

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DONDURARAK KURUTMA VE ÇÖZÜCÜ DÖKÜM-PARÇACIK
UZAKLAŞTIRMA TEKNİĞİ İLE PCL BAZLI DOKU
İSKELESİNİN KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Canan DURUKAN GÜL

Biyomedikal Mühendisliği

MART 2024

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DONDURARAK KURUTMA VE ÇÖZÜCÜ DÖKÜM-PARÇACIK
UZAKLAŞTIRMA TEKNİĞİ İLE PCL BAZLI DOKU İSKELESİNİN
KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Canan DURUKAN GÜL

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mediha İPEK

MART 2024

Canan DURUKAN GÜL tarafından hazırlanan “DONDURARAK KURUTMA VE ÇÖZÜCÜ DÖKÜM-PARÇACIK UZAKLAŞTIRMA TEKNİĞİ İLE PCL BAZLI DOKU İSKELESİNİN KARAKTERİZASYONU” adlı tez çalışması 29.03.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Jüri Başkanı : **Prof. Dr. Ahmet ATASOY**
Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

Jüri Üyesi : **Prof. Dr. Mediha İPEK**
Sakarya Üniversitesi

Jüri Üyesi : **Doç. Dr. Serbülent TÜRK**
Sakarya Üniversitesi

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğine ve Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesine uygun olarak hazırlamış olduğum “**DONDURARAK KURUTMA VE ÇÖZÜCÜ DÖKÜM-PARÇACIK UZAKLAŞTIRMA TEKNİĞİ İLE PCL BAZLI DOKU İSKELESİNİN KARAKTERİZASYONU**” başlıklı tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın tüm aşamalarında yukarıda belirtilen yönetmelik ve yönergeye uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, bu tezi başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve 20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince Sakarya Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Enstitü tarafından belirlenmiş ölçütlere uygun rapor alındığımı, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun ortaya çıkması halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi beyan ederim.

(29/03/2024).

(imza)

Canan DURUKAN GÜL

Eşime, Durukan ve Gül ailesine ithafen.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması için en baőta danıőman hocam Prof. Dr. Mediha İPEK'e teşekkür ederim. Tez çalışmasında bana yardımcı olup her türlü imkanı sağlayan hocam Doç. Dr. Serbülent TÜRK'e çok teşekkür ederim. Çalıőmalarımnda bana yardımcı olan, bilgi paylaőımı yaptığım çalışma arkadaőım Yaėmur CAMCI'ya çok teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde maddi, manevi her türlü desteklerini benden esirgemeyen, zor zamanlarımda yanımda olan, annem Aynur DURUKAN'a babam Recai DURUKAN'a ve canım abim Cihan DURUKAN'a çok teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimim süresince bana karşı anlayıő ve sabır gösteren, her daim yanımda olan sevgili eőim Burak GL'e teşekkür ederim.

Saygılarımla.

Canan DURUKAN GL

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SİMGELER	xv
TABLO LİSTESİ	xvii
ŞEKİL LİSTESİ	xix
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Kapsamı.....	2
1.2. Tezin Amacı	3
1.3. Literatür Araştırması	3
1.3.1. Doku mühendisliği ve doku iskelesi	3
1.3.2. İki (çift) katmanlı doku iskelesi	5
1.3.3. Doku iskelesinde ilaç salınımı	5
1.3.4. Doku iskelesinin sahip olması gereken özellikler.....	9
1.4. Doku Mühendisliğinde Kullanılan Biyomalzemeler.....	11
1.4.1. Metaller	11
1.4.2. Seramikler	12
1.4.3. Polimerler.....	12
1.4.3.1. Doğal polimerler	13
1.4.3.2. Sentetik polimerler	14
1.4.4. Kompozitler	17
1.5. Doku İskelesi Üretiminde Kullanılan Yöntemler.....	18
1.5.1. Geleneksel yöntemler.....	19
1.5.1.1. Dondurarak kurutma	19
1.5.1.2. Çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma.....	20
1.5.1.3. Electrospinning	21
1.5.1.4. Gaz köpüklenmesi.....	22
1.5.2. Serbest katı hal üretim yöntemleri	23
1.5.2.1. Stereolitografi (SLA)	23
1.5.2.2. Eriyik yığıma modellemesi (FDM)	24
1.5.2.3. Seçici lazer sinterleme (SLS)	25
1.6. Hipotez	26
2. MATERYAL VE YÖNTEM	27
2.1. Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Doku İskelesi Üretimi	27
2.1.1. Kullanılan kimyasallar ve özellikleri	27
2.1.2. Uygulanan yöntem	27
2.1.3. Yapılan analizler	30
2.1.3.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi	31
2.1.3.2. FTIR (fourier kızılötesi dönüşüm spektroskopisi) analizi	31

