolik asit), poli(laktik asit) ve bu iki polimerin farklı oranlarda hazırlanan kompozitleri, poli(üretan), poli(etilenglikol) ve poli(ε-kaprolakton) doku mühendisliğinde en çok kullanılan sentetik polimerlerdir (Gloria, De Santis, ve Ambrosio, 2010).

1.5. Polimerik Doku İskelesi Üretim Yöntemleri

Polimerik doku iskelelerinin metal ve seramiklere kıyasla sağladığı en büyük avantaj biyobozunurluğudur. Biyobozunurluk Amerikan Test ve Malzeme Kurumu (American Society for Testing and Materials - ASTM) tarafından "*malzemenin karbondioksit, su, metan, inorganik bileşenler ve biyokütleye ayrışabilmesi*" olarak tanımlanmıştır (Avérous ve Pollet, 2012). Biyobozunurluğun bu denli önemli olmasının sebebi bozunum sonucunda oluşan metabolitler sayesinde hasarlı bölgede yeni doku oluşumunun sağlanması ve bu sayede dokunun tam olarak rejenere olabilesidir.

Rejenerasyonun sağlanabilmesi için doku iskelesinin biyobozunurluğunun yanısıra, iskeleye sağlıklı hücre göçünün gerçekleşmesi de gerekmektedir. Doku iskelelerinin topografi ve hidrofiliklik gibi yüzey özellikleri, hücrelerin hasarlı bölgeye migrasyonu, doku iskelesine adhezyonu ve o bölgede proliferasyonu üzerinde etkilidir (Jing vd., 2016). Doku iskelelerinin topografileri üretim yöntemlerine bağlı olarak değişmektedir (Şekil 9). Doku iskelesi üretiminde dondurarak kurutma, ıslak çekme, membran laminasyon, gaz köpükleme, tuzla çöktürme, faz ayırma, elektroegirme, üç boyutlu yazıcı gibi çeşitli teknikler kullanılabilir.

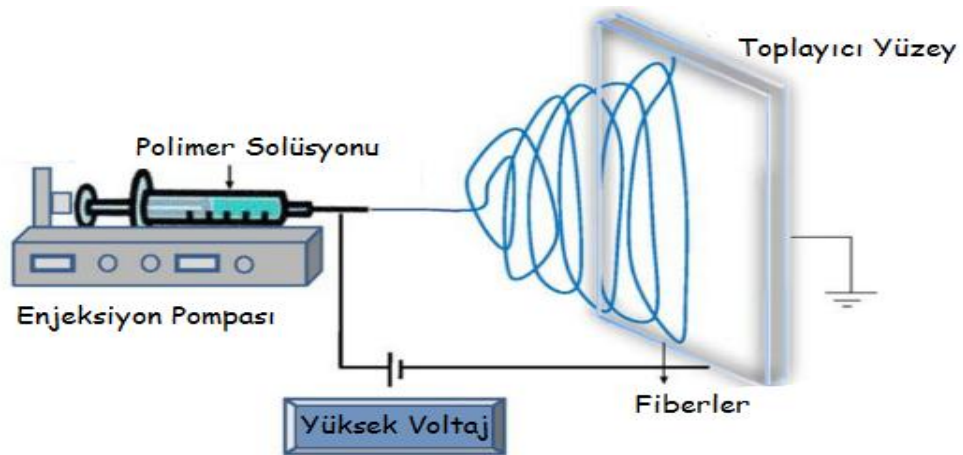


Şekil 9 : Farklı doku iskelesi üretim yöntemleri ve elde edilen doku iskelelerinin topografileri (Nigam ve Mahanta, 2014).

Bu teknikler incelendiğinde doku iskelesinin yerine getirmesi gereken en önemli faktörlerden biri olan homojen ve birbiriyle bağlantılı gözenek yapısını oluşturmak için elektroegirme tekniği doku iskelesi üretiminde avantajlı bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (Y. Bai vd., 2014; Eap vd., 2012; Gao ve Duan, 2015; Haycock, 2011; Jakus vd., 2015; J. Li, Connell, ve Shi, 2010; Liao vd., 2006; Tan, Song, ve Zheng, 2012). Elektroegirme yönteminin tek avantajı poroz doku iskelelerinin üretimine izin vermesi değildir. Bu yöntem sayesinde yüksek poroziteye sahip nanofibröz, yani ESM'e benzer doku iskeleleri diğer yöntemlere kıyasla çok daha kolay, endüstriye uygun olarak büyük ölçekte ve kontrollü bir şekilde üretilabilmektedir (Kai vd., 2014; Ma vd., 2005; Zou vd., 2018).

1.5.1. Elektroegirme Yöntemi İle Doku İskelesi Üretimi

Elektroegirme yöntemi; yüksek voltaj uygulaması sonucunda oluşan elektrostatik kuvvetler yardımıyla akış halindeki polimer çözeltisinden sürekli fiber çekimi temeline dayanmaktadır (Bürck vd., 2018; Bürck vd., 2013). Dolayısıyla, kesintisiz fiberlerden oluşan doku iskeleleri üretmek için kullanılabilecek tek ve en uygun yöntem elektroegirme yöntemidir (Hacıosmanoğlu, Buerck, Ve Kazancı, 2018; Zhong vd., 2010). Uygulanan yüksek voltajın etkisiyle polimer çözeltisi enjeksiyon ucunda "Taylor Konisi" denilen konik yapıyı oluşturarak toplayıcı yüzeye doğru uzayan fiberleri oluşmasını sağlamaktadır (Şekil 10) (Bürck vd., 2013).



Şekil 10 : Elektroegirme cihazı şematik gösterimi

Poroz fiber yapısı ve yüksek yüzey alanı sağlaması sayesinde elektroeğirilmiş doku iskeleleri hücreler için yaşamsal önemi olan gaz ve besin/atık değişimi için uygun difüzyon ortamının sağlanmasına da olanak vermektedir (Aras ve Kazanci, 2015; Kai vd., 2014; Zhong vd., 2010). Elektroeğirilmiş fiberlerin sahip olduğu kütle başına düşen yüksek yüzey alanı özelliği onları biyomedikal uygulamalarda bir adım öne geçirmektedir (Liao vd., 2006). Aras ve Kazanci (2015) tarafından rapor edilen bir çalışmada elektroeğirme ile elde edilen doku iskelelerinin ilaçların kontrollü salınımını sağlayabilecek özellikte de olduğu, kullanılan polimerin yapısına, bağlanma oranına ve türüne bağlı olarak salınım süresinin ve hızının kontrol edilebileceği bildirilmiştir (Aras ve Kazanci, 2015). Buradan da anlaşılabileceği üzere elektroeğirilmiş fibröz doku iskeleleri doku mühendisliği uygulamalarının yanı sıra ilaç ve gen dağıtımı gibi birçok medikal uygulamada kullanılma potansiyeline sahiptir (Liao vd., 2006). Elektroeğirme yöntemiyle sadece polimerik materyallerden oluşan basit yapılı doku iskeleleri üretilebileceği gibi, multifonksiyonel, ilaç veya çeşitli büyüme faktörleriyle desteklenmiş biyomühendislik ürünü yeni nesil doku iskeleleri de üretilebilmektedir. Bu doku iskeleleri doku mühendisliği çalışmalarında başlıca deri, kan damarı, sinir, kıkırdak ve kemik doku hasarlarının onarımına yönelik olarak geliştirilmektedir (Liao vd., 2006).

1.5.2. Elektroeğirme Yöntemi İle Doku İskelesi Üretimini Etkileyen Parametreler

Daha önce de bahsedildiği gibi, elektroeğirme yöntemi, doğal ESM yapısına en çok benzeyen, yüksek proziteye sahip 3 boyutlu nanofibröz doku iskelelerinin elde edilmesini sağlayabilmektedir (Collins ve Birkinshaw, 2013; Yang Liu, 2010).

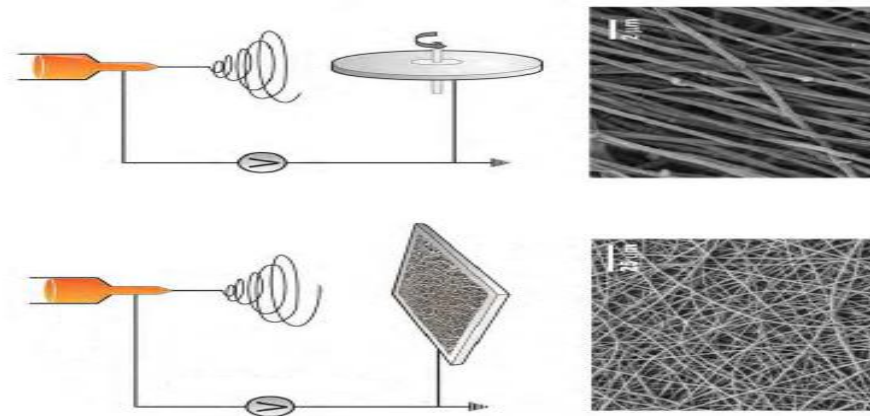
Elektroeğirme yöntemiyle doku iskelesi üretiminde de diğer tüm yöntemlerde olduğu gibi dikkat edilmesi gereken bazı hususlar mevcuttur. Bunlar; çözücü türü, polimer konsantrasyonu, voltaj, akış hızı (debi) ve toplayıcı ile enjeksiyon arası mesafedir. Çözücü seçimi yapılırken dikkat edilmesi gereken seçilecek çözücünün buharlaşma sıcaklığının çok yüksek olmamasıdır. Çözücü, eğirme işlemi sırasında polimerin enjektör ucundan fiber halinde çekilmeye başladığı andan fiberlerin toplayıcı üniteye

ulaşıncaya kadar geçen sürede buharlaşmalıdır. Çözücünün uzaklaştırılmadığı durumlarda fiberler morfolojilerini kaybetmektedir.

Konsantrasyon elektroğirme işleminde dikkat edilmesi gereken en önemli parametredir. Diğer parametrelerin optimizasyonu sağlanmadığında dahi yapısı bozuk olsa bile fiber oluşumu gözlemlenebilmektedir. Ancak, polimer konsantrasyonu eğirme için uygun olmadığında toplayıcı yüzeyde fiber yerine damlacık şeklinde kaplama gerçekleşmektedir. Çalışmamız sırasında da elektroğirme işlemi için uygun PCL konsantrasyonunun belirlenmesi sırasında düşük konsantrasyonlarda yoğun damlacık oluşumu tespit edilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda fiber oluşumu gözlemlenemezken, yüksek konsantrasyonlarda ise viskozitenin aşırı artması sonucunda düzenli akış ve fiber çekimi gerçekleşmemektedir. Elektroğirmeye uygun konsantrasyon sınırları içinde kalmak koşuluyla konsantrasyon artışı fiber çaplarının artmasına neden olmaktadır.

Akış hızı ve voltaj parametreleri ise hem fiber çapları hemde çözücü buharlaşması üzerinde etkilidir. Yüksek akış hızı çözücünün buharlaşmasına engel olabileceği gibi fiber çaplarının artmasına da neden olabilmektedir (S., Sanpui, ve Chatterjee, 2014). Bu parametrelere ek olarak kullanılan çözücü ve üretim sıcaklığı da elektroğirme ile üretim yapılırken dikkat edilmesi gereken parametrelerdendir (Kazanci, 2014).

Tüm bunlar elektroğirme sırasında dikkat edilmesi gereken, son ürün kalitesini etkileyen önemli parametrelerdir.

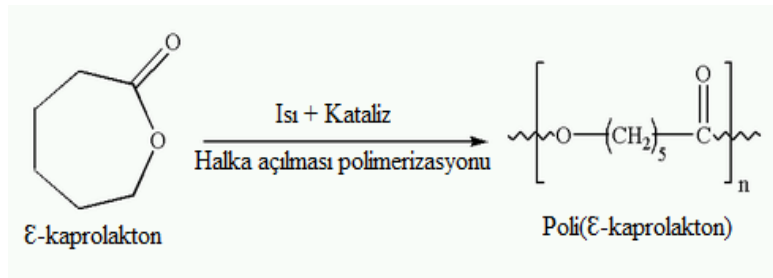


Şekil 11 : Farklı toplayıcılarla elde edilebilecek hizalı (üstte) veya random (altta) fiberlerin mikroskop görüntüleri.

Elektroeğirme yöntemi, birçok biyopolimere uygulanabilmekte olup, kolay bir şekilde 3-5000 nm aralığında nano, mikro ve makro fiberler üretilebilmesini sağlamaktadır (Bürck vd., 2018; Bürck vd., 2013; Kai vd., 2014; Liao vd., 2006). Elektroeğirme yöntemi ile, şekil 11'de görüldüğü gibi, hem dokuya özel olarak doğrusal/hızlı yönelime sahip hem de rastgele fiberlere sahip iskeleler üretilebilmektedir (Bürck vd., 2013; J. Li vd., 2010). Elektroeğirme yöntemi diğer yöntemlere kıyasla daha düşük maliyetli ve endüstriyel üretime daha uygundur. Bahsi geçen nedenlerle elektroeğirme yöntemi çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir (Cui, Zhou, ve Chang, 2010; J. Li vd., 2010; Liao vd., 2006).

1.6. Poli(ε-Kaprolakton) (PCL)

Poli(ε-kaprolakton) (PCL), ε-kaprolakton monomerinin halka açılması polimerizasyonu ile elde edilen, FDA onaylı biyobozunur ve hem yumuşak hem de sert dokulara uygulanabilir biyouyumlu bir alifatik poliester polimeridir (Şekil 12).



Şekil 12 : ε-kaprolaktondan halka açılması polimerizasyonu ile PCL sentezi.

PCL'nin camsı geçiş sıcaklığı -60°C ve erime noktası ise $60-65^{\circ}\text{C}$ civarındadır. Birçok organik çözücünde çözünen PCL, enzimatik degradasyonla kolaylıkla sindirilebilmektedir (Avérous ve Pollet, 2012; Vroman ve Tighzert, 2009). PCL; molekül ağırlığına, kristalliğine ve içinde bulunduğu koşullara bağlı olarak birkaç ay ile birkaç yıl arasında değişen bozunma zamanlarına sahiptir (Bilhalva vd., 2018). Diğer polimerlere kıyasla endüstriyel olarak daha kolay, daha büyük ölçekte ve daha ucuza elde edilebilen PCL mekanik açıdan daha dayanıklı olmasıyla da dikkat çekmektedir.

1.7. Doku Mühendisliğinde Nanoteknoloji Uygulamaları

Bilim dünyasında 1980'lerden itibaren her geçen gün daha fazla dikkat çeken nanoteknoloji biyomedikal alanda kontrollü ilaç ve gen dağıtımı, moleküler görüntüleme ajanı ve biyosensör olarak kullanılabilir (Nitta ve Numata, 2013). Doku mühendisliği uygulamalarında nanoteknolojinin kullanımı 2 başlık altında ele alınabilir. Bunlardan ilki doku iskelelerine nanopartiküllerin eklenmesiyle nanoteknolojiden faydalanılmasıdır. İskelelere nanopartikül eklenmesi malzemenin dayanıklılığını ve rejeneratifliğini arttırması ve/veya malzemeye antimikrobiyalite kazandırması için kullanılmaktadır (Nurunnabi vd., 2015). İkincisi ise doku iskelesinin nanoyapılı olmasıyla nanoteknolojinin doğrudan kullanılmasıdır. Nanoteknolojik üretim yöntemlerinin kullanılması doğal dokuların ve onların ekstrasellüler matriks yapılarının tam anlamıyla taklit edilebilmesini sağlamaktadır (Kingsley vd., 2013). Özetle nanoteknoloji doku mühendisliği uygulamalarında karşılaşılan sorunları çözmek, mekanik ve biyolojik performansı arttırmak amacıyla kullanılmaktadır (Hasan vd., 2018).

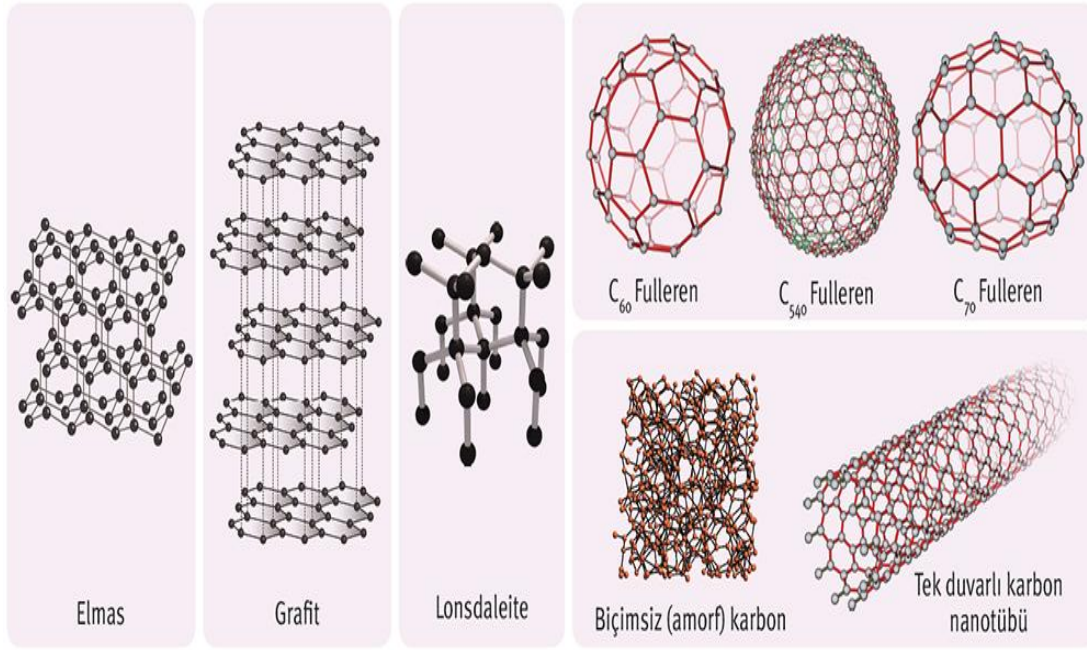
Bu tez çalışmasında nanoteknolojiden hem grafen oksit nanopartiküller ile dolaylı yoldan hem de nanofiber üretim tekniği kullanılmasıyla doğrudan faydalanılmıştır.

1.7.1. Karbonik Yapılar Ve Doku Mühendisliğinde Kullanımı

Doku mühendisliği uygulamalarında nanoteknolojik yaklaşımlara verilen önem her geçen gün artmaktadır. Buna bağlantılı olarak karbonik yapıların doku mühendisliğinde kullanımı da artmaktadır. Karbonik yapılara duyulan bu ilginin sebebi proteinler gibi tüm organik moleküllerin karbon atomlarından oluşması ve dolayısıyla karbonik yapıların biyolojik sistemlerle uyumlu olmasıdır (Blazewicz, 2001).

Karbon atomu sahip olduğu elektron düzenlemesi nedeniyle bileşiklerinde 4 bağ yapabilmekte, bu sayede doğada çok çeşitli formlarda bulunabilmektedir (Şekil 13). Elmas, grafit, amorf karbon, fulleren ve karbon nanotüpler karbon formlarının başlıcalarını oluşturmaktadır. Bu yapılardan elmas doğada bulunan en sert maddeyken grafit ise yazı yazmak için kullandığımız kalemlerin uçlarını oluşturan

oldukça yumuşak yapıdaki karbon formudur. Bu durumdan da açıkça anlaşıldığı üzere herbiri karbondan oluşan bu maddeler bağ yapılarından dolayı çok farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptirler. Grafen ise sahip olduğu eşsiz özellikleri nedeniyle yakın gelecekte tıp, rejeneratif tıp ve doku mühendisliğinde oldukça sağlam bir yer edineceğine inanılan, şimdiye kadar keşfedilen en güçlü özelliklere sahip karbon türevidir (Nurunnabi vd., 2015).

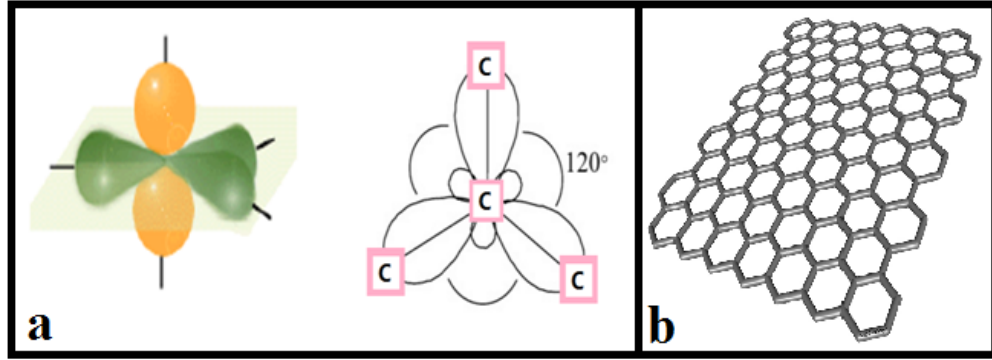


Şekil 13 : Farklı karbon formları.

Son on yılda gerçekleştirilen bir çok çalışma sonucunda grafen ve türevlerinin karbon nanotüplere kıyasla daha biyoyumlu olduğu ve hücrelerin migrasyon, adhezyon, proliferasyon gibi özellikleri üzerinde daha pozitif etkiler gösterdiği rapor edilmiştir. Bu nedenle son yıllarda biyomedikal uygulamalarda grafen ve türevlerinin kullanımı giderek artmaktadır (Hong vd., 2014; Sayyar vd., 2013).

1.7.2. Grafen, Grafen Türevleri ve Biyouyumluluğu

Grafen (G) karbon atomunun sp^2 hibritleşmesiyle oluşan benzen halka yapısına sahip 2 boyutlu, tek atom kalınlığında ki karbon formudur (Şekil 14).



Şekil 14 : Karbon atomu sp^2 hibritleşmesi (a) ve grafen molekül yapısı (b).

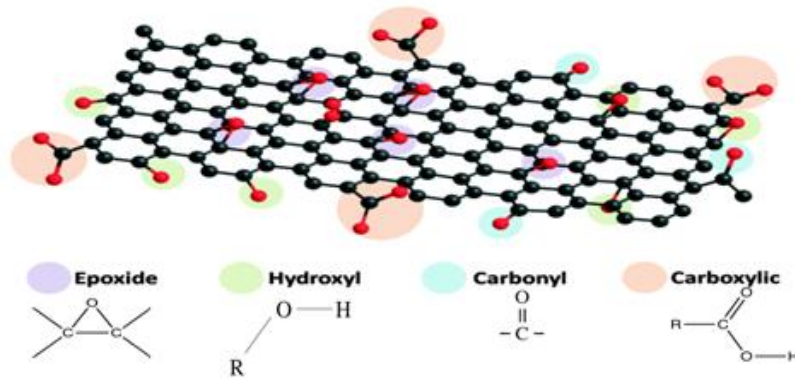
2004 yılında Andre Geim ve Kotsya Novoselov tarafından selo bant yardımıyla 3 boyutlu grafitten ayrıştırılan grafen (Geim ve Novoselov, 2007) nanoteknolojinin yükselen yıldızı olarak görülmektedir (R. G. Bai vd., 2018). Bu keşif Novoselov ve Geim'e 2010 Nobel Fizik Ödülü'nü kazandırmıştır. Sp^2 hibritleşmesi ile oluşan benzen halka yapısı grafen ve türevlerine biyouyumluluk, biyobozunurluk, kimyasal stabilite, yüksek elektriksel iletkenlik, termal iletkenlik, esneklik ve sağlamlık gibi sıradışı özellikler kazandırmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1 : Karbon türevleri ve fiziksel özellikleri (Tiyek vd., 2016).

Özellik/Karbon Türevi	Grafen	Karbon Nanotüp	Grafit	Fulleren
Yüzey Alanı (m^2/g)	2630	1315	10	5
Termal İletkenlik (W/mK)	5000	>3000 (MWCNTs)	3000	0,4
Mobilite (cm^2/Vs)	15000 SiO üzerinde 200.000 serbest halde	100000	13000	0,56
Young Modülü (TPa)	1	0,64	1,06	0,01
Optik Geçirgenlik (%)	97,7	-	-	-

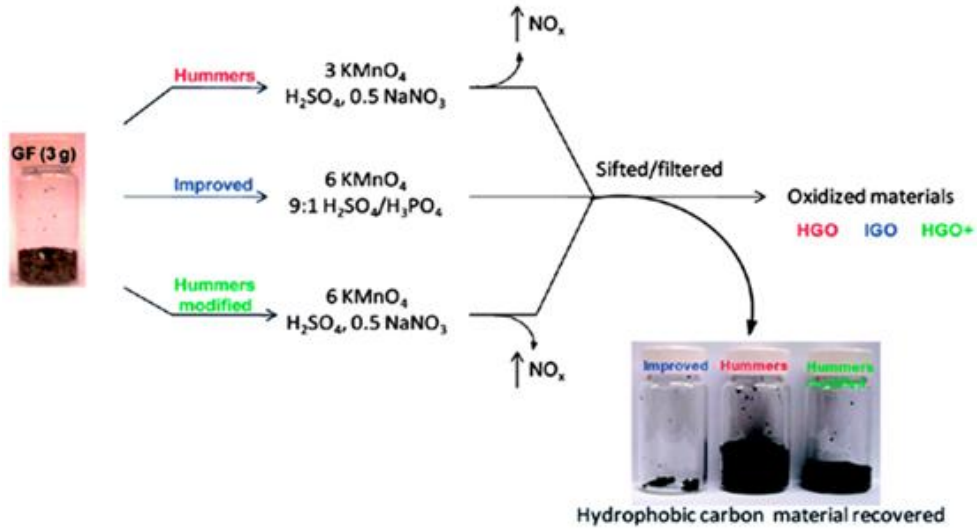
Bu özelliklerinin yanısıra grafen protein ve çeşitli moleküllerin yüksek emilimini sağlaması, kök hücre farklılaşması, hücre çoğalmasını desteklemesi ve hücre yapışması için uygun olması grafeni canlı vucudunda kullanılabilecek malzemeler arasında üst sıralara taşımaktadır. Kısacası bu yüksek yüzey alanlı, yüksek mekanik mukavemete sahip ve işlevsel kolaylığı olan süper iletken, süper esnek ve süper ince biyouyumlu karbon bazlı malzeme tıp, rejeneratif tıp ve kök hücre çalışmalarında kullanılabileceği düşünülen malzemeler arasında çoktan yerini almıştır (R. G. Bai vd., 2018; Bressan vd., 2014; Choi vd., 2010; Hong vd., 2014; Mena vd., 2015; Nurunnabi vd., 2015; Park vd., 2011; Ryoo vd., 2010; Tonelli vd., 2015).

Grafen; günümüze kadar keşfedilen materyaller içerisinde tek atom kalınlığına sahip olması nedeniyle en ince materyal olarak kabul edilmektedir (Gardin, Piattelli, ve Zavan, 2016; Geim ve Novoselov, 2007; Novoselov vd., 2004). Grafen; mekanik ayırma, metal ince filmler üzerinde buhar biriktirme, silikon karbid üzerinde epitaksiyel büyütme ve grafitten direkt mekanik ayırma gibi farklı metodlarla sentezlenebilmektedir (Nurunnabi vd., 2015). Bu yöntemleri kullanarak yüksek derecede kristalli grafen elde edildiği gözlemlenmesine rağmen bunlardan hiçbirinin endüstriyel üretim için uygun olmadığı fark edilmiştir (Choi vd., 2010; Marcano vd., 2010). Grafitin farklı yöntemlerle işlenmesi sonucunda tek katmanlı grafen, iki veya çok katmanlı grafen, grafen oksit (GO) ve indirgenmiş grafen oksit (rGO) gibi birçok farklı formda grafen türevi elde edilebilmektedir (R. G. Bai vd., 2018; Bressan vd., 2014; Mena vd., 2015). Grafen oksit yapısında bir dizi reaktif oksijen fonksiyonel grubu içeren grafen türevidir. İçerdiği oksijenli fonksiyonel grupları grafenin düzlemsel yapısına farklı grupların bağlanmasını kolaylaştırmaktadır (Şekil 15).



Şekil 15 : Grafen oksit moleküler yapısı ve üzerinde yer alan reaktif oksijen grupları.

Grafenin okside formu olan grafen oksidin keşfi ise 19.yy'a dayanmasına rağmen elektriksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri son 10 yıl da anlaşılabilmiştir. 19. yy'da grafitik asit adıyla bilinen bu bileşiğin Brodie tarafından hazırlanan kimyasal oksidasyon yöntemiyle sentezlendiği bildirilmiştir (Hummers Jr ve Offeman, 1958). Daha sonra 1957'de Hummers ve Offeman tarafından yeni ve daha güvenilir bir yöntem geliştirilmiş (Hummers Jr ve Offeman, 1958) ve bu method zamanla eklenen çeşitli modifikasyonlar ile düzenlenerek günümüze kadar gelmiştir (Şekil 16). Günümüzde grafen oksit deneysel çalışmalarda hala modifiye veya geliştirilmiş Hummers metodu ile sentezlenmektedir (Marcano vd., 2010). Ayrıca bu yöntem endüstriyel ölçekte grafen oksit üretimine de uygundur.



Şekil 16 : Grafen oksit kimyasal sentez metodları.

Literatürde yer alan çalışmalar grafen ve türevlerinin biyoyumlu, biyobozunur ve fizyolojik sıvılarda kimyasal stabilite gösterdiğini belirtmektedir (Bressan vd., 2014; Hong vd., 2014; Menaa vd., 2015; Park vd., 2011). Biyoyumluluk ve toksisiteyi belirlemeye yönelik yapılan çalışmalar, grafen ve türevleriyle desteklenmiş materyallerin sağlıklı memeli kök hücreleriyle sağlıklı ergin hücrelerde proliferasyon ve migrasyonu arttırarak hücresel gelişime ve farklılaşmaya destek olduğunu göstermiştir (Bressan vd., 2014; Hong vd., 2014; Menaa vd., 2015; Murray vd., 2015; Park vd., 2011; Pinto, Goncalves, ve Magalhães, 2013; S. Shah vd., 2014).

Daha spesifik olarak grafen ve türevleri doku iskelesi üretiminde, mekanik dayanım, hücreler için adeziv yüzey sunma ve düşük toksisite özellikleri ile tercih edilmektedir (Cao vd., 2017; Nanda vd., 2015; Ryoo vd., 2010; Tonelli vd., 2015). Bu nedenle grafen ve türevlerinin gelecekte biyoteknolojik ürünlerin temelini oluşturacağı üzerinde durulmaktadır (Gardin vd., 2016; Guo vd., 2016; Ryoo vd., 2010; Shreyas Shah, 2016).

Grafen oksit yüksek oranda alkol, karboksilik asit ve epoksi grubu içermesi nedeniyle grafen türevleri arasında biyomedikal uygulamalarda en çok tercih edileni olmuştur. Bu fonksiyonel gruplar grafen oksite yüksek biyoyumluluk, biyobozunurluk, birçok çözücüyü kapsayan geniş çözünürlük aralığı, protein gibi biyolojik molekülleri yüksek oranda adsorbe edebilme ve polimerler gibi materyallerle daha kolay fonksiyonelleştirme özellikleri sağlamaktadır (Hu vd., 2014; Yoon vd., 2011). Grafen ve türevlerinin biyomedikal uygulamaları arasında biyosensörler, ilaç ve gen dağıtımı, *in vivo* moleküler görüntüleme, kanser tedavisi (fototermal vd.) ve doku mühendisliği uygulamaları bulunmaktadır (Feng ve Liu, 2011; W. C. Lee vd., 2011; Zhang vd., 2014). Bu uygulama alanlarının her biri vücut sıvılarında hem fiziksel hemde kimyasal stabilite gerektirmektedir. Biyoyumluluk ve biyobozunurluk ise biyolojik sistemlerde ki bu tarz uygulamalarda büyük önem arz etmektedir. Grafen temelli biyomedikal uygulamalarda en çok dikkat edilmesi gereken konu grafen türevli malzemenin fiziksel özellikleri ve kullanım konsantrasyonudur. Yüksek dozda grafen türevlerinin kullanımı hücresel düzeyde apoptoz indüklemesi ve ROS türevlerinin oluşumu ile ciddi sitotoksositeye neden olabilmektedir (Feng ve Liu, 2011; Zhang vd., 2014). En son *in vitro* ve *in vivo* araştırmalara göre; grafen, grafen oksit ve türevlerinin biyoyumluluğunun diğer karbon formları gibi şekil, boyut, maruz kalma protokollerine ve uygulama dozuna bağlı olduğu tespit edilmiştir (R. G. Bai vd., 2018; Feng ve Liu, 2011; J.-H. Liu vd., 2015; Nurunnabi vd., 2015; Pinto vd., 2013; Zhang vd., 2014). Bu nedenle grafen, grafen oksit veya grafenin diğer türleri kullanılarak yapılacak her çalışma uyumluluk ve toksite açısından kendi içinde değerlendirilmeli ve sitotoksik oranları belirlenerek toksik olmayan konsantrasyonlarda kullanılmalıdır.

Wang ve ark., tarafından yürütülen bir çalışmada insan fibroblast hücrelerinde 20µg/ml'nin altındaki dozlarda GO uygulamasında toksik etki görülmezken 50µg/ml'nin üzerinde yüksek toksiste gözlenmediği bildirilmiştir (Wang vd., 2011). Bu ve benzeri çalışmalar grafen temelli uygulamalarda akut ve/veya kronik toksistenin uygun şekil, boyut, uygulama sıklığı ve en önemlisi de uygun konsantrasyonda GO kullanımı ile önlenebileceğini göstermektedir.

Biyouyumluluğunu arttırmak için grafen ve türevleri kollajen, hiyalüronik asit, kitosan, dekstran, ipek fibroin, polietilen glikol, poli (laktik asit), poli(vinil alkol), poli(üretan) ve poli(kaprolakton) gibi polimerler ve çeşitli proteinlerle modifiye edilmektedir (Hu vd., 2014). Bu modifikasyonlar sadece biyouyumluluğu arttırmakla kalmayıp aynı zamanda multifonksiyonel kompozit sistemlerin geliştirilmesine de olanak sağlamaktadır (Nurunnabi vd., 2015). Çeşitli polimerlerle fonksiyonel hale getirilmesi, doku mühendisliği çalışmalarında her geçen gün daha fazla ilgi çeken bu malzemeye doku iskelesi olarak işlenilebilirlik de kazandırmaktadır (Murray vd., 2015). Grafen ve türevleri farklı malzemelerle oluşturduğu kompozit yapılarda, malzemelerin uzun süreli ömrünü önemli ölçüde artırabilme yeteneğine sahip olmasının yanında hücresel büyüme ve aktiviteler üzerinde de pozitif rol oynamaktadır (Murray vd., 2015; S. Shah vd., 2014).

1.7.3. Grafen Oksit Temelli Doku İskeleleri

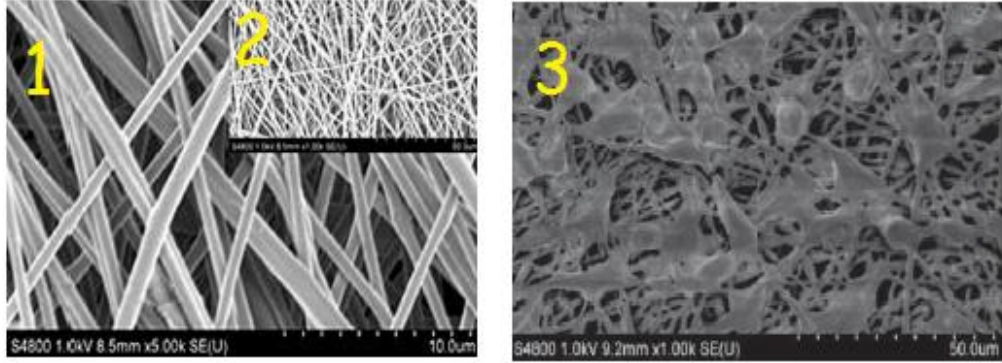
Bugüne kadar yapılan çalışmalarda grafen ve türevlerinin osteoblast, endotel hücre, fibroblast ve kök hücreler üzerindeki adezyonu ve büyümeyi artırıcı etkisi gösterilmiştir (Chung vd., 2013; Pinto vd., 2013). Grafen ve türevleri adheziv ve proliferatif etkileriyle yara iyileşmesi sürecinde inflamatuvar ve proliferatif fazları düzenlemekte, bu bölgeye hücre migrasyon ve adhezyonunu artırarak, hücre proliferasyonunu ve anjiyojenezi desteklemekte ve böylece yara iyileşme sürecinin hızlanmasını sağlamaktadır (Z. Li vd., 2015; Menaa vd., 2015; Ryoo vd., 2010). Ayrıca literatür verilerinde GO'in, antibakteriyel ve antifungal etkiler göstererek yara bölgesinin olası mikrobiyal enfeksiyonlardan korunmasını sağlayabildiği belirtilmektedir (R. G. Bai vd., 2018; Khan vd., 2015; Lu vd., 2012). Bu bilgiler doğrultusunda grafen temelli üç boyutlu doku iskelelerinin geliştirilmesi stratejik bir

yaklaşım oluşturmaktadır. Doku mühendisliği iskeleleri, grafen ve türevleri gibi nanopartiküllerle fonksiyonelleştirilerek iskelelerin yüzey özellikleri geliştirilmekte ve böylece elde edilen fonksiyonel yüzeyler, hücreleri biyolojik ve fiziksel yollarla uyarak gelişimlerine katkı sağlayabilmektedir (Yang vd., 2016).

Fonksiyonel grafen nanopartikül (FGN) temelli hibrid yapılar hücre dışı biyomoleküllerin, özellikle proteinlerin, adsorpsiyonunu arttırmaktadır. Böylece ekstrasellüler matriks (ESM) oluşumu hızlanmakta, fiziksel veya kimyasal uyarılarla birlikte hücrelerle etkileşerek kök hücre farklılaşması, proliferasyonu, hücrelerin fiziksel yerleşimleri ve topografik düzenlemeleriyle hücrelerel sinyalleri ve hücrelerin biyolojik performanslarını etkilemektedir (Cheng vd., 2017). Ayrıca bir çok çalışmada grafen türevlerinin yumuşak ve esnek doku iskelesi üretiminde kullanıma son derece uygun bir materyal olduğu ve kök hücrelerin, ortamda farklılaştırıcı unsurlar olmadığı durumlarda dahi, adipojenik, epitelyal ve osteojenik farklılaşmasını sağladığı rapor edilmiştir (R. G. Bai vd., 2018; Bressan vd., 2014; Cheng vd., 2017; Kim vd., 2013; Menaa vd., 2015; Shahnawaz Khan vd., 2015). Grafen ve türevlerinin, özellikle de grafen oksit, inflamatuvar ve proliferatif fazları epitelyal doku etkileşimleriyle düzenleyerek dermal hastalıklarda iyileşme sürecini hızlandırarak daha kısa sürede daha iyi sonuçlar alınmasını sağladığı bildirilmektedir (Zhou, 2013). Grafen oksit destekli doku iskelelerinin grafen oksit içermeyenlere kıyasla yaraların daha hızlı iyileşmesini sağladığı biyokimyasal, hematolojik ve histopatolojik çalışmalarla gösterilmiştir (R. G. Bai vd., 2018).

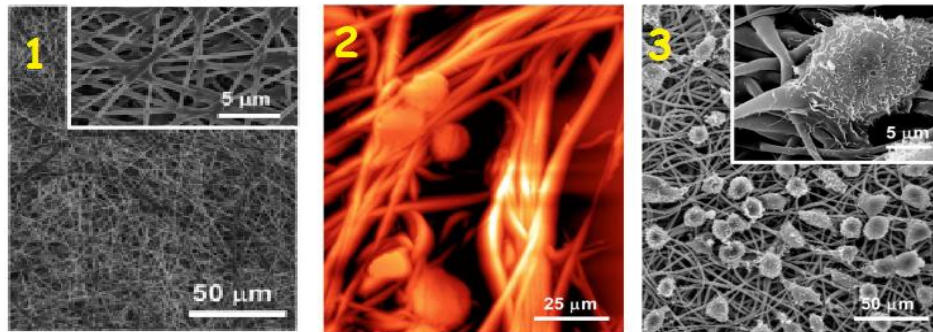
Zhan ve arkadaşları tarafından 2015 yılında yayınlanan bir çalışmada jelatin nanofiberlerin grafen oksit ile güçlendirilerek zayıf mekanik dayanım ve hızlı degradasyon özelliklerinin giderilebileceği üzerinde durulmuştur. Mekanik dayanımını arttırmak için sadece çapraz bağlanmış jelatin fiberlerin GO ile güçlendirilen çapraz bağlı jelatin fiberlerle kıyaslandığı çalışmada GO'nin fiberlere hidroliz direnci kazandırdığı, fiberlerin mekanik özelliklerinin iyileştiği ve biyouyumluluğunun arttığı bildirilmiştir. Hazırlanan jelatin-GO (Gel-GO) solüsyonunu elektro eğirme yöntemi ile doku iskelesi haline getiren Zhan ve ekibi elde ettikleri iskelelerin *in vitro* fibroblast hücre kültüründe hücre adhezyon ve proliferasyonunu önemli ölçüde uyardığını rapor etmiştir (Şekil 17). Çalışma sonuçlarının literatürde yer alan önceki çalışmalarla uygunluğuna dikkat çeken Zhan

ve arkadaşları uygun konsantrasyonda GO'in doku mühendisliği çalışmalarında ve doku iskelesi üretiminde kullanımının olumlu sonuçlar doğuracağını ifade etmiştir (Zhan vd., 2016).



Şekil 17 : Gel-GO nanofiber iskelelerin (1; 5000, 2; 1000) ve iskelelere ekilen L929 fibroblast hücrelerin 3 günlük kültür sonrası SEM görüntüsü (3).