2.1.3.3. X-Ray difraktometre (XRD) analizi.....	31
2.1.3.4. Temas açısı ve serbest yüzey enerjisi.....	31
2.2. Çözücü Döküm ve Parçacık Uzaklaştırma Yöntemi ile Doku İskelesi Üretimi	32
2.2.1. Kullanılan kimyasallar ve özellikleri	33
2.2.2. Uygulanan yöntem	33
2.2.3. Yapılan analizler	35
2.2.3.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi.....	36
2.2.3.2. FTIR (fourier kızılötesi dönüşüm spektroskopisi) analizi.....	36
2.2.3.3. Şişme testleri	36
2.2.3.4. Temas açısı ve serbest yüzey enerjisi.....	36
2.2.3.5. İlaç salınım analizi	38
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	41
3.1. Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Üretilen Doku İskelesi Analizleri.....	41
3.1.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi.....	41
3.1.2. FTIR (fourier kızılötesi dönüşüm spektroskopisi) analizi.....	43
3.1.3. X-Işını difraktometrisi (XRD) analizi	44
3.1.4. Temas açısı ve serbest yüzey enerjisi.....	45
3.2. Çözücü Döküm ve Parçacık Uzaklaştırma Yöntemi Üretilen Doku İskelesi Analizleri	47
3.2.1. Elektron mikroskobu (SEM) analizi	47
3.2.1.1. FTIR (fourier kızılötesi dönüşüm spektroskopisi) analizi.....	48
3.2.2. İskelelerin şişme özellikleri.....	49
3.2.3. Temas açısı ve serbest yüzey enerjisi.....	50
3.2.4. İlaç salınım analizi	52
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	55
KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ.....	69

KISALTMALAR

3B	: Üç Boyutlu
AA	: Asetik Asit
CAD	: Bilgisayar Destekli Tasarım
CAM	: Bilgisayar Destekli Üretim
CHI	: Kitosan
CNT	: Karbon Nano Tüp
CO₂	: Karbondioksit
CT	: Bilgisayarlı Tomografi
DOX	: Doksorubisin
ECM	: Hücre Dışı Matrisi
FDM	: Eriyik Yığıma Modelleme
FTIR	: Fourier Kızılötesi Dönüşüm Spektroskopisi
MOL	: Molekül
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
NaCl	: Sodyum Klorür
PCL	: Polikaprolakton
PLA	: Polilaktik Asit
PEG	: Polietilen Glikol
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SLA	: Stereolitografi
SLS	: Seçici Lazer Sinterleme
UV	: Ultraviyole
UV-VIS	: Ultraviyole-Görünür Spektroskopi
XRD	: X-Ray Difraktometre

SİMGELER

C	: Santigrat
°	: Derece
θ	: Temas açısı [°]
γ_c	: Kritik yüzey enerjisi [mN/m]
μm	: Mikrometre
%w/v	: Hacimde ağırlıkça yüzde
cm⁻¹	: Dalga sayısı aralığı
g	: gram
mg	: miligram
mL	: mililitre
M_n	: Sayıca ortalama molekül ağırlığı [g/mol]
M_w	: Ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı [g/mol]
T_m	: Erime noktası [°C]
T_g	: Camsı geçiş sıcaklığı [°C]

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1. Polimer türleri.	13
Tablo 2.1. Dondurarak kurutma yöntemi ile iskele üretiminde kullanılan bileşenler.	28
Tablo 2.2. Çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi ile iskele üretiminde kullanılan bileşenler.	34
Tablo 3.1. Su, formamid ve diiyodometanın temas açıları.....	46
Tablo 3.2. Su, formamid ve diiyodometanın temas açıları.....	51