Lee ve ekibi ise çift-elektro eğirme sistemi ile GO nanopartikül eklenmiş poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) ve kollajen(Col)'den çift katmanlı doku iskelesi (GO-PLGA/Col) ürettiklerini ve bu iskelelerin hem fizikokimyasal hemde biyolojik özelliklerini incelediklerini bildirmiştir (Şekil 18). Çalışmada hazırlanan GO-PLGA/Col hibrit iskelelerin yenidoğan dermisinden elde edilen insan dermal fibroblast hücrelerin gelişimini ve proliferasyonunu desteklediği belirtilmiş ve GO'in rejenerasyonu desteleyici olarak doku iskelesi üretiminde kullanılabileceği rapor edilmiştir (E. J. Lee vd., 2014).



Şekil 18 : GO-PLGA/Col hibrit iskele AFM (1), HDF hücrelerin iskeleye ekildikten 5 gün sonraki AFM (2) ve SEM (3) görüntüleri (Lee vd., 2014).

Mahmoudi ve Simchi tarafından rapor edilen bir çalışmada ise GO nanotabakalar ile güçlendirilmiş kitosan-poli(vinil pirolidon)-poli(etilen oksit) (CS:PVP:PEO ; 80:15:5) karışımı elektro eğirme yöntemi ile doku iskelesi haline getirilerek iskelelerin etkinliği sıçan mezankimal hücre (MSCs) kültüründe *in vitro* ve Sprague Dawley sıçan derisinde oluşturulan yara dokularında *in vivo* deneylerle takip edilmiştir. Mahmoudi ve Simci çalışma sonuçlarının doku mühendisliği açısından umut verici olduğunu vurgulayarak, GO nanotabakalarının iskelelerin mekanik özelliklerini geliştirdiğini, %1.5 GO konsantrasyonunda gelişmiş hücresel uyumluluk ve MSCs adhezyonunu arttırdığını ve *in vivo* hayvan modellerinde yara iyileşmesi sürecinin pozitif ilerleyerek doğal doku gelişiminin gözlemlendiğini bildirmiştir (Mahmoudi ve Simchi, 2017).

Song ve ekibi tarafından rapor edilen çalışmada PCL/GO kompozit doku iskeleleri elektro eğirme yöntemi ile hazırlanarak hücreler üzerinde ki etkileri *in vitro* incelenmiştir. Çalışma sonucunda GO'in ince fiberler halinde elde edilmesinin yüzey alanı/hacim oranını arttırdığı, iskelelerin mekanik özelliklerinin GO katkısı ile iyileştirdiği, hücre adhezyonu ve yayılmasının artarak hücrelerin normal morfolojilerinde gelişmelerinin desteklediği bildirmiştir (Song vd., 2015).

Bir diğer çalışmada ise grafen, grafen oksit ve türevlerinin hücrelerin adhezyon, proliferasyon ve gelişimleri üzerindeki olumlu etkilerinin onları doku iskelesi materyali olarak kullanıma uygun materyaller haline getirdiğini belirten Wan ve Chen çalışmalarında elektro eğirme yöntemiyle polikaprolakton (PCL) ve PCL/GO nanofibröz iskeleler üreterek bu iskelelerin morfolojik, mekanik ve biyoaktivite özelliklerini incelediklerini bildirmiştir. Wan ve Chen raporlarında karbon nanotüplere kıyasla grafenin yüksek performanslı nanofibröz elektro eğrilmiş iskelelerin üretimi için daha umut verici bir materyal olduğunu ve GO ile güçlendirilmiş membranların doku mühendisliği uygulamaları için büyük potansiyele sahip olduğunu önemle vurgulamıştır (Wan ve Chen, 2011).

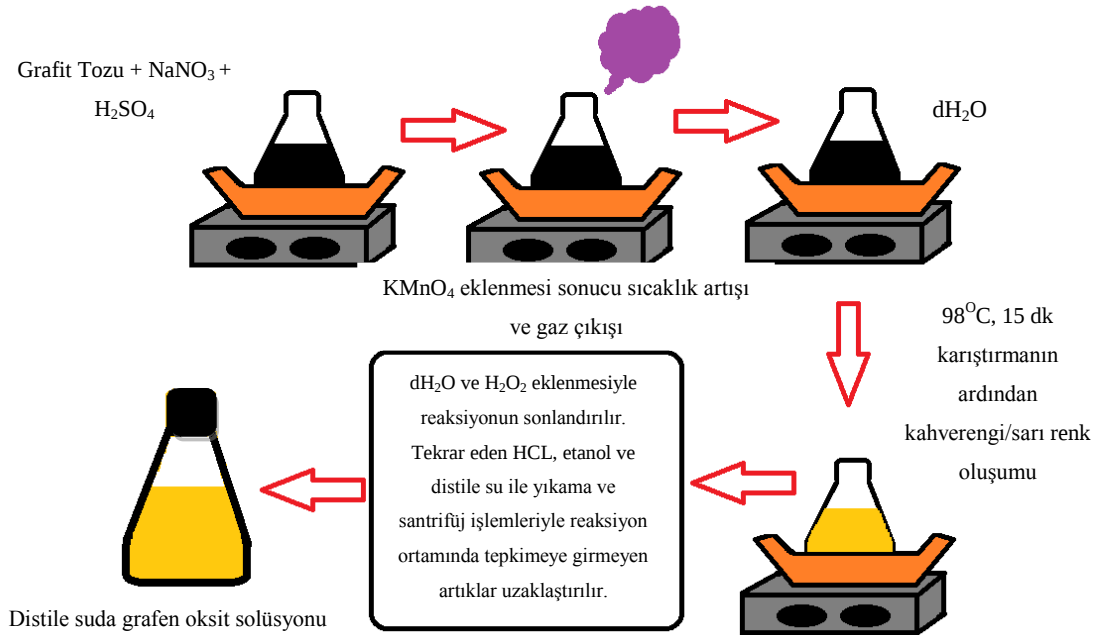
2. YÖNTEM

Bu tez çalışmasının amacı laboratuvarımızda sentezlenen grafen oksit (GO) nanopartiküllerin düşük molekül ağırlıklı poli(ε-kaprolakton) (L-PCL) ile belirli oranlarda karıştırılarak elektroegirme yöntemiyle kompozit doku iskelesi haline getirilmesi ve üretilen bu doku iskelelerinin karakterize edilmesidir. Bu amaçla yapılan işlemler sırasıyla;

- Modifiye Hummers' metodu ile Grafen oksit nanopartikül sentezi,
- Düşük molekül ağırlıklı PCL'den elektroegirmeye uygun konsantrasyonun belirlenmesi,
- Elektroegirme için uygun konsantrasyonda L-PCL solüsyonu ile 5 farklı grafen oksit konsantrasyonunda GO-PCL kompozitlerinin hazırlanması ve
- Kompozit çözeltilerden elektroegirme yöntemiyle doku iskelesi üretilmesi işlemleri gerçekleştirilmiştir.

2.1. Modifiye Hummer's Metodu İle Grafen Oksit Sentezi

Grafen oksit sentezi grafit tozundan modifiye Hummers metodu ile gerçekleştirilmiştir. Sentez sırasında çeker ocak ve buz banyosu kullanılmış, ayrıca ısı ve gaz çıkışlarına da dikkat edilmiştir.



Şekil 19 : Modifiye Hummers Metodu ile grafen oksit sentezinin şematik gösterimi.

Şekil 19'da şematik olarak özetlenen grafen oksit sentezi için sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulanmıştır;

- 1) Manyetik karıştırıcı üzerinde buz banyosu hazırlanarak içerisine 250 mL'lik flask yerleştirildi. Ardından 1 gr Grafit tozu 250 mL'lik flaskta alındı.
- 2) 0.5 gr NaNO_3 grafit tozuna eklenerek ve karıştırma işlemi başlatıldı.
- 3) 18M, 23 mL konsantre H_2SO_4 yavaşça toz karışıma eklenerek 30 dk sürekli karıştırma uygulandı. Homojen bir karışım elde edildi.
- 4) 3 gr KMnO_4 yavaş yavaş ve küçük parçalar halinde karışıma eklendi. Bu işlem sırasında sıcaklık artışına dikkat edilmeli ve sıcaklığın 10°C civarında kalmasına özen gösterilmelidir.
- 5) KMnO_4 eklenmesinin ardından reaksiyon sıcaklığının 35°C 'ye çıkmasına izin verilerek 30 dk sürekli karıştırma uygulandı.
- 6) Karıştırma işlemine devam edilirken 46 mL distile su yavaşça karışıma eklendi. Sıcaklığın 98°C 'de sabitlenmesi sağlanarak 15 dakika sürekli karıştırma uygulandı. Koyu kahverengi renk oluşumunun gözlemlenmesinin ardından karışıma 140 mL distile su ve %30'luk, 10 mL H_2O_2 eklenerek reaksiyon sonlandırıldı.
- 7) Reaksiyonun sonlandırılmasının ardından 15 dk sürekli karıştırma uygulandı. Daha sonra karışım 5000 rpm'de 5 dk santrifüjlendi. Sıvı kısım uzaklaştırılarak pellet yıkama işlemine tabi tutuldu.
- 8) Katı materyal sırasıyla 3'er kez %5'lik HCl, etanol ve distile su ile yıkandı. Her bir basamağın ardından karışım 5000 rpm'de 5 dk santrifüjlenerek süpernatant uzaklaştırıldı.
- 9) Yıkama işlemlerinin ardından 60°C 'de 24 saat vakum kurutma uygulanarak grafen oksit numunesi toz haline getirildi (Hummers Jr ve Offeman, 1958; Marcano vd., 2010).

Sentez işleminin ardından elde edilen toz materyal FT-IR ile karakterize edilmiştir. Detaylı bilgi sonuçlar kısmında yer almaktadır.

2.2. Poli(ε-Kaprolakton) Solüsyonunun Hazırlanması

Düşük molekül ağırlıklı poli(ε-kaprolakton) (L-PCL) ($M_w=60000$) Hubei Rison Chemicals (Wuhan-China)'dan ticari olarak temin edilmiştir. L-PCL solüsyonu hazırlamak için çözücü olarak dimetilformamid (DMF) kullanılmıştır. Elektroegirme işlemi için uygun PCL konsantrasyonunun belirlenebilmesi amacıyla ağırlıkça (w/v) %10, %15, %20, %25 ve %30'luk PCL çözeltileri aşağıdaki protokole göre ayrı ayrı hazırlanmıştır.

%10'luk 50 mL PCL/DMF çözeltisi hazırlanması;

1. 50 mL DMF erlene alınarak manyetik karıştırıcıya yerleştirildi.
2. DMF 500 rpm'de karıştırılmaya başlandı.
3. 5 gr PCL tartılarak karıştırma devam ediyorken, DMF'e küçük porsiyonlar halinde eklendi. L-PCL tanecikleri agregasyona eğilimli olduğu için polimerin çözücüye yavaşça eklenmesi gerekmektedir.
4. 65°C'de 2 saat sürekli karıştırma uygulanarak L-PCL'nin çözünmesi sağlandı.
5. 24 saat sürekli karıştırmanın ardından solüsyon 30 dk ultrasonikasyona tabi tutularak homojen bir çözelti elde edildi (Wan ve Chen, 2011).

Not: Her elektroegirme işlemi öncesi 30 dk sonikasyon uygulaması tekrar edilmiştir.

Ağırlıkça (w/v) %15, %20, %25 ve %30'luk PCL/DMF çözeltileri de aynı protokol izlenerek, artan L-PCL miktarlarıyla (sırasıyla 7.5, 10, 12.5, 15 gr) hazırlandı.

2.3. Elektroegirme İçin Uygun PCL Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Elektroegirme işlemi için uygun PCL konsantrasyonunun belirlenebilmesi amacıyla öncelikle %10'luk solüsyon hazırlanarak egirme işlemi uygulanmıştır. Egirme işleminde, elde edilen fiberlerde ve doku iskelelerinde sorunlar yaşanması sonucunda L-PCL konsantrasyonu önce %15'e, sonra sırasıyla %20,25 ve %30'a çıkartılmıştır.

2.4. Grafen Oksit-Poli(ϵ -Kapolakton) (GO-PCL) Kompozitinin Hazırlanması

Bu tez çalışması sırasında 6 farklı GO konsantrasyonunda doku iskelesi üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu konsantrasyonlar, mL başına GO miktarı baz alınarak, ağırlıkça (W_{GO}/V) %0, %0.0015, %0.006, %0.024, %0.06 ve %0.15 g/mL'dir (Tablo 2).

Tablo 2 : Doku iskelesi üretimi için hazırlanan GO-PCL solüsyonları

	Çözelti Hacmi	PCL (mg)	GO (mg)
0 Numaralı Solüsyon	50 mL	15.000	0
1 Numaralı Solüsyon	50 mL	15.000	0,75
2 Numaralı Solüsyon	50 mL	15.000	3
3 Numaralı Solüsyon	50 mL	15.000	12
4 Numaralı Solüsyon	50 mL	15.000	30
5 Numaralı Solüsyon	50 mL	15.000	75

1 Numaralı Solüsyon - 50 mL %30 PCL - %0.0015 wt GO Çözeltisi Hazırlanması;

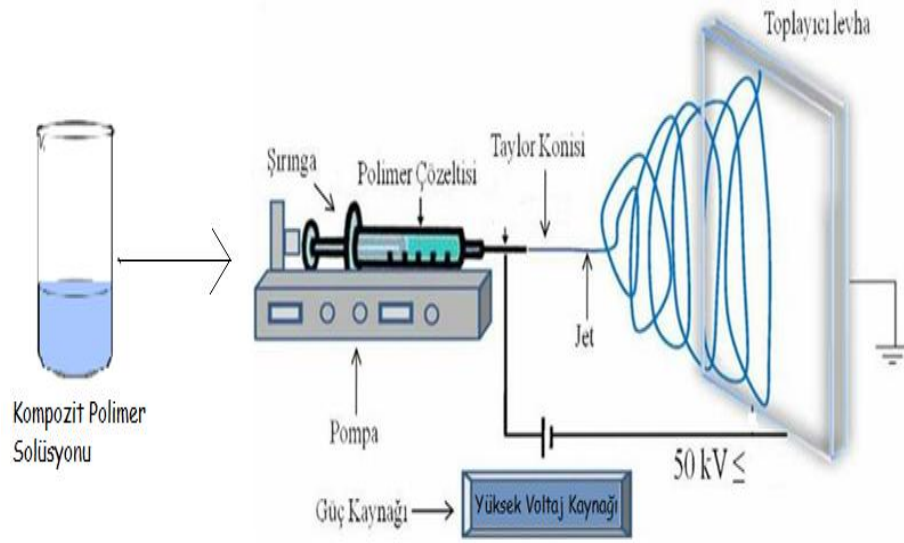
1. 0,75 mg GO tartılarak erlene alındı. Üzerine 50 mL %30'luk L-PCL çözeltisi eklenerek erlen manyetik karıştırıcıya yerleştirildi.
2. 55°C, 250 rpm'de 24 saat sürekli karıştırma uygulandı.
3. 24 saatin ardından homojen bir karışım elde edilebilmesi için çözeltiye 30 dk ultrasonikatörle sonikasyon uygulandı.

Not: Her üretim öncesi 30 dk ultrasonikasyon işlemi tekrar edildi.

2, 3, 4 ve 5 Numaralı solüsyonlar ise sırasıyla 3mg, 12mg, 30mg ve 75 mg GO ve 50 mL %30'luk L-PCL solüsyonu kullanılarak yukarıda yer alan protokole göre hazırlandı.

2.5. Elektroeğirme İle GO-PCL Kompozit Doku İskelesi Üretimi

Elektroeğirme yöntemiyle doku iskelesi üretimi için, şekil 20'de şematik olarak gösterilen, yüksek voltaj sağlayıcısı, otomatik pompa ünitesi ve toplama ünitesinden oluşan elektroeğirme cihazı kullanılmıştır. Doku iskelesi üretimi 16 kV ve 0.5, 0.7, 1, 1.5 ve 2 mL/h debilerinde gerçekleştirilmiştir. Üretim sırasında toplayıcı ünite ile enjektör ucu arasında 12 cm mesafe bırakılmıştır. Üretim sırasında standart 1 mL'lik enjektör ve sivri uçlu 26 gauge enjektör ucu kullanılmıştır. Üretimler 20 dk, 30 dk ve 1 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Üretilen doku iskeleleri FT-IR ile karakterize edilmiştir. Karakterizasyon sonuçları, sonuçlar ve tartışma kısımlarında yer almaktadır.



Şekil 20 : Elektroeğirme sisteminin ve bu yöntemle doku iskelesi üretiminin şematik gösterimi.

2.6. Vücut Sıvısı Benzeri Çözelti (SBF) Hazırlanması

Üretilen doku iskelelerinin dayanıklılığının ve biyolojik ortamlarda sergileyeceği davranışların tespit edilebilmesi için vücut sıvısı benzeri çözelti (simulated body fluid - SBF) hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin kan plazması ile benzer iyon derişimine sahip olması sağlanmıştır. SBF hazırlama işlemi aşağıdaki protokole göre gerçekleştirilmiştir;

1. 800 mL distile su 1 lt'lik cam şişeye alınarak manyetik karıştırıcıya yerleştirildi. 250 rpm'de karıştırma işlemine başlandı.
2. 6.621 g NaCl tartılarak distile suya eklendi. 15 dk karıştırma işleminin ardından diğer kimyasal karışıma eklenmek için hazırlandı.
3. Sırasıyla 2.2681 g NaHCO_3 , 0.2983 g KCl, 0.1360 g KH_2PO_4 , 0.3049 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.3675 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak karışıma eklendi.
4. Son olarak 0.0710 g Na_2SO_4 tartılarak karışıma eklendi.
5. SBF'nin pH'ı ölçülerek, pH değeri sabitleninceye dek karıştırma işlemine devam edildi.
6. Karışıma 200 mL distile su ilave edilerek son hacim 1 lt'ye tamamlandı. (Kokubo ve Takadama, 2006; Marques, Loebenberg, ve Almukainzi, 2011; Tas, 2000).

2.7. Çözünürlük Deneyleri

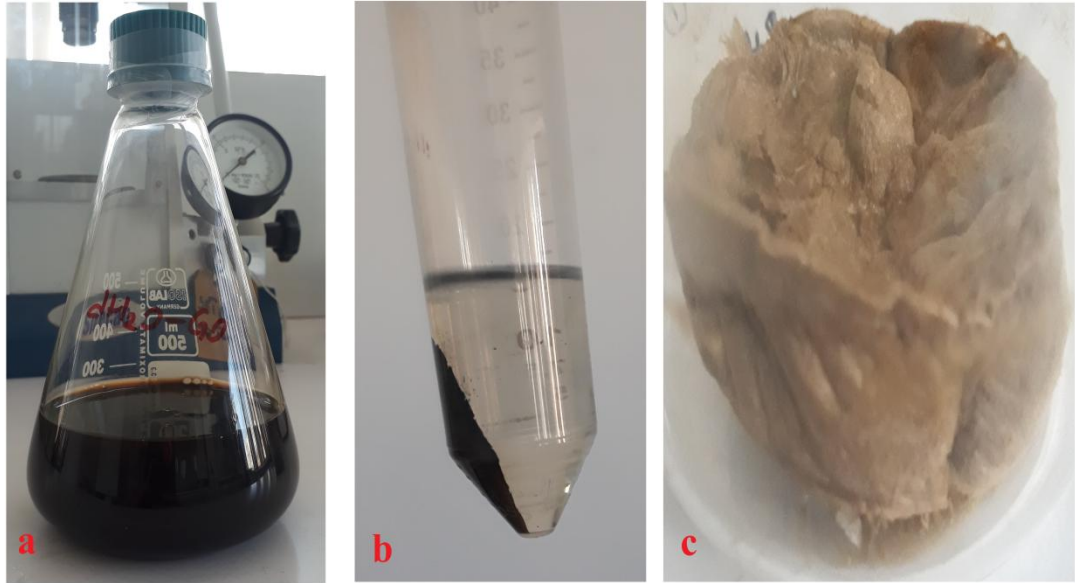
Elektroeğirme ile 1 saatlik üretim sonucunda elde edilen doku iskelelerinden 0.0153g'lık parçalar diseksiyon seti yardımıyla kesilerek 20 mL'lik şişelere alındı. Doku iskeleleri üzerine 3 mL SBF eklendi. İskeleler 7'şer günlük periyotlarla, 28 gün boyunca 37°C'de inkübe edildi. 7'şer günün ardından her seferinde SBF uzaklaştırılarak doku iskeleleri kurutularak tartıldı, ağırlıkları not edildi ve üzerlerine yeniden taze 3 mL SBF eklenerek 37°C'de inkubasyona devam edildi.

3. SONUÇ

3.1. Modifiye Hummer's Metodu Kullanılarak Sentezlenen Grafen Oksitin FT-IR İle Karakterizasyonu

Deneysel çalışmaların ilk adımı olarak modifiye Hummer's metodu ile GO sentezi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen GO, yıkama işlemlerinin ardından 250 mL distile su içerisinde çözündürülerek stoklanmıştır. GO numunesinin distile su içerisinde stabil bir dağılım gösterdiği tespit edilmiş, 6 aylık takip sonucunda solüsyonda çökme gözlemlenmemiştir.

Sentez işleminin ardından, iki ayrı seferde olmak üzere, numunenin 50 mL'si karakterizasyon testlerinde ve doku iskelesi üretiminde kullanılabilmek amacıyla vakum kurutma ile kurutularak toz haline getirilmiştir. Vakum kurutma işlemleri sonucunda 50 mL'lik GO solüsyonlarından 0.18 ve 0.19 g kuru GO numuneleri elde edilmiştir (Şekil 21).

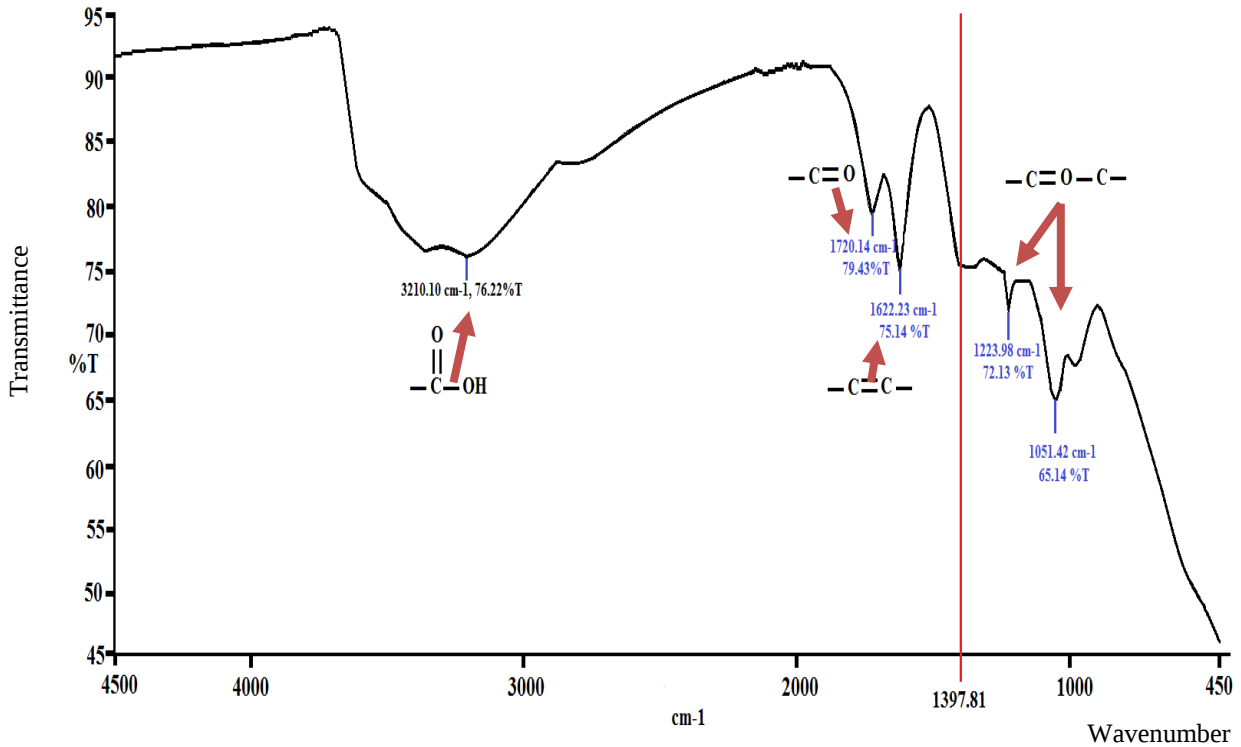


Şekil 21 : Sentez sonucunda elde edilen GO numunelerinin distile su içinde (a), santrifüj sonucunda falkonda (b) ve vakum kurutma sonucunda toz halinde ki fotoğrafları.

GO numunesinin karakterizasyonu FT-IR (Shimadzu prestige 2100) analizi ile yapılmıştır.

FT-IR analizi oda sıcaklığında, $450\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ aralığında gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda 3600 cm^{-1} civarında ve 3210 cm^{-1} 'de hidroksil grubu (-OH) gerilmesi, 1720 cm^{-1} 'de aldehit grubu ve/veya karbonil grubu gerilmeleri (-C=O), 1622 cm^{-1} 'de aromatik halkalardan kaynaklanan C=C grubu gerilmeleri, 1223 cm^{-1} ve 1053 cm^{-1} 'de epoksi grubu (-C-O-C-) gerilmeleri tespit edilmiştir. Bu pikler GO parmak izi pikleridir (Marcano vd., 2010; Țucureanu, Matei, ve Avram, 2016).

Şekil 22'de analiz sonucunda elde edilen GO pikleri görülmektedir. Tablo 3'de detaylı olarak açıklandığı üzere analiz sonucunda elde edilen piklerin literatürde belirtilen GO'e ait karakterize piklerle örtüştüğü ve sentez işleminin başarıyla gerçekleştirildiği tespit edilmiştir.



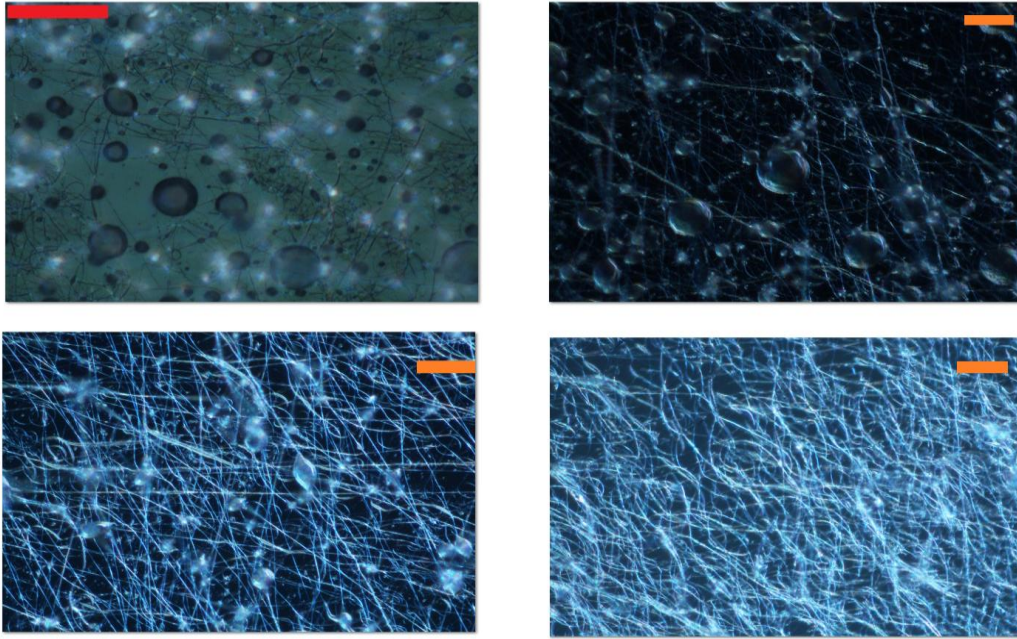
Şekil 22 : GO FT-IR Analizi sonucunda elde edilen grafik.

Tablo 3 : GO parmak izi pikleri ve açıklamaları

Elde Edilen FT-IR Piki (cm⁻¹)	Açıklama
≈ 3600, ν (O-H)	C-OH grubundan hidroksil grubu (-OH) gerilmesi
3210, ν (O-H)	COOH grubundan hidroksil grubu (-OH) gerilmesi (3300-2500 aralığı)
1720, ν (C=O)	Aldehit grubu, -C=O gerilmesi Karbonil grubunun titreşim gerilimi
1622, ν (C=C)	C=C aromatik halka gerilmesi Oksidize olmayan sp ² C=C bağlarının gerilmeleri
1223, ν _{as} (-C-O-C-)	Epoksi grubu -C-O-C-gerilmesi (1230-1215 aralığı)
1051, ν (-C-O-C-)	Epoksi grubu -C-O-C-gerilmesi

3.2. Elektroeğirmeye Uygun PCL Konsantrasyonunun Tespit Edilmesi

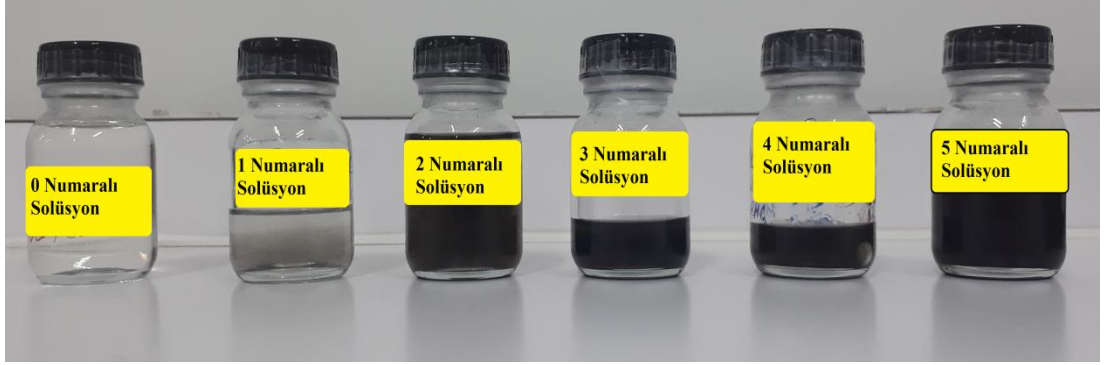
Grafen oksit sentezinin ardından ticari olarak temin edilen PCL polimerinin elektroeğirme işlemi için uygun konsantrasyonunun belirlenebilmesi amacıyla öncelikle %10'luk solüsyon hazırlanarak eğirme işlemi uygulanmıştır. Elektroeğirme işlemi sonrasında elde edilen doku iskelesi invert mikroskop ile incelenmiştir. Mikroskopla inceleme sırasında yüzeyde nanofiber yerine damlacık şeklinde kaplama yapıldığının tespit edilmesi sonucunda yoğunluğun artırılmasına karar verilmiştir. Yoğunluk artırma işlemi %5'lik artışlarla gerçekleştirilmiştir. Sırasıyla %15, %20 ve %25'lik PCL solüsyonları hazırlanarak bu solüsyonlarla elektroeğirme işlemi tekrarlanmıştır. Üretimlerin mikroskop incelemeleri sonucunda yoğunluğa bağlı olarak damlacık oranının azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 23). %30'luk PCL solüsyonu ile üretilen doku iskelelerinde ise damlacık oluşumunun neredeyse ortadan kaybolduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle elektroeğirme işlemi için en uygun PCL konsantrasyonunun %30 olduğuna karar verilmiştir.



Şekil 23 : Sol üstte %15'lik, sağ üstte %20'lik, sol altta %25'lik ve sağ altta %30'luk PCL çözeltilerinin elektro-eğirmesi sonucunda elde edilen doku iskelelerinin mikroskop görüntüleri yer almaktadır. Kırmızı ölçek çubuğu 500 μm 'yi, turuncu ölçek çubuğu ise 200 μm 'yi ifade etmektedir.

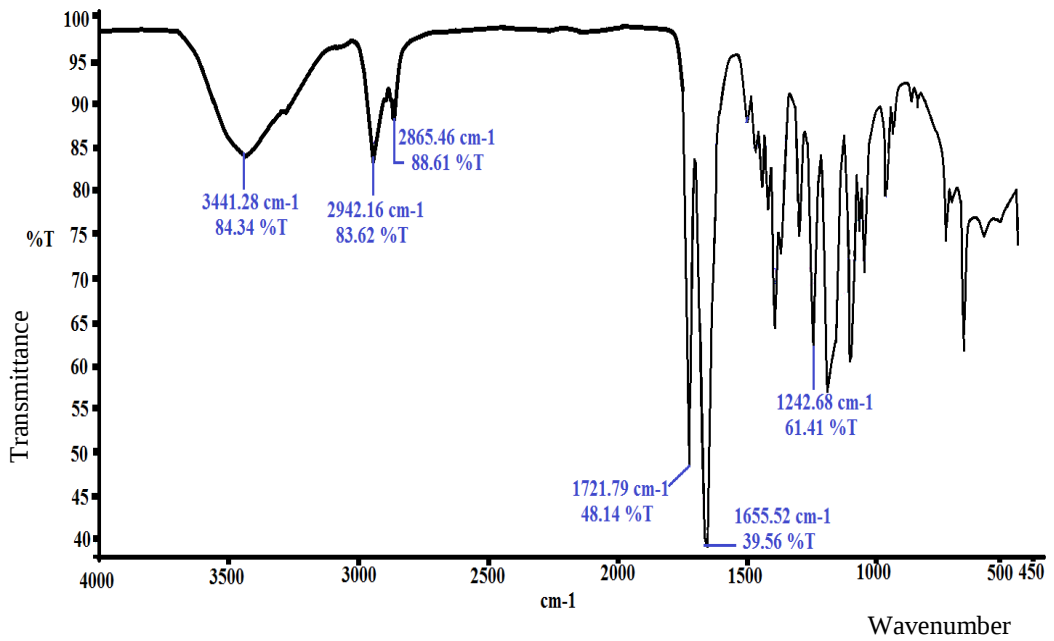
3.3. GO-PCL Karışımının Hazırlanması ve Kompozit Doku İskelesi Üretimi

Elektroegirme işlemi için uygun PCL konsantrasyonunun tespit edilmesinin ardından GO-PCL çözeltileri yöntem kısmında (başlık 2.4) açıklandığı şekilde hazırlanmıştır (Şekil 24).



Şekil 24 : Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan GO-PCL solüsyonları

GO-PCL karışımı ile hazırlanan kompozit doku iskelelerinin FT-IR analizleri sonucunda şekil 25'te görülen grafik elde edilmiştir. Tablo 4'te de detaylı olarak listelendiği üzere analiz sonucunda hem grafen oksit, hem de PCL'ye ait pikler tespit edilmiştir.



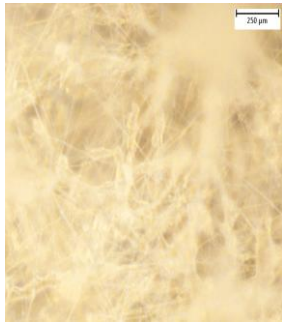
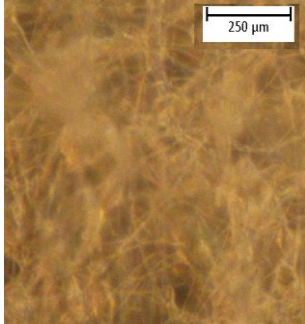
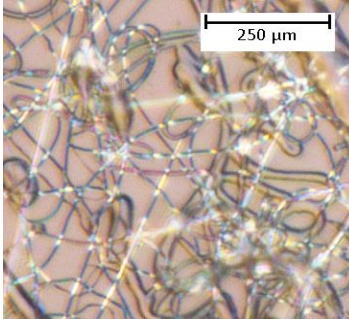
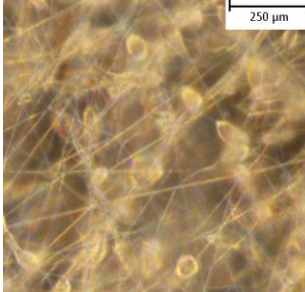
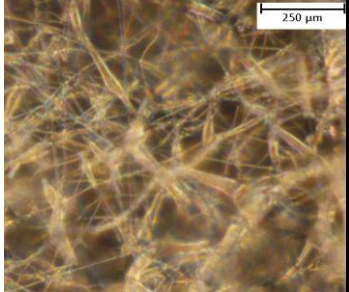
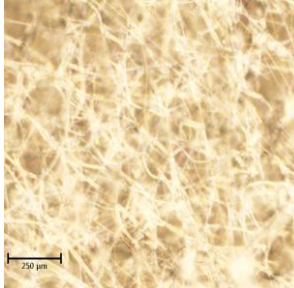
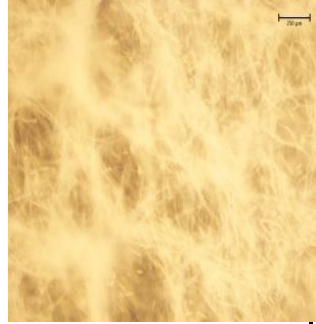
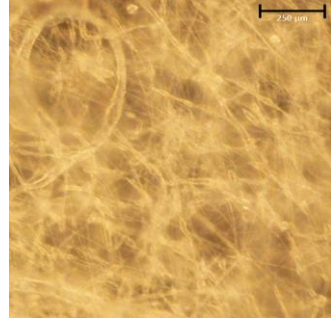
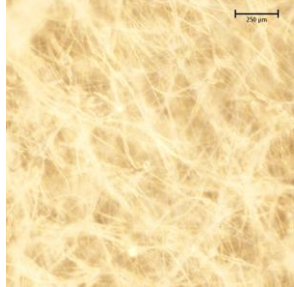
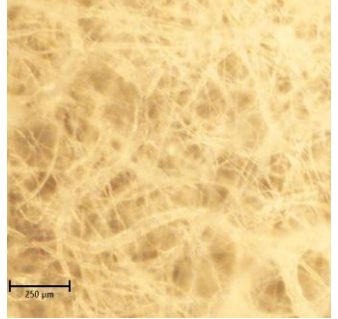
Şekil 25 : GO-PCL kompozit doku iskelesine ait FT-IR pikleri.

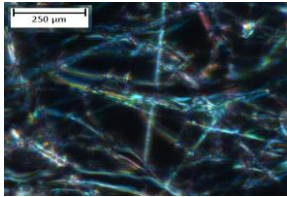
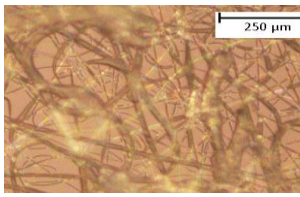
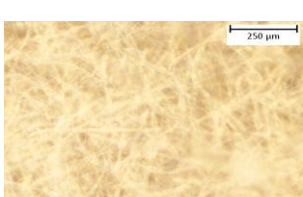
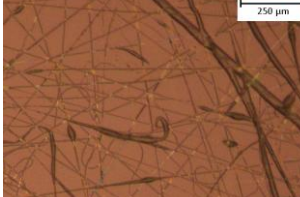
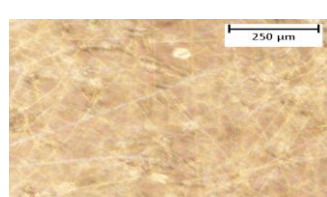
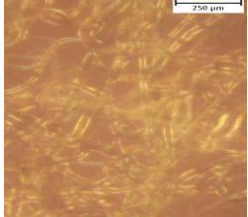
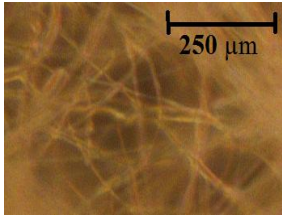
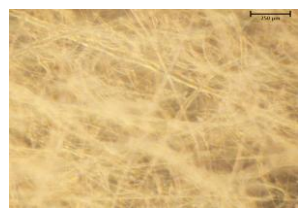
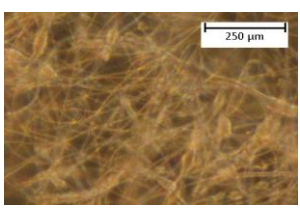
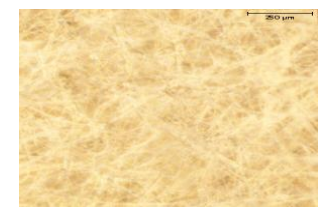
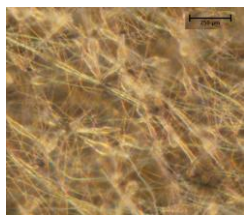
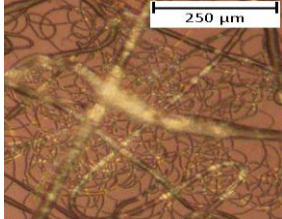
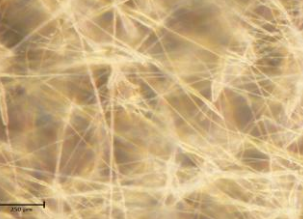
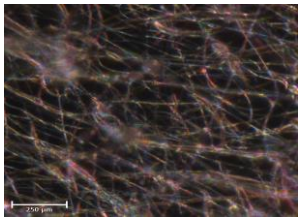
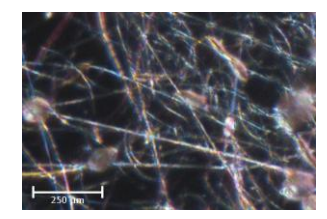
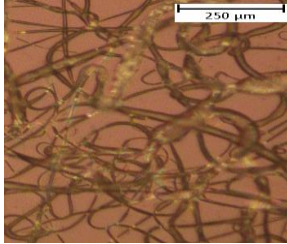
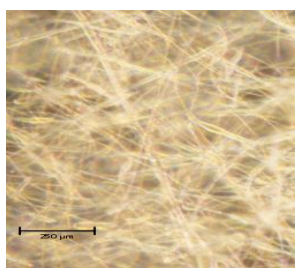
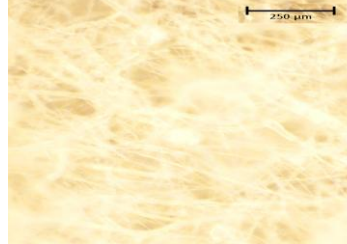
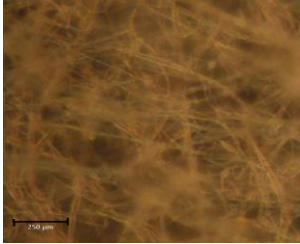
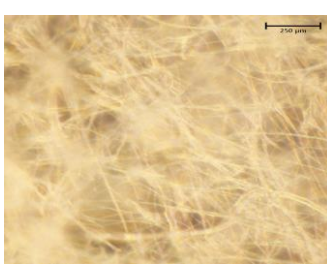
Tablo 4 : GO-PCL kompozit doku iskelesine ait FT-IR pikleri ve açıklamaları (Elzein, Nasser-Eddine, Delaite, Bistac, ve Dumas, 2004; Wan ve Chen, 2011).