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. Doku iskelesi.	4
Şekil 1.2. İlaç konsantrasyonunun doz uygulamasına göre değişimi.	6
Şekil 1.3. İlaç salınım yöntemleri a) İskelenin ilaca daldırılması yöntemi, b) iskelenin solvent bazlı işlenmesi sırasında ilaç entegrasyonu, c) ilaç içeren katmanlı üretim yöntemi d) enjekte edilebilir jel içeren ilaç, e) mekanik olarak stabil katı iskelenin ilaç içeren kombinasyonu, f) katman katman işlem sırasında iki farklı ilacın hapsedilmesi.	7
Şekil 1.4. Doksorubisinin yapısı.	9
Şekil 1.5. Metalik biyomalzemeler.	12
Şekil 1.6. Kitosanın yapısı.	14
Şekil 1.7. PCL'nin yapısı.	15
Şekil 1.8. PCL'nin polimerizasyon reaksiyonları.	15
Şekil 1.9. PLA'nın yapısı.	17
Şekil 1.10. PEG'in yapısı.	17
Şekil 1.11. Karbon nano tüp.	18
Şekil 1.12. Dondurarak kurutma yöntemi ile doku iskelesi üretimi şablonu.	19
Şekil 1.13. Çözücü döküm ve parçacık uzaklaştıma tekniği şablonu.	21
Şekil 1.14. Elektrosponning yöntemi.	22
Şekil 1.15. Gaz köpüklenmesi yöntemi.	23
Şekil 1.16. Stereolitografi yöntemi.	24
Şekil 1.17. Eriyik yığıma modellemesi.	25
Şekil 1.18. Seçici lazer sinterleme yöntemi.	26
Şekil 2.1. Dondurarak kurutma yönteminin şematik gösterimi.	28
Şekil 2.2. Manyetik karıştırıcı.	29
Şekil 2.3. PCL, CHI ve CNT kullanılarak elde edilen homojen karışımın kuyu plakalarına dökülmüş hali.	29
Şekil 2.4. Liyofilizatör.	30
Şekil 2.5. Dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen çift katmanlı iskeleler a) PCL/CHI, b) PCL/CHI/%0,005CNT, c) PCL/CHI/%0,01CNT, d) PCL/CHI/%0,02 CNT.	30
Şekil 2.6. Uygulanan çözücü döküm ve parçacık uzaklaştıma yöntemi şablonu.	33
Şekil 2.7. Manyetik karıştırıcı.	34
Şekil 2.8. Elde edilen homojen karışımlar.	35
Şekil 2.9. Çözücü döküm ve parçacık uzaklaştıma yöntemi ile suda bekletilen numuneler.	35
Şekil 2.10. DOX çözeltisi içeren santrifüj tüpleri.	38
Şekil 2.11. Deiyonize suda bekleyen iskeleler.	39
Şekil 3.1. a.1) PCL/CHI içeren iskelenin üst katmanı, a.2) PCL/CHI içeren iskelenin alt katmanı, b.1) PCL/CHI/%0,005CNT içeren iskelenin üst katmanı, b.2) PCL/CHI/%0,005CNT içeren iskelenin alt katmanı, c.1) PCL/CHI/%0,01CNT içeren iskelenin üst katmanı, c.2)	

	PCL/CHI/%0,01CNT	içeren	iskelenin	alt	katmanı,	d.1)	
	PCL/CHI/%0,02CNT	içeren	iskelenin	üst	katmanı,	d.2)	
	PCL/CHI/%0,02CNT	içeren	iskelenin	alt	katmanı.	42
Şekil	3.2.	a)	PCL/CHI,	PCL/CHI/%0,005CNT,	PCL/CHI/%0,01CNT,		
			PCL/CHI/%0,02CNT	içeren	iskelenin	üst	katman FTIR Analizi
			PCL/CHI,	PCL/CHI/%0,005	CNT,	PCL/CHI/%0,01	CNT,
			PCL/CHI/%0,02	CNT	içeren	iskelenin	alt katman FTIR analizi.
						 44
Şekil	3.3.	a)	PCL/CHI,	PCL/CHI/%0,005CNT,	PCL/CHI/%0,01	CNT,	
			PCL/CHI/%0,02	CNT	içeren	iskele	üst katman XRD Analizi
			b)	PCL/CHI,	PCL/CHI/%0,005	CNT,	
			PCL/CHI/%0,01	CNT,	PCL/CHI/%0,02	CNT	içeren
			iskele	alt	katman	XRD	analizi.
						 45
Şekil	3.4.	a)	PCL/CHI,	b)	PCL/CHI/%0,005	CNT,	
			c)	PCL/CHI/%0,01	CNT,	d)	
			PCL/CHI/%0,02	CNT	temas	açısı	ölçümü.
						 46
Şekil	3.5.		Kritik	yüzey	serbest	enerjisinin	elde
			edilen	değeri	ile	çizilen	Zisman
			grafikleri	a)	PCL/CHI,	b)	PCL/CHI/%0,005
			CNT,	c)	PCL/CHI/%0,01	CNT,	
			d)	PCL/CHI/%0,02	CNT.	47
Şekil	3.6.		SEM	Analiz	görüntüleri	a)	%14PCL/PEG,
			b)	%13,3PCL/%0,7PLA/PEG,	c)	%12,6PCL/%1,4	PLA/PEG
			d)	%11,9PCL/%2,1PLA/PEG	içeren	doku	iskelesi.
						 48
Şekil	3.7.		%14PCL/PEG,	%13,3PCL/%0,7PLA/PEG,	%12,6PCL/%1,4	PLA/PEG,	
			%11,9PCL/%2,1PLA/PEG	içeren	iskelelerin	FTIR	Analizi.
						 49
Şekil	3.8.		%14PCL/PEG,	%13,3PCL/%0,7PLA/PEG,	%12,6PCL/%1,4	PLA/PEG,	
			%11,9PCL/%2,1PLA/PEG	içeren	iskelelerin	şişme	analizleri.
						 50
Şekil	3.9.	a)	%14PCL/PEG,	b)	%13,3PCL/%0,7PLA/PEG,	c)	%12,6PCL/%1,4
			PLA/PEG,	d)	%11,9PCL/%2,1PLA/PEG	içeren	iskelelerin
			temas	açıları.		 51
Şekil	3.10.	a)	%14PCL/PEG,	b)	%13,3PCL/%0,7PLA/PEG,	c)	%12,6PCL/%1,4
			PLA/PEG,	d)	%11,9PCL/%2,1PLA/PEG	içeren	iskelelerin
			zisman	grafığı.		 52
Şekil	3.11.		Doku	iskelelerinin	%DOX	salınımı. 53