Elde Edilen FT-IR Piki (cm^{-1})	Açıklama
≈ 3441 , ν (O-H)	Grafen oksitden kaynaklanan C-OH grubundan hidroksil grubu (-OH) gerilmesi
2942, ν (H-C-H)	PCL'ye ait asimetrik CH_2 gerilmesi
2865, ν (H-C-H)	PCL'ye ait simetrik CH_2 gerilmesi
≈ 1720 , ν (C=O)	GO ve PCL'ye ait -C=O karbonil grubu gerilmesi PCL karbonil grupları ile GO hidrojen grupları arasındaki moleküller arası hidrojen bağlarından kaynaklanan karbonil titreşimini ifade etmektedir.
1656, ν (C=C)	Grafen oksite ait oksidize olmayan sp^2 C=C aromatik halka bağlarının gerilmesi
1496 ve 1470	PCL'ye ait alifatik CH_2 titreşimi
1294	PCL'ye ait kristal fazda C-O veya C-C gerilmesi
≈ 1242	PCL'ye ait asimetrik C-O-C gerilmesi
1223, ν_{as} (-C-O-C-) ve 1051, ν (-C-O-C-)	GO'in epoksi grubu -C-O-C-gerilmesi (1230-1215 aralığı)

Doku iskelesi üretimi süresince GO-PCL solüsyonlarına 55°C ve 250 rpm'de sürekli karıştırma uygulanmıştır. Zamanla solüsyonun yoğunlaştığı ve bu nedenle üretimin zorlaştığı tespit edilmiştir. Buharlaşmanın etkisiyle yoğunluğu artan solüsyonlarda üretim sırasında yer çekimi etkisiyle damlama ve eğirilememe gözlemlenmiştir. Bu durumlarda yeni solüsyon hazırlanmıştır. Üretim sırasında 1, 1.5 ve 2 mL/h debilerde diğerlerine kıyasla daha düzgün fiber oluşumu tespit edilmiştir. Tablo 5'te elde edilen doku iskelelerinin mikroskop görüntüleri yer almaktadır.

Tablo 5 : %30 PCL ve değişen konsantrasyonlarda GO ile hazırlanan kompozitlerden 1 saatlik elektroeğirme ile üretilen doku iskelelerinin mikroskop görüntüleri (Ölçek çizgileri 250 µm'yi ifade etmektedir).

		%30 PCL				
		0.5 mL/h	0.7 mL/h	1 mL/h	1.5 mL/h	2 mL/h
%0 wt GO	16 k V					
%0.0015 wt GO	16 k V					

%0.006 wt GO	16 k V					
%0.024 wt GO	16 k V					
%0.06 wt GO	16 k V					
%0.15 wt GO	16 k V					

3.4. SBF Hazırlanması ve Çözünürlük Deneyleri

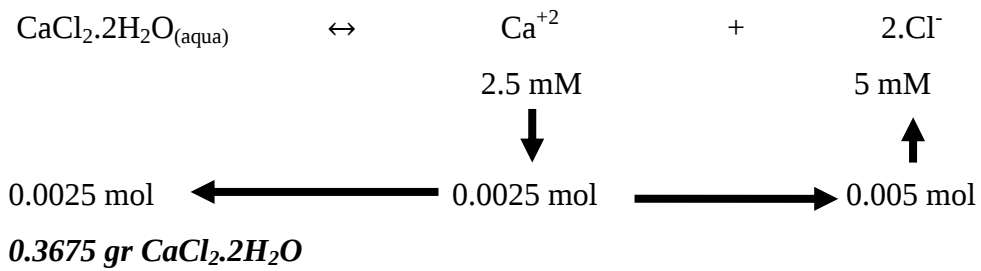
SBF hazırlanırken kan plazması ile benzer iyon derişimine sahip olmasına özen gösterilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6 : İnsan kan plazmasının ve hazırlanan SBF'nin iyon derişimleri

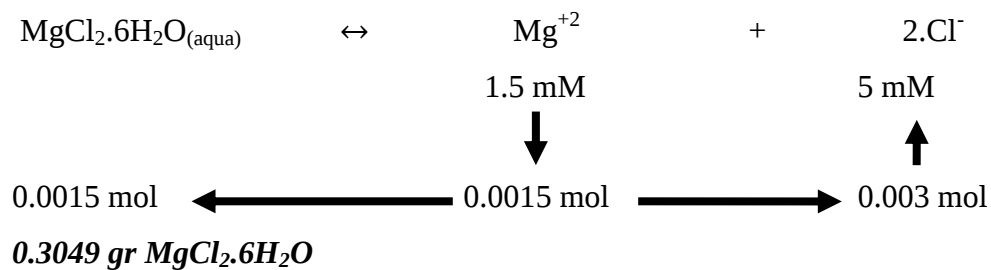
	İnsan Kan Plazması (mM)	SBF (mM)
$(\text{HCO}_3)^-$	27	27
K^+	5	5
Cl^-	103	126
Na^+	142	142
Ca^{+2}	2.5	2.5
Mg^{+2}	1.5	1.5
$(\text{HPO}_4)^{-2}$	1	1
$(\text{SO}_4)^{-2}$	0.5	0.5
pH	7.4	7.6

SBF protokü hazırlanırken, aşağıda yer alan denklemlere göre kimyasalların sıvı ortamda oluşturdukları iyonlara ait kimyasal tepkime formülleri çıkartılmış, bu formüllerden yola çıkılarak hangi kimyasaldan kaç gram kullanılması gerektiği belirlenmiştir. Hesaplamalar sırasında hacim 1 lt kabul edilmiştir.

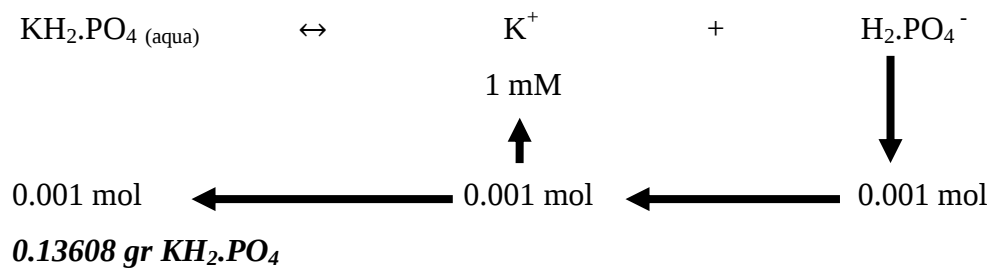
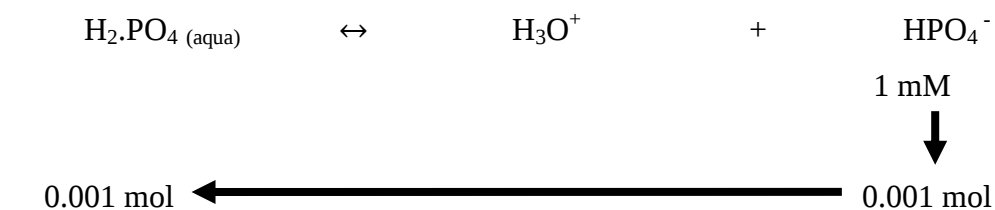
$$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 147.008 \text{ g/mol}$$



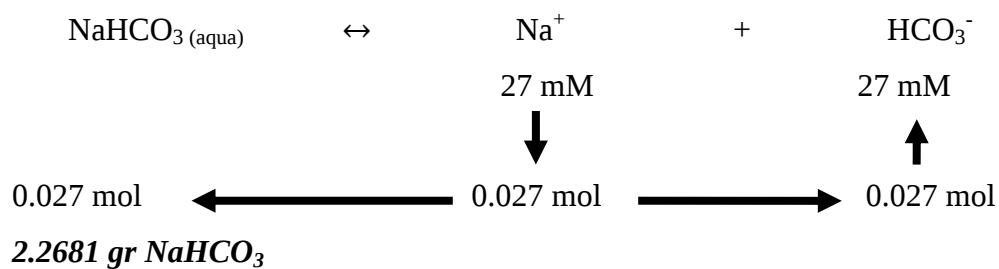
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 203.295 \text{ g/mol}$



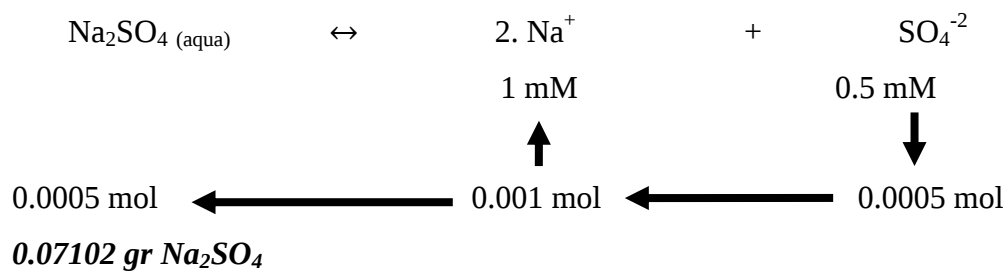
$\text{KH}_2\text{PO}_4 = 136.08 \text{ g/mol}$



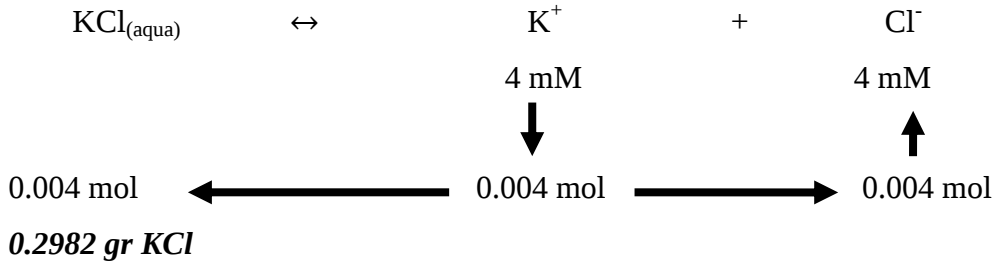
$\text{NaHCO}_3 = 84.07 \text{ g/mol}$



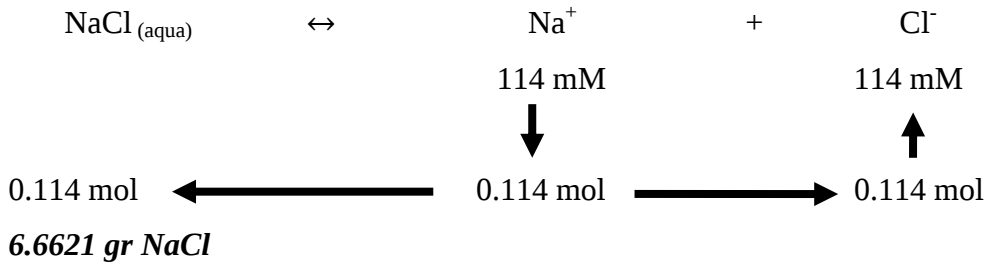
$\text{Na}_2\text{SO}_4 = 142.04 \text{ g/mol}$



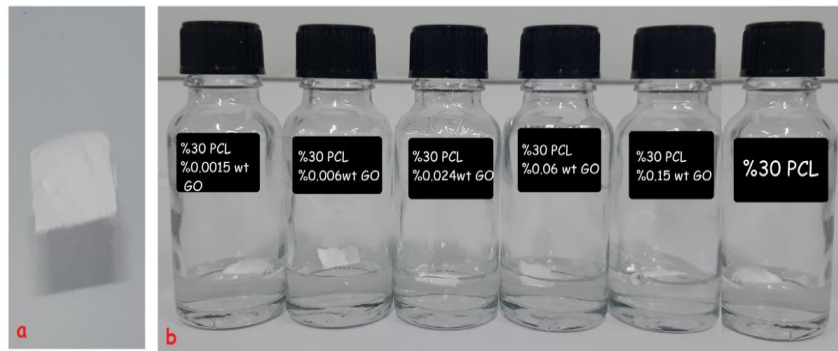
KCl = 74.55 g/mol



NaCl = 58.44 g/mol

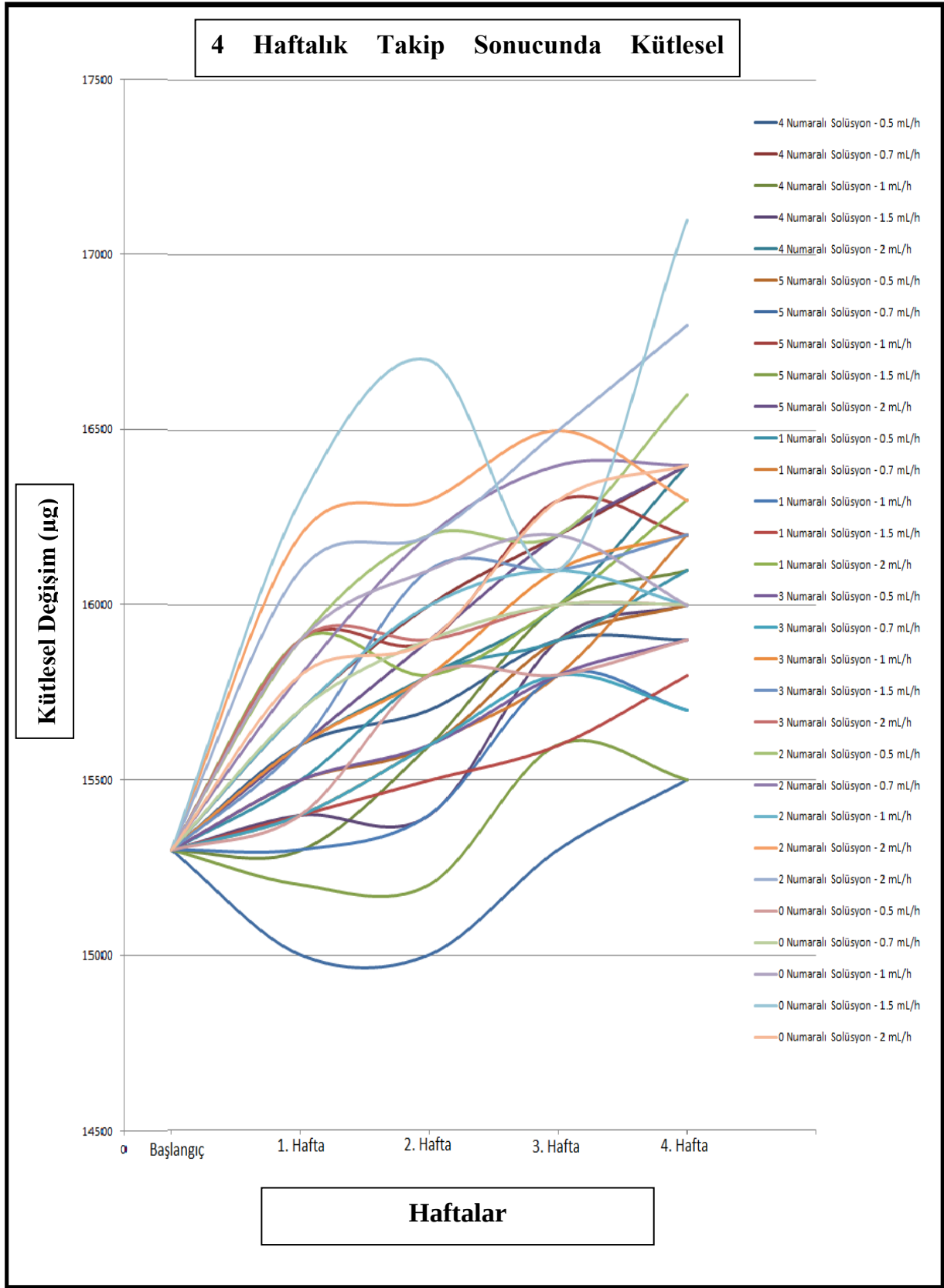


Yöntem kısmında detaylı olarak açıklandığı gibi 6 farklı GO konsantrasyonunda ve 5 farklı debide üretimi yapılan 30 farklı doku iskelesinden her biri Şekil 26'da görüldüğü gibi 0.0153 g'lık parçalar halinde 20 mL'lik numune şişelerine alınarak üzerlerine 3'er mL SBF eklenmiştir. Numunelerin ilk etapta SBF'nin yüzeyinde yüzer konumda durduğu gözlemlenmiştir. 24 saatin ardından doku iskelelerinin, üst kısımları yüzeye temas halinde tamamen SBF içine batarak askıda kaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 26 : Sağda (a) 0.0153 g'lık doku iskelesi, solda (b) SBF içindeki doku iskeleleri

Doku iskelelerinin 7'şer günlük periyotlarla 28 gün boyunca SBF ile inkübasyonu sonucunda ağırlıklarında ki değişim şekil 27 ve tablo 7'de görülmektedir.



Şekil 27 : Doku iskelelerinin SBF içinde 28 günlük takibinde kütle değişimleri.

Tablo 7 : Doku iskelelerinin 4 haftalık SBF deneyi sırasında kütleli değişimleri

Numune / Debi		Başlangıç (µg)	1. Hafta (µg)	2. Hafta (µg)	3. Hafta (µg)	4. Hafta (µg)
%0 wt GO	0.5 mL/h	15300	15800	15900	15800	15900
	0.7 mL/h		16300	16700	16000	16000
	1 mL/h		15900	16100	16200	16000
	1.5 mL/h		15700	15900	16100	17100
	2 mL/h		15400	15800	16300	16400
%0.0015 wt GO	0.5 mL/h		15500	15800	15900	16100
	0.7 mL/h		15400	15600	15800	16200
	1 mL/h		15300	15400	15800	15700
	1.5 mL/h		15400	15500	15600	15800
	2 mL/h		15900	15800	16000	16300
%0.006 wt GO	0.5 mL/h		15900	16200	16200	16600
	0.7 mL/h		15800	16200	16400	16400
	1 mL/h		15700	16000	16100	16000
	1.5 mL/h		16200	16300	16500	16300
	2 mL/h		16100	16200	16500	16800
%0.024 wt GO	0.5 mL/h		15500	15600	15800	15900
	0.7 mL/h		15400	15600	15800	15700
	1 mL/h		15600	15800	16100	16200
	1.5 mL/h		15600	16100	16100	16200
	2 mL/h		15900	15900	16000	16000
%0.06 wt GO	0.5 mL/h		15600	15700	15900	15900
	0.7 mL/h		15700	16000	16200	16400
	1 mL/h		15300	15600	16000	16100
	1.5 mL/h		15400	15400	15900	16000
	2 mL/h		15600	15800	16000	16400
%0.15 wt GO	0.5 mL/h		15500	15600	15900	16000
	0.7 mL/h		15000	15000	15300	15500
	1 mL/h		15900	15900	16300	16200
	1.5 mL/h		15200	15200	15600	15500
	2 mL/h		15600	15900	16200	16400

$$\text{Ortalama K t le Artışı} = \frac{\sum m_{son} - \sum m_{ilk}}{5}$$

$$\% \text{ Absorpsiyon} = \frac{m(\text{son}) - m(\text{ilk})}{m(\text{ilk})} \times 100$$

0 Numaralı solüsyon - %0 wt GO ;

GO içermeyen, sadece PCL'dan üretilen doku iskelelerinin SBF içinde 37 C'de 1 hafta inkübasyon sonucunda kütlelerinde ortalama 0.52 mg, 2 ve 3. haftaların sonunda ise 0.78 mg artış tespit edilmiştir. 4 hafta sonucunda tespit edilen toplam kütlesel artış miktarı ise 0.98 mg olarak belirlenmiştir (Tablo 8).

Tablo 8 : %0 wt GO içeren doku iskelelerinin SBF absorpsiyon oranları

Numune - Debi	Başlangıç (�g)	1. Hafta(�g)	% Abs.	2. Hafta(�g)	% Abs.	3. Hafta(�g)	% Abs.	4. Hafta(�g)	% Abs.
P13 - 0.5 mL/h	15300	15400	0,65	15800	3,26	15800	3,26	15900	3,92
P10 - 0.7 mL/h	15300	15700	2,61	15900	3,92	16000	4,57	16000	4,57
P7 - 1 mL/h	15300	15900	3,92	16100	5,22	16200	5,88	16000	4,57
P4 - 1.5 mL/h	15300	16300	6,53	16700	9,15	16100	5,22	17100	11,76
P1 - 2 mL/h	15300	15800	3,26	15900	3,92	16300	6,53	16400	7,18
Haftalık Ortalama K�t�le Artışı		15820	3,39	16080	5,09	16080	5,09	16280	6,4

1 Numaralı solüsyon - %0.0015 wt GO ;

%0.0015 GO ve %30 PCL içeren solüsyon kullanılarak üretilen doku iskelelerinin SBF içinde 37⁰C'de 1 hafta inkübasyon sonucunda kütlelerinde ortalama 0.02 mg, 2 haftanın sonunda 0.32 mg, 3. haftanın sonunda 0.52 mg, 4. haftanın sonunda ise 0.72 mg artış tespit edilmiştir. Bu durum doku iskelelerinin SBF absorbe ettiğini göstermektedir (Tablo 9).

Tablo 9 : %0.0015 wt GO içeren doku iskelelerinin SBF absorpsiyon oranları

Numune	Başlangıç (µg)	1. Hafta(µg)	% Abs.	2. Hafta(µg)	% Abs.	3. Hafta(µg)	% Abs.	4. Hafta(µg)	% Abs.
A12 - 0.5 mL/h	15300	15500	1,30	15800	3,26	15900	3,92	16100	5,22
A13 - 0.7 mL/h	15300	15400	0,65	15600	1,96	15800	3,26	16200	5,88
A14 - 1 mL/h	15300	15300	0	15400	0,65	15800	3,26	15700	2,61
A15 - 1.5 mL/h	15300	15400	0,65	15500	1,30	15600	1,96	15800	3,26
A16 - 2 mL/h	15300	15900	3,92	15800	3,26	16000	4,57	16300	6,53
Haftalık Ortalama Kütle Artışı		15500	1,30	15620	2,09	15820	3,39	16020	4,7

2 Numaralı solüsyon - %0.006 wt GO ;

%0.006 GO ve %30 PCL içeren solüsyon kullanılarak üretilen doku iskelelerinin SBF içinde 37°C'de 1 hafta inkübasyon sonucunda kütlelerinde ortalama 1.04 mg, 2 haftanın sonunda 0.94 mg, 3. haftanın sonunda 0.64 mg, 4. haftanın sonunda ise 1.12 mg artış tespit edilmiştir (Tablo 10).

Tablo 10 : %0.006 wt GO içeren doku iskelelerinin SBF absorpsiyon oranları

Numune	Başlangıç (µg)	1. Hafta(µg)	% Abs.	2. Hafta(µg)	% Abs.	3. Hafta(µg)	% Abs.	4. Hafta(µg)	% Abs.
A22 - 0.5 mL/h	15300	15900	3,92	16200	5,88	16200	5,88	16600	8,49
A23 - 0.7 mL/h	15300	15800	3,26	16200	5,88	16400	7,18	16400	7,18
A24 - 1 mL/h	15300	15700	2,61	16000	4,57	16100	5,22	16000	4,57
A25 - 1.5 mL/h	15300	16200	5,88	16300	6,53	16500	7,84	16300	6,53
A26 - 2 mL/h	15300	16100	5,22	16200	5,88	16500	7,84	16800	9,80
Haftalık Ortalama Kütle Artışı		15940	4,18	16180	5,75	16340	6,79	16420	7,31

3 Numaralı solüsyon - %0.024 wt GO ;

%0.024 GO ve %30 PCL içeren solüsyon kullanılarak üretilen doku iskelelerinin SBF içinde 37⁰C'de 1 haftalık inkübasyon sonucunda kütlelerinde ortalama 0.3 mg, 2 hafta sonunda 0.5 mg, 3. haftanın sonunda 0.66 mg, 4. haftanın sonunda ise 0.7 mg artış tespit edilmiştir (Tablo 11).

Tablo 11 : %0.024 wt GO içeren doku iskelelerinin SBF absorpsiyon oranları

Numune	Başlangıç (µg)	1. Hafta(µg)	% Abs.	2. Hafta(µg)	% Abs.	3. Hafta(µg)	% Abs.	4. Hafta(µg)	% Abs.
A17 - 0.5 mL/h	15300	15500	1,30	15600	1,96	15800	3,26	15900	3,92
A18 - 0.7 mL/h	15300	15400	0,65	15600	1,96	15800	3,26	15700	2,61
A19 - 1 mL/h	15300	15600	1,96	15800	3,26	16100	5,22	16200	5,88
A20 - 1.5 mL/h	15300	15600	1,96	16100	5,22	16100	5,22	16200	5,88
A21 - 2 mL/h	15300	15900	3,92	15900	3,92	16000	4,57	16000	4,57
Haftalık Ortalama Kütle Artışı		15600	1,96	15800	3,26	15960	4,31	16000	4,57

4 Numaralı solüsyon - %0.06 wt GO ;

%0.06 GO ve %30 PCL içeren solüsyon kullanılarak üretilen doku iskelelerinin SBF içinde 37°C'de 1 haftalık inkübasyon sonucunda kütlelerinde ortalama 0.22 mg, 2 hafta sonunda 0.4 mg, 3. haftanın sonunda 0.7 mg, 4. haftanın sonunda ise 0.86 mg artış tespit edilmiştir (Tablo 12).

Tablo 12 : %0.06 wt GO içeren doku iskelelerinin SBF absorpsiyon oranları

Numune	Başlangıç (µg)	1. Hafta(µg)	% Abs.	2. Hafta(µg)	% Abs.	3. Hafta(µg)	% Abs.	4. Hafta(µg)	% Abs.
A2 - 0.5 mL/h	15300	15600	1,96	15700	2,61	15900	3,92	15900	3,92
A3 - 0.7 mL/h	15300	15700	2,61	16000	4,57	16200	5,88	16400	7,18
A4 - 1 mL/h	15300	15300	0	15600	1,96	16000	4,57	16100	5,22
A5 - 1.5 mL/h	15300	15400	0,65	15400	0,65	15900	3,92	16000	4,57
A6 - 2 mL/h	15300	15600	1,96	15800	3,26	16000	4,57	16400	7,18
Haftalık Ortalama Kütle Artışı		15520	1,43	15700	2,61	16000	4,57	16160	5,61

5 Numaralı solüsyon - %0.15 wt GO ;

%0.024 GO ve %30 PCL içeren solüsyon kullanılarak üretilen doku iskelelerinin SBF içinde 37⁰C'de 1 haftalık inkübasyon sonucunda kütlelerinde ortalama 0.14 mg, 2 hafta sonunda 0.22 mg, 3. haftanın sonunda 0.56 mg, 4. haftanın sonunda ise 0.66 mg artış tespit edilmiştir (Tablo 13).

Tablo 13 : %0.15 wt GO içeren doku iskelelerinin SBF absorpsiyon oranları

Numune	Başlangıç (µg)	1. Hafta(µg)	% Abs.	2. Hafta(µg)	% Abs.	3. Hafta(µg)	% Abs.	4. Hafta(µg)	% Abs.
A7 - 0.5 mL/h	15300	15500	1,30	15600	1,96	15900	3,92	16000	4,57
A8 - 0.7 mL/h	15300	15000	-1,96	15000	-1,96	15300	0	15500	1,30
A9 - 1 mL/h	15300	15900	3,92	15900	3,92	16300	6,53	16200	5,88
A10 - 1.5 mL/h	15300	15200	-0,65	15200	-0,65	15600	1,96	15500	1,30
A11 - 2 mL/h	15300	15600	1,96	15900	3,92	16200	5,88	16600	8,49
Haftalık Ortalama Kütle Artışı		15440	0,91	15520	1,43	15860	3,66	159600	4,30

SBF deneyleri sonucunda GO içeren doku iskelelerinin kütlelerinde ki artış miktarının içermeyenlere oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla SBF absorpsiyonunun GO içeren doku iskelelerinde daha yüksek oranda gerçekleştiği sonucuna ulaşılmaktadır. 4 hafta sonunda en yüksek SBF absorpsiyonu 2 numaralı solüsyon ile üretilen doku iskelelerinde tespit edilmiştir.

4. TARTIŞMA

Moleküler yapısında yer alan alkol, karboksilik asit ve epoksi grupları sayesinde bir çok polimer ile kolaylıkla fonksiyonelleştirilebilen GO molekülleri, sağlıklı hücrelerin gelişimini desteklemeleri, kök hücre farklılaşmasında etkili olmaları ve rejeneratif etkileri nedeniyle doku iskelesi olarak kullanılmak üzere büyük potansiyele sahiptir. Bu nedenlerle çalışmamızda, nanoteknolojinin yükselen yıldızı olarak tanımlanan GO nanopartiküller kullanılmıştır. Ayrıca GO nanopartiküllerin polimerlerle birlikte kullanıldığı sistemlerde, GO polimerlerin dayanımını arttırırken polimer de GO'in biyoyumluluğunu arttırmaktadır. GO temelli doku iskelesi üretimini ve karakterizasyonunu yapmayı amaçlayan çalışmamız ileride gerçekleştirmeyi planladığımız *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar için bir ön çalışma niteliği taşımaktadır. Çalışmalarımızın nihai hedefi nanopartikül destekli doku iskelelerinin ürüne dönüştürülmesidir. Global yara örtü pazarı her geçen gün biraz daha büyümektedir. Bu pazarda ülkemizi temsil edecek yeni nesil nanopartikül destekli doku iskelelerinin yer alması yara örtüsü ithalatının azalıp, ihracatının artmasını sağlayarak ekonomiye de katkı sağlayacaktır.

Dahası çalışmamızda düşük molekül ağırlıklı PCL'dan doku iskelesi üretmek için uygun konsantrasyon ve üretim koşulları incelenmiş, üretilen doku iskelelerinin fizyolojik sıvıdaki davranışları tespit edilmiştir.

Tez çalışması temelde 4 adımda gerçekleştirilmiştir. Bu adımlar sırasıyla;

1. GO nanopartikül sentezi ve karakterizasyonu,
2. Elektroeğirmeye uygun L-PCL konsantrasyonu belirlenmesi,
3. GO-PCL kompozit doku iskelesi üretimi ve karakterizasyonu,
4. Doku iskelelerinin fizyolojik şartlarda davranışlarının incelenmesidir.

4.1. Grafen Oksit Nanopartikül Sentezi Ve Karakterizasyonu

Modifiye Hummers' metodu ile grafen oksit sentezi sırasında karşılaşılabilecek en büyük zorluk grafit+NaNO₃+H₂SO₄ karışımına KMnO₄ eklenmesi sırasında gerçekleşen yüksek sıcaklık artışı ve potansiyel patlama riskidir. Böyle bir problemin önlenmesi amacıyla sentez çalışması sırasında reaksiyon buz banyosuna yerleştirilen erlende gerçekleştirilmiştir. Sentez işleminin başarıyla gerçekleştiği sonuç kısmında FT-IR analiziyle gösterilmiştir.

4.2. Elektroeğirmeye Uygun L-PCL Konsantrasyonu Belirlenmesi

Literatür incelememizde PCL doku iskelelerinin molekül ağırlığı 80.000-120.000 civarında PCL'ler ile gerçekleştirildiğini görmüş bulunmaktayız. Bu molekül ağırlıklarına sahip PCL'lerden elektroeğirme ile doku iskelesi üretilebilmesi için konsantrasyonları %10-15 civarında PCL solüsyonları kullanıldığı bildirilmiştir. Biz çalışmamızda molekül ağırlığı 60.000 olan PCL kullanarak düşük molekül ağırlığının hem üretim parametrelerine hem de biyobozunum süresine etkisini inceledik. Solüsyon viskozitesi elektroeğirme işlemini etkileyen önemli parametrelerden biridir. Düşük molekül ağırlığı nedeniyle %10-25 konsantrasyon aralığında solüsyon viskozitelerinin de düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu durum üretimlerin başarısızlıkla sonuçlanmasına neden olmuştur. %10'luk PCL solüsyonu ile elektroeğirme esnasında damlamaların olması nedeniyle üretim gerçekleştirilememiştir. %15-25 konsantrasyon aralığında ise üretilen doku iskelelerinde fiber oluşumuyla beraber yoğun damlacık gözlemlenmesi bu konsantrasyonların da L-PCL'dan doku iskelesi üretimi için uygun olmadığını göstermektedir. Çalışmamız sonucunda L-PCL'den elektroeğirme yöntemiyle nanofibröz doku iskelesi üretimi için en düşük solüsyon konsantrasyonunun %30 olması gerektiğini tespit etmiş bulunmaktayız. Üretimler sonucunda %30'luk L-PCL konsantrasyonunda damlacık oluşumunun en aza indiği ve nanofiber üretiminin başarıyla gerçekleştiği 3. başlık altında yer alan sonuç kısmında mikroskop görüntüleriyle beraber detaylı olarak açıklanmıştır.

4.3. GO-PCL Kompozit Doku İskelesi Üretimi Ve Karakterizasyonu

Elektroeğirmeye uygun düşük moleköl ağırlıklı PCL konsantrasyonunun belirlenmesinin ardından kompozit doku iskelesi üretimi için 5 farklı GO konsantrasyonunda GO-PCL karışımı hazırlandı. GO konsantrasyonları literatürde yer alan GO'e ait toksisite sınırları göz önüne alınarak belirlenmiştir. Literatürde bildirilen solüsyon halinde ki saf GO için toksisite sınırı 50 µg/mL'dir. GO'in polimerlerle birlikte kullanıldığında daha yüksek konsantrasyonlarda da biyoyumlu olduğu yine literatürde bildirilmektedir. Çalışmamızda GO'i tek başına değil bir polimerle birlikte kullandığımız için en yüksek GO konsantrasyonunu (5 Numaralı Solüsyon - %0,15 wt GO) toksisite sınırının 30 kat üzerinde, 1500 µg/mL olarak belirledik. 4 numaralı solüsyonda GO konsantrasyonu 600 µg/mL, 3 numaralı solüsyonda 240 µg/mL, 2 numaralı solüsyonda 60 µg/mL ve son olarak en düşük GO konsantrasyonu olarak belirlediğimiz 1 numaralı solüsyonda 15 µg/mL'dir. Gelecekte gerçekleştirmeyi planladığımız çalışmalarımızda bu konsantrasyonlarda üretilen doku iskelelerinin in vitro kültürde hücrelere etkilerinin belirlenmesinde yer almaktadır. Bu sayede polimer ile birlikte kullanımın GO'in biyoyumluluğuna olan etkisini nicel verilerle elde etmeyi hedeflemekteyiz.

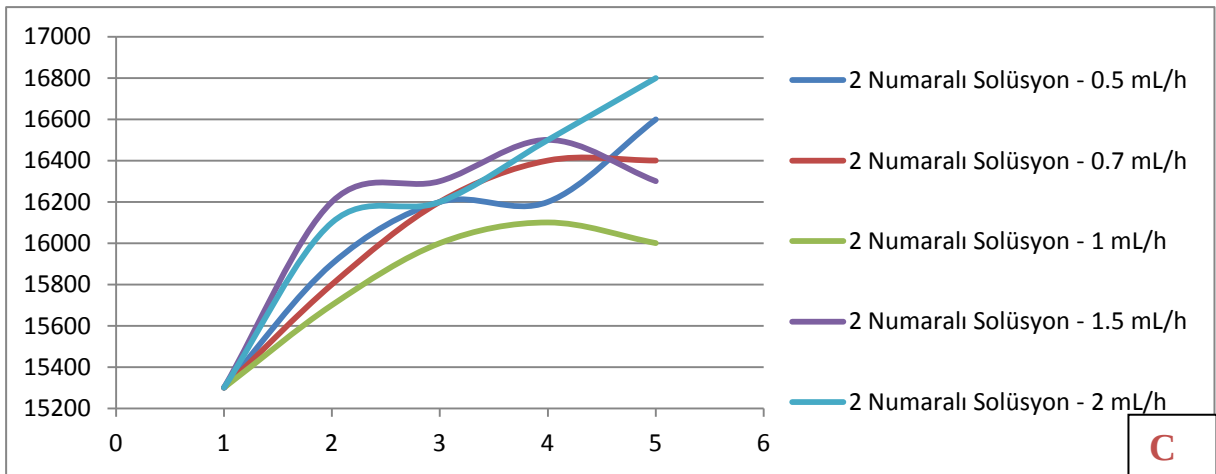
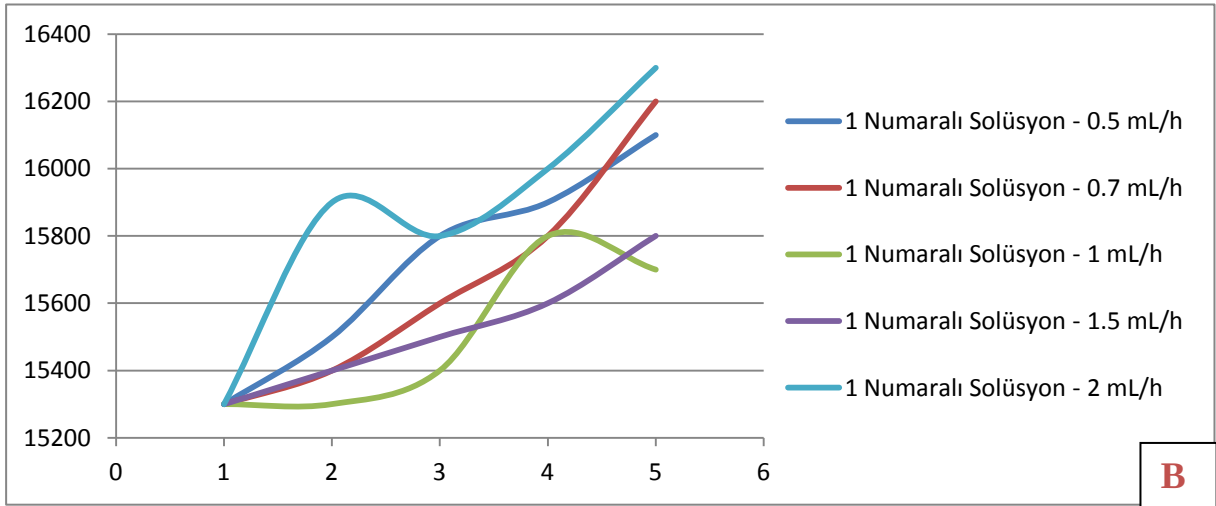
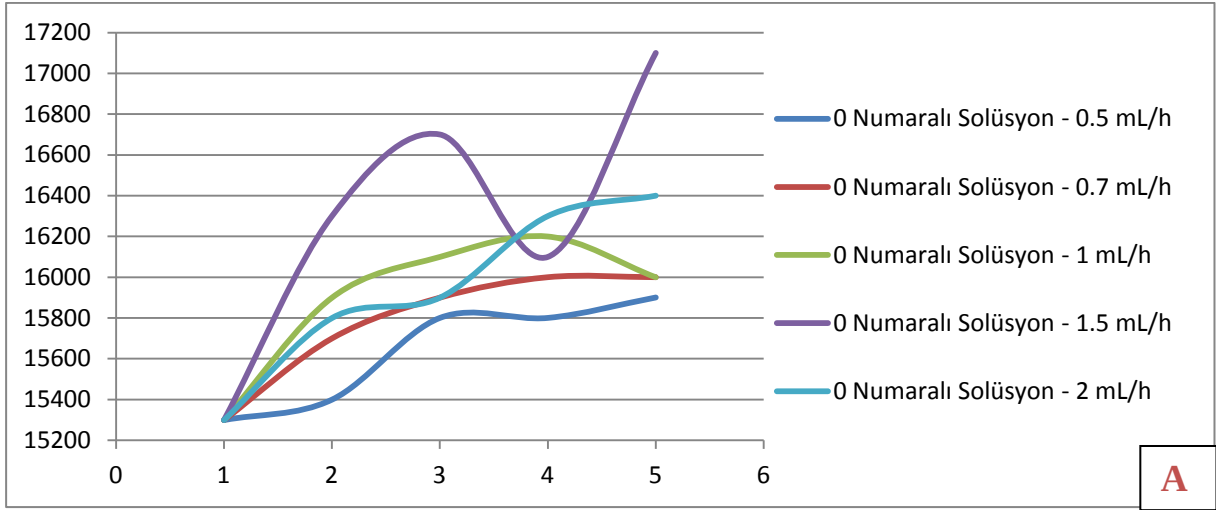
Çalışmamız sırasında GO ilavesinin polimer solüsyonunun yoğunluğunu arttırdığını gözlemledik. Bu nedenle 4 ve 5 numaralı solüsyonlar ile gerçekleştirilen üretimlerde diğer solüsyonlara kıyasla yüksek viskoziteye bağlı sorunlarla karşılaşıldı. Bu solüsyonlarla üretilen doku iskelelerinde yoğunluk nedeniyle düzenli akışın çok daha zor sağlandığı ve iskelede daha fazla damlacık oluştuğu gözlemlenmiştir. Elektroeğirme sırasında dikkat edilmesi gereken en önemli parametrenin konsantrasyon olduğu göz önüne alınırsa; yüksek GO konsantrasyonunun eğirmeyi olumsuz etkilediği sonucuna ulaşılabilmektedir.