DONDURARAK KURUTMA VE ÇÖZÜCÜ DÖKÜM-PARÇACIK UZAKLAŞTIRMA TEKNİĞİ İLE PCL BAZLI DOKU İSKELESİNİN KARAKTERİZASYONU

ÖZET

Doku hasarı ve doku kaybı milyonlarca insanın yaşadığı sorunlardan biridir. Yaşanılan doku hasarını ve doku kaybını onarma ve yenileme potansiyeline sahip iki farklı yöntem kullanılarak bir doku iskelesinde olması gereken optimum özelliklere sahip iki farklı doku iskelesi geliştirilmesi öngörülmüştür. İlk yöntem olan dondurarak kurutma ile üretilen doku iskelelerinin istenilen iskele özellikleri sağlanması ve çift katmanlı olması amaçlanmıştır. İkinci yöntem olan çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi ile üretilen doku iskelelerinin ise istenilen iskele özellikleri sağlanması ve ilaç salınımı yapılması amaçlanmıştır. Doku hasarını ve doku kaybını iyileştirmek için biyolojik olarak parçalanabilen doku iskeleleri üretilmesi amaçlanmıştır. İskelelerin üretiminde ana malzeme olarak polikaprolakton (PCL) tercih edilmiştir. PCL doku oluşumu için biyoyoumlu ve biyobozunur bir polimerdir. Dondurarak kurutma yönteminde PCL'nin yapısına destek olabilmesi için Kitosan (CHI) yardımcı polimer olarak tercih edilmiştir. Oluşan bu yapıya destek sağlamak ve çift katmanlı bir yapı oluşturması için farklı oranlarda karbon nanotüp (CNT) eklenmiştir. Çözücü olarak asetik asit (AA) tercih edilmiştir. Bu biyomalzemeler kullanılarak dört farklı çözelti hazırlanmıştır. Çözeltilere dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemi uygulanmıştır. Hazırlanan çözeltiler -20°C'de dondurulmuştur. Donmuş çözeltiler daha sonra liyofilizasyon işlemi için basıncın vakum pompasıyla düşürüldüğü liyofilizatöre yerleştirilmiştir ve -60°C'de on gün bekletilmiştir. Liyofilizatörden çıkan numuneler iki gün kurumaya bırakılmış ve kuruduktan sonra çift katmanlı doku iskelelerinin üretimi tamamlanmıştır. Üretilen çift katmanlı doku iskelelerinin gözenek yapılarını incelemek için SEM, organik ve inorganik bileşikleri karakterize etmek için FTIR, iskelelerin kimyasal yapılarını doğrulamak için XRD, iskele yüzeylerinin ıslanabilirliğinin kontrolü için temas açısı ve serbest yüzey enerjisi analizleri incelenmiştir. SEM ile yüzeylerin gözenekliliği belirlenmiştir. FTIR analizi ile malzemeler için karakteristik pikler görülmüştür. XRD ile PCL karakterize edilmiştir, temas açısı ve serbest yüzey enerjisi analizi ile iskelenin ıslanabilirliği ölçülmüştür. Temas açısı ölçümü ile iskelenin hidrofilik olduğu tespit edilmiştir. Literatür taramalarında doku iskeleleri dokuya yapışması için en az 40 mN/m yüzey enerjisine sahip olması gerektiği tespit edilmiştir. Serbest yüzey enerjileri 40 mN/m'nin üzerindedir. Analiz sonucunda başarılı bir şekilde çift katmanlı bir doku üretildiği tespit edilmiştir. İkinci çalışmada ise PCL'ye ek olarak Polietilen Glikol (PEG) kullanılmıştır ve çözeltiye farklı oranlarda Polilaktik Asit (PLA) eklenmiştir. Çözücü olarak bu polimerlerin ortak çözücüsü olan kloroform tercih edilmiştir. Farklı oranlarda polimerler ile dört farklı çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltilere çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi uygulanmıştır. Çözeltilere toplam 24