Sonuçlarda belirtildiği gibi elektroeğirmeyle üretilen nanofibröz doku iskelelerinin FT-IR analiz sonuçları doku iskelelerinde GO nanopartiküllerin varlığını, dolayısıyla kompozit doku iskelesi elde edildiğini kanıtlamaktadır.

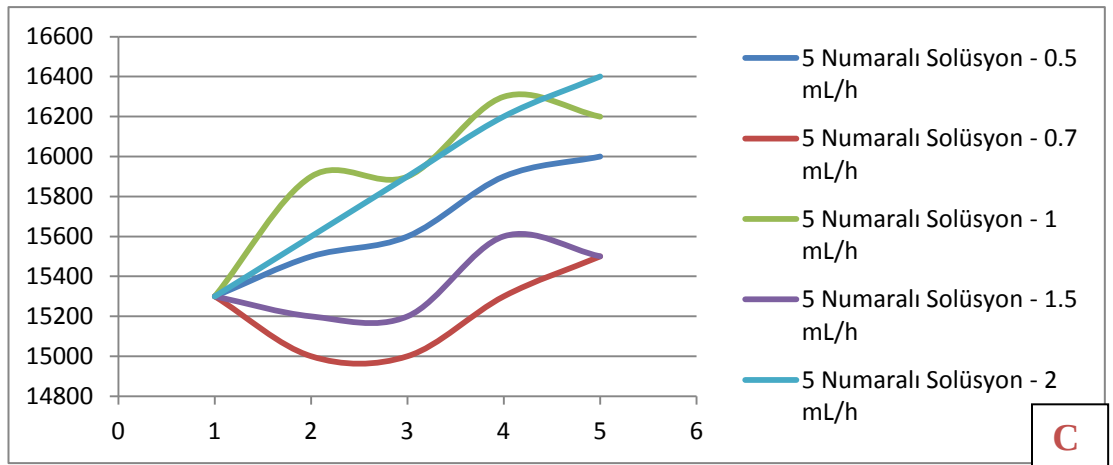
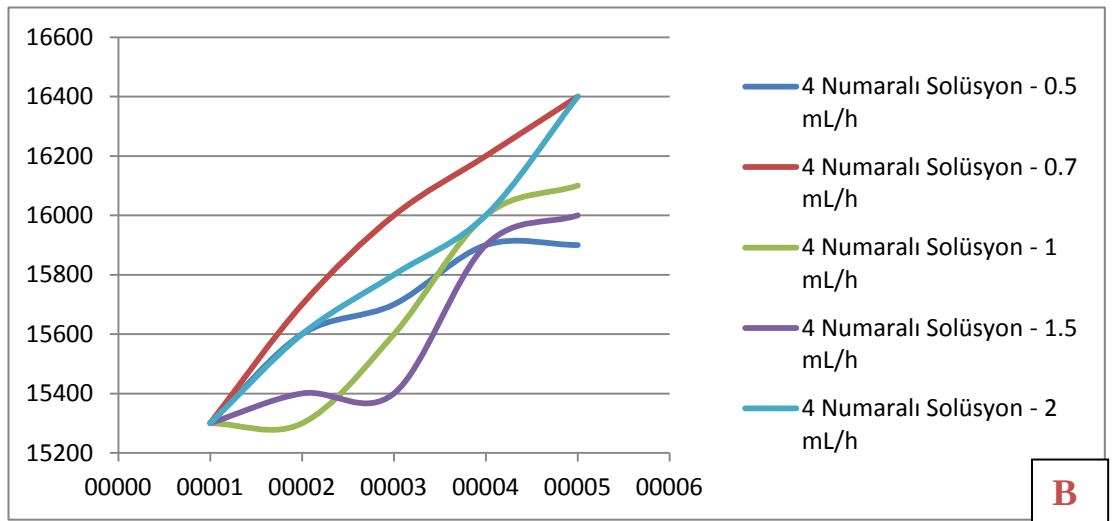
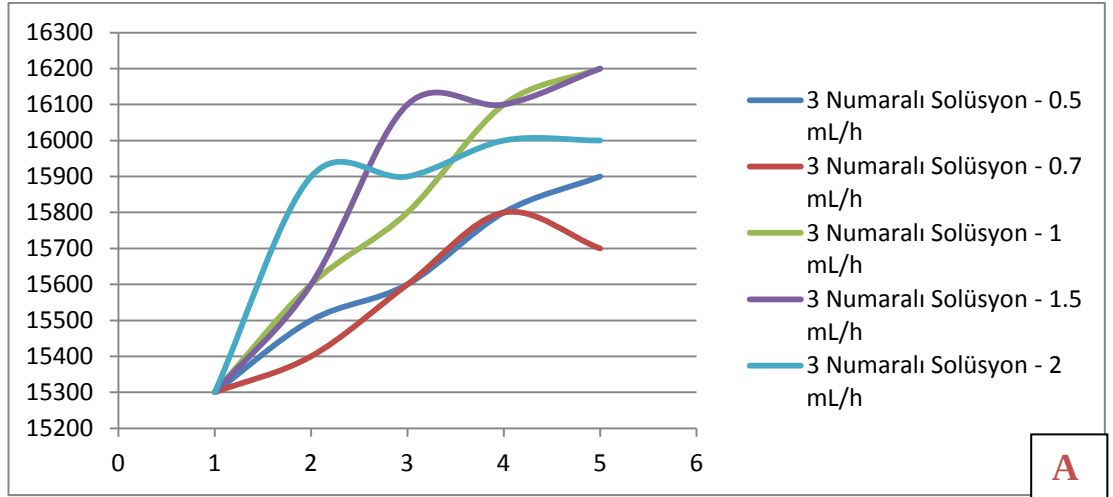
4.4. Doku İskelelerinin Fizyolojik Şartlarda Davranışlarının İncelenmesi

Polimerlerin molekül ağırlıklarının biyobozunum süreleri üzerinde etkili olması düşük molekül ağırlığının doku iskelesinin mekanik dayanımını olumsuz etkileyip etkilemeyeceği sorusunu akla getirmektedir. Bu nedenle çalışmamızda ürettiğimiz nanofibröz doku iskelelerinin fizyolojik şartlara dayanımını belirlemek amacıyla iskeleler 4 hafta boyunca vücut sıvısı benzeri çözeltide inkübe edilmiştir. SBF hazırlanırken çözeltide kullanılacak tuzların sulu ortamda iyonlaşma tepkimeleri çıkartılarak hesaplamalarda bu tepkimelerden faydalanıldı. Hesaplamalara sırasıyla Ca^{+2} , Mg^{+2} , $(\text{SO}_4)^{-2}$, $(\text{HCO}_3)^{-1}$ ve $(\text{HPO}_4)^{-2}$ iyonlarının kaynağı olacak olan tuzların molaritelerinin belirlenmesiyle başlanmıştır. Bu 5 iyon ayrı ayrı birer tuzdan sağlanacağı için bu iyonların kan plazmasında ki konsantrasyonlarına göre çözeltide kullanılması gereken tuz miktarı belirlenmiştir. K^{+1} iyonu iki farklı tuzdan (KCl ve KH_2PO_4), Na^{+1} iyonu üç farklı tuzdan (NaCl , NaHCO_3 ve NaSO_4) ve son olarak Cl^{-1} iyonu yine üç farklı tuzdan (NaCl , KCl , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) sağlanacağı için bu tuzların miktarları birbirlerine bağlı olarak ve diğer tuzlara göre hesaplanmıştır. Son durumda sonuç kısmında daha önce belirttiğimiz gibi literatüre uygun şekilde, kan plazması ile benzer iyon derişimine sahip bir çözelti elde edilmiştir.

Doku iskelelerinin fizyolojik ortama dayanımının belirlenebilmesi amacıyla kesilen 0,0153 gr doku iskelesi numuneleri şeffaf cam şişelere alınarak üzerlerinde 3'er mililitre SBF eklenmiştir. Bu işlem sırasında doku iskelelerinin ilk önce sıvı yüzeyinde yüzer konumda bulunduğu, 37°C 'de inkübasyon ile 24 saatin sonunda SBF içinde askıda kaldığı, yani ilk haline göre bir miktar dibe battığı gözlemlendi. Bu durum iskelelerin sıvı absorbe ederek ağırlaştığını göstermektedir. Çalışma süresince 7'şer günlük periyotlarla doku iskeleleri SBF'den çıkartılarak inkübatörde kurutulmuş, tartılmış ve yeniden numune şişelerine alınarak üzerine taze SBF eklenmiştir. Tartımlar sonucunda doku iskelelerinin kütlelerinde azalma yerine artış tespit edilmesi doku iskelelerinin sıvı absorpladığını kanıtlamaktadır. Bununla birlikte atık SBF'lerde bulanıklık ve oldukça ufak doku iskelesi parçacıkları da gözlemlenmiştir. Bu durum doku iskelelerinin kısa sürede dağılmayacak kadar dayanıklı olmasına rağmen zamanla biyobozunuma uğrayacağını göstermektedir.



Şekil 28 : Doku iskelelerinin SBF içerisinde inkübasyonları sonucunda kütleli değişimleri. A; 0, B; 1, C; 2, numaralı solüsyonla üretilen doku iskelelerine ait grafiği göstermektedir. Grafiklerde yatay eksenler haftaları, dikey eksenler ise µg cinsinden kütleli değişimleri ifade etmektedir.



Şekil 29 : Doku iskelelerinin SBF içerisinde inkübasyonları sonucunda kütesel değişimleri. A; 3, B; 4, C; 5, numaralı solüsyonla üretilen doku iskelelerine ait grafiği göstermektedir. Grafiklerde yatay eksenler haftaları, dikey eksenler ise µg cinsinden kütesel değişimleri ifade etmektedir.

4 haftalık takip sonucunda en yüksek SBF absorpsiyonun 2 numaralı solüsyon (%0,006 wt GO) ile hazırlanan doku iskelesi numunelerinde olduğu tartım sonuçlarıyla tespit edilmiştir. Genel olarak bakıldığında en düzenli kütleli değişim 1, 1.5 ve 2 mL/h debilerle üretilen doku iskelelerinde görülmektedir. Elektroegirme işleminin en önemli iki parametresi olan konsantrasyon ve debinin bu duruma neden olduğunu düşünmekteyiz.

ÖZGEÇMİŞ

RUMEYSA HİLAL ÇELİK

DOĞUM TARİHİ/YERİ : 17.08.1992 / Sivas

İLETİŞİM BİLGİLERİ :

Adres: Fındıklı Mah. Hancıoğlu Cd. Kale Apt. No : 113

A Blok Daire : 12 Maltepe/İstanbul

Gsm: 539 396 7695 **E-mail:** rhilalcelik.rhe@gmail.com



İŞ TECRÜBELERİ :

01.10.2017-19.04.2018 1512 Tübitak Desteği İle Kurulan Özel Firma - AR-GE Sorumlusu

EĞİTİM BİLGİLERİ :

2018-... *İstanbul Medeniyet Üniversitesi*

Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanobilim ve Nanomühendislik ABD.,
Yüksek Lisans Eğitimi

2016-2018 **Yıldız Teknik Üniversitesi**

Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik ABD., Yüksek Lisans Eğ.

2011-2016 **Yıldız Teknik Üniversitesi**

Kimya ve Metalürji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Lisans Eğ.

2006-2010 **Teb Ataşehir Lisesi** - Orta öğrenim

2002-2006 **Arif Paşa İlköğretim Okulu** - İlk ve orta öğrenim

1998-2002 **Celal Yardımcı İlköğretim Okulu** - İlköğrenim

Lisans ortalaması: 3.03 / 4 (Onur Öğrencisi)

İLGİ ALANLARI:

- Doku Mühendisliği
- Biyopolimerler ve Tıpta Uygulamaları
- Doku İskelesi - Hücre Etkileşimleri
- Grafen, Grafen Oksit ve Türevleri
- Nanopartiküller ve Sağlık Alanında Uygulamaları
- Polimer-Nanopartikül Kompozit Yapılar
- 3 Boyutlu Yazıcılar
- Elektrospin İle 3 Boyutlu Doku İskelesi Üretimi
- Hücre Kültür Uygulamaları
- Biyokonjugasyon Mekanizmaları
- Kanser ve Yeni Nesil Hedefli Tedavi Çalışmaları

YABANCI DİL:

• İngilizce: *Upper-Intermediate*

Konuşma: *Orta*, Yazma: *İyi*, Okuma: *İyi*, Anlama: *İyi*

SINAVLAR : ALES : 82,49 (2017 İlkbahar Dönemi - Sayısal)
YÖK-Dil : 76,25 (2017 İlkbahar Dönemi - Sağlık)

BİLGİSAYAR BİLGİLERİ :

- | | |
|--|----------------|
| • MS OFFİCE ; | • Matlab : İyi |
| - Microsoft Word: Çok iyi (<i>AKTİF</i>) | • Matcad : İyi |
| - Microsoft Power Point : Çok iyi (<i>AKTİF</i>) | • C/C++ : Orta |
| - Microsoft Excel: Çok iyi (<i>AKTİF</i>) | |

STAJ DENEYİMLERİ :

- **2016 Eylül-2017 Eylül : Yıldız Teknik Üniversitesi Hücre Kültür ve Doku Mühendisliği Laboratuvarı**

Yapılan İşlemler :

- Hücre Kültüründe Sterilizasyon Teknikleri
 - UV, Etil Alkol, dH₂O ve Otoklav ile Sterilizasyon
- Hücre Kültür Uygulamaları
 - Kriyobanktan hücre çıkarılması
 - Dondurulmuş hücrelerin çözülmesi ve kültürlenmesi
 - Kültürü yapılmış hücrelerin gelişiminin takibi
 - Hücre Pasajlanması
 - Hücre Sayımı
 - Hücrelerin kriyoprezervasyonu
- Hummers' Metodu İle Grafen Oksit Sentezi ve Karakterizasyonu
- Elektrospin ile Doku İskelesi Üretimi ve Karakterizasyonu
- Doku İskelesine Hücre Ekimi ve Kültürünün Yapılması

- **2015 Ocak-Şubat : *Diapro Tıbbi Ürünler San. ve Tic. A.Ş.***

Yapılan İşlemler :

- Laboratuvar Kalite - Kontrol Testleri
- Üretim Giriş/Çıkış Suyu İletkenlik ve pH Ölçümleri
- Yeni Gelen Ürün Kabul Kaydı
- Hammadde Sayımı, Sınıflandırılması ve Kabul Kaydı Oluşturma
- Üretim Planı Hazırlanması
- Üretim Emri Örneği Hazırlanması
- Temiz Alan Giriş/Çıkışları
- Seri Üretim Kaydı Oluşturulması
- Bitmiş Ürün Teslim Formu Oluşturulması
- Hammadde, Ara Ürün ve Bitmiş Ürün Kalite Kontrol Testleri
- Hammadde, Ara Ürün ve Bitmiş Ürün Sterilizasyon Testleri
- Yeni Ürün Sipariş Açma ve Gelen İrsaliye İşlemleri
- BCA (Blood Clot Activator) Hazırlama ve SS (Serum Seperate) Jel Tüp Dolum Prosesi
- Hatalı Ürün Sapma Formu Hazırlanması
- **Haemonetics Acp215** Cihaz Kurulumu ve Kan Hücresi Dondurma/Çözme İşlemleri
- Test Kartları Üretim İşlemleri (Gözlem)
- Yıkama Solüsyonları Üretim İşlemleri (Gözlem)

- **2014 Haziran-Temmuz :İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Laboratuvarı**

Yapılan İşlemler :

- Sterilizasyon
- DNA İzolasyonu - Kit Kullanarak ve Tuzla Çöktürme Yöntemi İle
- PCR
- Spektrofotometrik Ölçümler
- Agaroz Jel Hazırlama ve Dökme
- Jel Elektroforezi
- Hemoliz
- Ozmotik Frajilite Solüsyonu Hazırlama
- Kan Örneklerinden Froti Hazırlama ve Kan Hücre Sayımı
- Western Blot Jeli Hazırlama
- Western Blot

KULLANILAN CİHAZLAR :

- | | |
|--------------------------------------|------------------------|
| • Laminer Akışlı Biyogüvenlik Kabini | • Kağıt Kromatografisi |
| • Elektrospin | • UV-Spektrofotometre |
| • FT-IR | • Vizkozimetre |
| • Hücre Inkübatörü | • Santrifüj |
| • HPLC | |
| • Jel Elektroforez | |
| • Kolon Kromatografisi | |

SERTİFİKALAR

- 2016/2017- *Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi XVIII.Deney Hayvanı Kullanım Sertifikası*

Yapılan İşlemler/Tecrübe Edilen Teknikler:

- Hayvan Deneyleri Etiği ve Deney Hayvanında Anestezi Uygulamaları
- Deney Hayvanları Anatomisi, Fizyolojisi, Beslenme Şekilleri ve Hastalıkları
- Deney Hayvanlarında Tutuş Teknikleri/Uygulama (Fare, Sıçan ve Tavşan)
- Deney Hayvanlarına İlaç Verme Teknikleri/Enjeksiyon ve Oral Gavaj Uygulaması (Fare, Sıçan ve Tavşan)
- Deney Hayvanlarından Kan ve Vajinal Smear Örneği Alma/Uygulama (Fare ve Sıçan)

- 2018- *6th International BAU Drug Design Congress - Poster Sunumu*
- 2018- *BIOMED2018-TR, 23. Biyomedikal Bilim ve Teknoloji Sempozyumu, 15-16 Aralık 2018 - Poster Sunumu*
- 2012 - *Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya ve Metalurji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü Yıldız Biyomühendislik Günleri Katılım Sertifikası*
- 2013- *Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya ve Metalurji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü Yıldız Biyomühendislik Günleri Katılım Sertifikası*
- 2013- *BIOTECH/ Yeditepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Biyoteknoloji Topluluğu Öğrenci Kongresi Katılım Sertifikası*

- 2014- *Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya ve Metalurji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü Yıldız Biyomühendislik Günleri Katılım Sertifikası – Organisation team*
- 2014- EMB (Engineering In Medicine)/BIOFORM Öğrenci Kongresi Katılım Sertifikası
- 2014- BIOTECH/ Uluslararası İstanbul Teknik Üniversitesi Biyoteknoloji Kongresi Katılım Sertifikası
- 2015- *Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya ve Metalurji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü Yıldız Biyomühendislik Günleri Katılım Sertifikası*
- 2015- EMB (Engineering In Medicine)/BIOFORM Öğrenci Kongresi Katılım Sertifikası
- 2016- *Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya ve Metalurji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü Yıldız Biyomühendislik Günleri Katılım Sertifikası*
- 2018- *Başkent Üniversitesi Ulusal Biyoteknoloji Kongresi*

KAYNAKÇA

- Akter, F. (2016). Chapter 2 - Principles of Tissue Engineering. In F. Akter (Ed.), *Tissue Engineering Made Easy* (pp. 3-16): Academic Press.
- Aras, O., ve Kazanci, M. (2015). Production of collagen micro-and nanofibers for potential drug-carrier systems. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 30(6), 1013-1016.
- Avérus, L., ve Pollet, E. (2012). Biodegradable polymers *Environmental silicate nano-biocomposites* (pp. 13-39): Springer.
- Bai, R. G., Ninan, N., Muthoosamy, K., ve Manickam, S. (2018). Graphene: A versatile platform for nanotheranostics and tissue engineering. *Progress in Materials Science*, 91, 24-69.
- Bai, Y., Huang, Z.-H., Yu, X.-L., ve Kang, F. (2014). Graphene oxide-embedded porous carbon nanofiber webs by electrospinning for capacitive deionization. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 444, 153-158.
- Bilhalva, A. F., Finger, I. S., Pereira, R. A., Corrêa, M. N., ve Burkert Del Pino, F. A. (2018). Utilization of biodegradable polymers in veterinary science and routes of administration: a literature review. *Journal of Applied Animal Research*, 46(1), 643-649.
- Blazewicz, M. (2001). Carbon materials in the treatment of soft and hard tissue injuries. *Eur Cell Mater*, 2, 21-29.
- Bressan, E., Ferroni, L., Gardin, C., Sbricoli, L., Gobbato, L., Ludovichetti, F. S., . . . Zavan, B. (2014). Graphene based scaffolds effects on stem cells commitment. *Journal of translational medicine*, 12(1), 296.
- Bürck, J., Aras, O., Bertinetti, L., İlhan, C. A., Ermeýdan, M. A., Schneider, R., . . . Kazanci, M. (2018). Observation of triple helix motif on electrospun collagen nanofibers and its effect on the physical and structural properties. *Journal of Molecular Structure*, 1151, 73-80.
- Bürck, J., Heissler, S., Geckle, U., Ardakani, M. F., Schneider, R., Ulrich, A. S., ve Kazanci, M. (2013). Resemblance of electrospun collagen nanofibers to their native structure. *Langmuir*, 29(5), 1562-1572.
- Cao, L., Zhang, F., Wang, Q., ve Wu, X. (2017). Fabrication of chitosan/graphene oxide polymer nanofiber and its biocompatibility for cartilage tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 79, 697-701.
- Cheng, C., Li, S., Thomas, A., Kotov, N. A., ve Haag, R. (2017). Functional graphene nanomaterials based architectures: biointeractions, fabrications, and emerging biological applications. *Chemical reviews*, 117(3), 1826-1914.
- Choi, W., Lahiri, I., Seelaboyina, R., ve Kang, Y. S. (2010). Synthesis of graphene and its applications: a review. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, 35(1), 52-71.
- Chung, C., Kim, Y.-K., Shin, D., Ryoo, S.-R., Hong, B. H., ve Min, D.-H. (2013). Biomedical applications of graphene and graphene oxide. *Accounts of chemical research*, 46(10), 2211-2224.

- Collins, M. N., ve Birkinshaw, C. (2013). Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering--a review. *Carbohydr Polym*, 92(2), 1262-1279. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.10.028
- Cui, W., Zhou, Y., ve Chang, J. (2010). Electrospun nanofibrous materials for tissue engineering and drug delivery. *Science and Technology of Advanced Materials*, 11(1), 014108.
- Dhandayuthapani, B., Yoshida, Y., Maekawa, T., ve Kumar, D. S. (2011). Polymeric scaffolds in tissue engineering application: a review. *International journal of polymer science*, 2011.
- Dhivya, S., Padma, V. V., ve Santhini, E. (2015). Wound dressings--a review. *BioMedicine*, 5(4).
- Diesner, M.-O., Welle, A., Kazanci, M., Kaiser, P., Spatz, J., ve Koelsch, P. (2011). In vitro observation of dynamic ordering processes in the extracellular matrix of living, adherent cells. *Biointerphases*, 6(4), 171-179.
- Eap, S., Ferrand, A., Mendoza Palomares, C., Hébraud, A., Stoltz, J.-F., Mainard, D., . . . Benkirane-Jessel, N. (2012). Electrospun nanofibrous 3D scaffold for bone tissue engineering. *Bio-medical materials and engineering*, 22(1-3), 137-141.
- Elzein, T., Nasser-Eddine, M., Delaite, C., Bistac, S., ve Dumas, P. (2004). FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. *J Colloid Interface Sci*, 273(2), 381-387.
- Feng, L., ve Liu, Z. (2011). Graphene in biomedicine: opportunities and challenges. *Nanomedicine*, 6(2), 317-324. doi: 10.2217/NNM.10.158
- Feynman, R. P. (2012). There's plenty of room at the bottom: An invitation to enter a new field of physics *Handbook of Nanoscience, Engineering, and Technology, Third Edition* (pp. 26-35): CRC Press.
- Freed, L. E., Vunjak-Novakovic, G., Biron, R. J., Eagles, D. B., Lesnoy, D. C., Barlow, S. K., ve Langer, R. (1994). Biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering. *Nature Biotechnology*, 12(7), 689.
- Fu, Q., ve Cao, Y.-L. (2012). Tissue engineering and stem cell application of urethroplasty: from bench to bedside. *Urology*, 79(2), 246-253.
- Gao, H., ve Duan, H. (2015). 2D and 3D graphene materials: Preparation and bioelectrochemical applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 65, 404-419.
- Gardin, C., Piattelli, A., ve Zavan, B. (2016). Graphene in regenerative medicine: focus on stem cells and neuronal differentiation. *Trends in biotechnology*, 34(6), 435-437.
- Geim, A. K., ve Novoselov, K. S. (2007). The rise of graphene. *Nature materials*, 6(3), 183.
- Gloria, A., De Santis, R., ve Ambrosio, L. (2010). Polymer-based composite scaffolds for tissue engineering. *Journal of Applied Biomaterials and Biomechanics*, 8(2), 57-67.
- Griffith, L. G., ve Naughton, G. (2002). Tissue Engineering--Current Challenges and Expanding Opportunities. *Science*, 295(5557), 1009-1014. doi: 10.1126/science.1069210
- Guo, R., Zhang, S., Xiao, M., Qian, F., He, Z., Li, D., . . . Tang, M. (2016). Accelerating bioelectric functional development of neural stem cells by graphene

- coupling: Implications for neural interfacing with conductive materials. *Biomaterials*, 106, 193-204. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.08.019
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., ve Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453, 314. doi: 10.1038/nature07039
- HACIOSMANOĞLU, S. K., BUERCK, J., ve KAZANCI, M. (2018). Production of Collagen Nanofibers and Unfolding of the Structure.
- Han, G., ve Ceilley, R. (2017). Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. *Advances in Therapy*, 34(3), 599-610. doi: 10.1007/s12325-017-0478-y
- Hasan, A., Morshed, M., Memic, A., Hassan, S., Webster, T. J., ve Marei, H. E.-S. (2018). Nanoparticles in tissue engineering: applications, challenges and prospects. *International journal of nanomedicine*, 13, 5637.
- Haycock, J. W. (2011). 3D cell culture: a review of current approaches and techniques *3D cell culture* (pp. 1-15): Springer.
- Hong, S. W., Lee, J. H., Kang, S. H., Hwang, E. Y., Hwang, Y. S., Lee, M. H., . . . Park, J. C. (2014). Enhanced neural cell adhesion and neurite outgrowth on graphene-based biomimetic substrates. *Biomed Res Int*, 2014, 212149. doi: 10.1155/2014/212149
- Hu, K., Kulkarni, D. D., Choi, I., ve Tsukruk, V. V. (2014). Graphene-polymer nanocomposites for structural and functional applications. *Progress in Polymer Science*, 39(11), 1934-1972.
- Hummers Jr, W. S., ve Offeman, R. E. (1958). Preparation of graphitic oxide. *Journal of the American Chemical Society*, 80(6), 1339-1339.
- Jakus, A. E., Secor, E. B., Rutz, A. L., Jordan, S. W., Hersam, M. C., ve Shah, R. N. (2015). Three-dimensional printing of high-content graphene scaffolds for electronic and biomedical applications. *ACS Nano*, 9(4), 4636-4648.
- Jing, X., Mi, H.-Y., Peng, X.-F., ve Turng, L.-S. (2016). *Matrigel immobilization on the shish-kebab structured poly (ϵ -caprolactone) nanofibers for skin tissue engineering*. Paper presented at the AIP Conference Proceedings.
- Kai, D., Liow, S. S., ve Loh, X. J. (2014). Biodegradable polymers for electrospinning: towards biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*, 45, 659-670.
- Kazanci, M. (2014). Solvent and temperature effects on folding of electrospun collagen nanofibers. *Materials Letters*, 130, 223-226.
- Khan, M. S., Abdelhamid, H. N., ve Wu, H.-F. (2015). Near infrared (NIR) laser mediated surface activation of graphene oxide nanoflakes for efficient antibacterial, antifungal and wound healing treatment. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 127, 281-291.
- Kim, J., Choi, K. S., Kim, Y., Lim, K. T., Seonwoo, H., Park, Y., . . . Chung, J. H. (2013). Bioactive effects of graphene oxide cell culture substratum on structure and function of human adipose-derived stem cells. *J Biomed Mater Res A*, 101(12), 3520-3530. doi: 10.1002/jbm.a.34659
- Kingsley, J. D., Ranjan, S., Dasgupta, N., ve Saha, P. (2013). Nanotechnology for tissue engineering: need, techniques and applications. *Journal of Pharmacy Research*, 7(2), 200-204.

- Kokubo, T., ve Takadama, H. (2006). How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 27(15), 2907-2915.
- KURTOĞLU, A. H. (2009). YARA TEDAVİSİNDE GÜNCEL YAKLAŞIMLAR: MODERN YARA ÖRTÜLERİ.
- Langer, R., ve Vacanti, J. (1993). Tissue engineering. *Science*, 260(5110), 920-926. doi: 10.1126/science.8493529
- Lanza, R., Langer, R., ve Vacanti, J. P. (2011). *Principles of tissue engineering*: Academic press.
- Lee, E. J., Lee, J. H., Shin, Y. C., Hwang, D.-G., Kim, J. S., Jin, O. S., . . . Han, D.-W. (2014). Graphene oxide-decorated PLGA/collagen hybrid fiber sheets for application to tissue engineering scaffolds. *Biomater Res*, 18, 18-24.
- Lee, J., Cuddihy, M. J., ve Kotov, N. A. (2008). Three-dimensional cell culture matrices: state of the art. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 14(1), 61-86.
- Lee, K., Silva, E. A., ve Mooney, D. J. (2011). Growth factor delivery-based tissue engineering: general approaches and a review of recent developments. *Journal of the Royal Society Interface*, 8(55), 153-170.
- Lee, S.-H., ve Shin, H. (2007). Matrices and scaffolds for delivery of bioactive molecules in bone and cartilage tissue engineering. *Advanced drug delivery reviews*, 59(4-5), 339-359.
- Lee, W. C., Lim, C. H. Y., Shi, H., Tang, L. A., Wang, Y., Lim, C. T., ve Loh, K. P. (2011). Origin of enhanced stem cell growth and differentiation on graphene and graphene oxide. *ACS Nano*, 5(9), 7334-7341.
- Li, J., Connell, S., ve Shi, R. (2010). Biomimetic architectures for tissue engineering *Biomimetics Learning from Nature*: InTech.
- Li, Z., Wang, H., Yang, B., Sun, Y., ve Huo, R. (2015). Three-dimensional graphene foams loaded with bone marrow derived mesenchymal stem cells promote skin wound healing with reduced scarring. *Materials Science and Engineering: C*, 57, 181-188.
- Liao, S., Li, B., Ma, Z., Wei, H., Chan, C., ve Ramakrishna, S. (2006). Biomimetic electrospun nanofibers for tissue regeneration. *Biomedical Materials*, 1(3), R45.
- Liu, J.-H., Wang, T., Wang, H., Gu, Y., Xu, Y., Tang, H., . . . Liu, Y. (2015). Biocompatibility of graphene oxide intravenously administrated in mice—effects of dose, size and exposure protocols. *Toxicology Research*, 4(1), 83-91.
- Liu, X., Holzwarth, J. M., ve Ma, P. X. (2012). Functionalized synthetic biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering. *Macromolecular bioscience*, 12(7), 911-919.
- Lu, B., Li, T., Zhao, H., Li, X., Gao, C., Zhang, S., ve Xie, E. (2012). Graphene-based composite materials beneficial to wound healing. *Nanoscale*, 4(9), 2978-2982.
- Ma, Z., Kotaki, M., Inai, R., ve Ramakrishna, S. (2005). Potential of nanofiber matrix as tissue-engineering scaffolds. *Tissue engineering*, 11(1-2), 101-109.
- Mahmoudi, N., ve Simchi, A. (2017). On the biological performance of graphene oxide-modified chitosan/polyvinyl pyrrolidone nanocomposite membranes:

- In vitro and in vivo effects of graphene oxide. *Materials Science and Engineering: C*, 70, 121-131.
- Marcano, D. C., Kosynkin, D. V., Berlin, J. M., Sinitskii, A., Sun, Z., Slesarev, A., . . . Tour, J. M. (2010). Improved synthesis of graphene oxide. *ACS Nano*, 4(8), 4806-4814.
- Marques, M. R., Loebenberg, R., ve Almukainzi, M. (2011). Simulated biological fluids with possible application in dissolution testing. *Dissolution Technol*, 18(3), 15-28.
- Menaa, F., Abdelghani, A., ve Menaa, B. (2015). Graphene nanomaterials as biocompatible and conductive scaffolds for stem cells: impact for tissue engineering and regenerative medicine. *J Tissue Eng Regen Med*, 9(12), 1321-1338. doi: 10.1002/term.1910
- Murray, E., Sayyar, S., Thompson, B. C., Gorkin III, R., Officer, D. L., ve Wallace, G. G. (2015). A bio-friendly, green route to processable, biocompatible graphene/polymer composites. *RSC Advances*, 5(56), 45284-45290.
- Nanda, S. S., Papaefthymiou, G. C., ve Yi, D. K. (2015). Functionalization of graphene oxide and its biomedical applications. *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, 40(5), 291-315.
- Nigam, R., ve Mahanta, B. (2014). An overview of various biomimetic scaffolds: Challenges and applications in tissue engineering. *Journal of Tissue Science ve Engineering*, 5(2), 1.
- Nitta, S., ve Numata, K. (2013). Biopolymer-Based Nanoparticles for Drug/Gene Delivery and Tissue Engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(1), 1629.
- Novoselov, K. S., Geim, A. K., Morozov, S. V., Jiang, D., Zhang, Y., Dubonos, S. V., . . . Firsov, A. A. (2004). Electric field effect in atomically thin carbon films. *Science*, 306(5696), 666-669.
- Nurunnabi, M., Parvez, K., Nafiujjaman, M., Revuri, V., Khan, H. A., Feng, X., ve Lee, Y.-k. (2015). Bioapplication of graphene oxide derivatives: drug/gene delivery, imaging, polymeric modification, toxicology, therapeutics and challenges. *RSC Advances*, 5(52), 42141-42161.
- Park, S. Y., Park, J., Sim, S. H., Sung, M. G., Kim, K. S., Hong, B. H., ve Hong, S. (2011). Enhanced differentiation of human neural stem cells into neurons on graphene. *Advanced Materials*, 23(36).
- Pinto, A. M., Goncalves, I. C., ve Magalhães, F. D. (2013). Graphene-based materials biocompatibility: a review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 111, 188-202.
- ResearchAndMarkets. (2018). Global Wound Care Market (by Product Type, Applications, Wound Type, Region and Company), Major Deals, Size, Share, Trends ve Forecast to 2026. ResearchAndMarkets
- Ryoo, S.-R., Kim, Y.-K., Kim, M.-H., ve Min, D.-H. (2010). Behaviors of NIH-3T3 fibroblasts on graphene/carbon nanotubes: proliferation, focal adhesion, and gene transfection studies. *ACS Nano*, 4(11), 6587-6598.

- S., A. K., Sanpui, P., ve Chatterjee, K. (2014). Fabrication of Poly(Caprolactone) Nanofibers by Electrospinning. *Journal of Polymer and Biopolymer Physics Chemistry*, 2(4), 62-66.
- Saallah, S., ve Lenggoro, I. W. (2018). Nanoparticles Carrying Biological Molecules: Recent Advances and Applications. *KONA Powder and Particle Journal*, 35, 89-111.
- Sayyar, S., Murray, E., Thompson, B. C., Gambhir, S., Officer, D. L., ve Wallace, G. G. (2013). Covalently linked biocompatible graphene/polycaprolactone composites for tissue engineering. *Carbon*, 52, 296-304.
- Sezer, A. D., ve Cevher, E. (2011). Biopolymers as wound healing materials: challenges and new strategies *Biomaterials Applications for Nanomedicine: InTech*.
- Shah, S. (2016). The nanomaterial toolkit for neuroengineering. *Nano Convergence*, 3(1), 25.
- Shah, S., Yin, P. T., Uehara, T. M., Chueng, S. T., Yang, L., ve Lee, K. B. (2014). Guiding stem cell differentiation into oligodendrocytes using graphene-nanofiber hybrid scaffolds. *Adv Mater*, 26(22), 3673-3680. doi: 10.1002/adma.201400523
- Shahnawaz Khan, M., Abdelhamid, H. N., ve Wu, H. F. (2015). Near infrared (NIR) laser mediated surface activation of graphene oxide nanoflakes for efficient antibacterial, antifungal and wound healing treatment. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 127, 281-291. doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.12.049
- Smith, A. M., Moxon, S., ve Morris, G. (2016). Biopolymers as wound healing materials *Wound Healing Biomaterials* (pp. 261-287): Elsevier.
- Smith, A. M., Moxon, S., ve Morris, G. A. (2016). 13 - Biopolymers as wound healing materials. In M. S. Ågren (Ed.), *Wound Healing Biomaterials* (pp. 261-287): Woodhead Publishing.
- Song, J., Gao, H., Zhu, G., Cao, X., Shi, X., ve Wang, Y. (2015). The preparation and characterization of polycaprolactone/graphene oxide biocomposite nanofiber scaffolds and their application for directing cell behaviors. *Carbon*, 95, 1039-1050.
- Spector, M., Goldman, R. D., ve Leinwand, L. A. (1998). Cells. *A Laboratory Manual*, 1.
- Sweeney, A. E., Seal, S., ve Vaidyanathan, P. (2003). The promises and perils of nanoscience and nanotechnology: Exploring emerging social and ethical issues. *Bulletin of Science, Technology ve Society*, 23(4), 236-245.
- Tan, Y., Song, Y., ve Zheng, Q. (2012). Hydrogen bonding-driven rheological modulation of chemically reduced graphene oxide/poly (vinyl alcohol) suspensions and its application in electrospinning. *Nanoscale*, 4(22), 6997-7005.
- Taniguchi, N. (1974). On the Basic concept of Nanotechnology. *Proceeding of the ICPE*.
- Tas, A. C. (2000). Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37 C in synthetic body fluids. *Biomaterials*, 21(14), 1429-1438.

- Tiyek, İ., Dönmez, U., Yıldırım, B., Alma, M. H., Ersoy, M. S., ve Karataş, Ş. (2016). Kimyasal yöntem ile indirgenmiş grafen oksit sentezi ve karakterizasyonu. *Sakarya University Journal of Science*, 20(2), 349-357.
- Tonelli, F. M., Goulart, V. A., Gomes, K. N., Ladeira, M. S., Santos, A. K., Lorençon, E., . . . Resende, R. R. (2015). Graphene-based nanomaterials: biological and medical applications and toxicity. *Nanomedicine*, 10(15), 2423-2450.
- Țucureanu, V., Matei, A., ve Avram, A. M. (2016). FTIR spectroscopy for carbon family study. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 46(6), 502-520.
- Vroman, I., ve Tighzert, L. (2009). Biodegradable polymers. *Materials*, 2(2), 307-344.
- Wan, C., ve Chen, B. (2011). Poly (ϵ -caprolactone)/graphene oxide biocomposites: mechanical properties and bioactivity. *Biomedical Materials*, 6(5), 055010.
- Wang, K., Ruan, J., Song, H., Zhang, J., Wo, Y., Guo, S., ve Cui, D. (2011). Biocompatibility of Graphene Oxide. *Nanoscale Res Lett*, 6(1), 8. doi: 10.1007/s11671-010-9751-6
- Whitesides, G. M. (2005). Nanoscience, nanotechnology, and chemistry. *Small*, 1(2), 172-179.
- Yang, K., Lee, J., Lee, J. S., Kim, D., Chang, G.-E., Seo, J., . . . Cho, S.-W. (2016). Graphene Oxide Hierarchical Patterns for the Derivation of Electrophysiologically Functional Neuron-like Cells from Human Neural Stem Cells. *ACS Appl Mater Interfaces*, 8(28), 17763-17774. doi: 10.1021/acsami.6b01804
- Yang Liu, G. M., Dawei Fang, Juan Xu, Hongwen Zhang, Jun Nie. (2010). Effects of solution properties and electric field on the electrospinning of hyaluronic acid *Carbonhydrate Polymers*. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.08.061
- Yoon, O. J., Jung, C. Y., Sohn, I. Y., Kim, H. J., Hong, B., Jhon, M. S., ve Lee, N.-E. (2011). Nanocomposite nanofibers of poly(d, l-lactic-co-glycolic acid) and graphene oxide nanosheets. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 42(12), 1978-1984. doi: https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2011.08.023
- Zarzycki, A. (2014). At source of nanotechnology. *Tecno Lógicas*, 17(32), 09-10.
- Zhan, J., Morsi, Y., El-Hamshary, H., Al-Deyab, S. S., ve Mo, X. (2016). Preparation and characterization of electrospun in-situ cross-linked gelatin-graphite oxide nanofibers. *Journal of Biomaterials science, Polymer edition*, 27(5), 385-402.
- Zhang, Y., Petibone, D., Xu, Y., Mahmood, M., Karmakar, A., Casciano, D., . . . Biris, A. S. (2014). Toxicity and efficacy of carbon nanotubes and graphene: the utility of carbon-based nanoparticles in nanomedicine. *Drug metabolism reviews*, 46(2), 232-246.
- Zhong, S., Zhang, Y., ve Lim, C. (2010). Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2(5), 510-525.
- Zhou, Z. (2013). Liposome formulation of fullerene-based molecular diagnostic and therapeutic agents. *Pharmaceutics*, 5(4), 525-541.

Zou, Y., Zhang, L., Yang, L., Zhu, F., Ding, M., Lin, F., . . . Li, Y. (2018). "Click" chemistry in polymeric scaffolds: Bioactive materials for tissue engineering. *Journal of Controlled Release*, 273, 160-179.