g tuz (NaCl) eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda 15 dakika karıştırılmıştır. Çözeltiler, 24 saat boyunca bir çeker ocak içinde serbest bırakılmıştır. Daha sonra çözeltilere distile su ilave edilerek 60 saat suda bekletilmiştir. Çözeltilerin suda bekletilmesi NaCl ve PEG'i çözmek için tasarlanmıştır. Daha sonra sudan alınan numuneler iki gün boyunca havada kurutulmuştur ve dört farklı doku iskelesi üretimi tamamlanmıştır. Üretilen doku iskelelerinin gözenek yapılarını incelemek için SEM, organik ve inorganik bileşikleri karakterize etmek için FTIR, su tutma kapasiteleri için şişme analizi, iskele yüzeylerinin ıslanabilirliğinin kontrolü için temas açısı ve serbest yüzey enerjisi ve ilaç taşınmasını gözlemlemek için ilaç salınım analizi yapılmıştır. SEM analizinde iskelenin gözenekleri nanometre ve mikrometre boyutlarındadır. İskelelerdeki gözeneklilik NaCl porojenleri ve PEG ile sağlanmıştır ancak SEM görüntüleri incelendiğinde porojenlerin tamamının iskelelerden uzaklaştırılmadığı görülmüştür. FTIR spektrumunda bileşenlerin tüm karakteristik pikler görüldüğü gözlemlenmiştir. PCL oranı en yüksek doku iskelesinde en az su emme gözlenmiştir. Yapılan ölçümlerde 60. dakikadan sonra şişme oranında azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. En iyi temas açısına sahip doku iskelesi ise %14PCL/PEG içeren doku iskelesidir. Literatür taramalarında doku iskeleleri dokuya yapışması için en az 40 mN/m yüzey enerjisine sahip olması gerektiği tespit edilmiştir. Dört doku iskelesi içinde ölçülen değer 40 mN/m'ye yakın değerler elde edilmiştir. Yapılan ilaç salınım analizi sonucu çizilen doku iskelelerinin %DOX salınımı grafiğine bakıldığı zaman ilacın 1. saatten itibaren dört numune içinde salınım yaptığını 720. saatte %100'e ulaştığı gözlemlenmiştir. Doku iskelesinde kullanılan iki farklı yöntemde bakıldığında dondurarak kurutma yöntemi ile üretilen iskele yapısının istenilen iskele yapısına daha yakın olduğu tespit edilmiştir. Çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yönteminde PCL'nin yanında PLA'nın kullanılması üretilen iskelenin hidrofobik özelliğini arttırmıştır. Bu tez çalışmasında hem malzeme açısından hem de yöntem açısından dondurarak kurutma yöntemi ile istenilen amaca en uygun doku iskelesi üretimi sağlanmıştır.

CHARACTERIZATION OF PCL-BASED TISSUE SCAFFOLD USING FREEZE DRYING AND SOLVENT CASTING-PARTICULATE LEACHING

SUMMARY

Tissue damage and tissue loss are problems experienced by millions of people. Damaged tissues, it can be regenerated using donor graft tissues such as autografts, allografts, and xenografts. However, clinical applications for this renewal process are limited because the number of donors is insufficient. Tissue engineering is an interdisciplinary field that applies engineering principles aimed at repairing and remodeling lost or damaged tissues. Intensive research is being carried out to develop tissue scaffolds that can perform the functions of tissues and organs with the tissue engineering approach. The desired properties of the tissue scaffold are that it is biocompatible, has a biodegradable and porous structure, and has mechanical strength. The scaffold must have appropriate surface chemistry to ensure biocompatibility. Biodegradable scaffolds replace the implanted scaffold with the body's own cells over time. For this reason, the scaffold must be biodegradable, allowing cells to propagate their own extracellular matrix. The porous structure is It helps in cell formation, tissue renewal and tissue growth, and helps in maintaining mechanical stability over a period. The tissue scaffold must have sufficient mechanical strength during implantation and must not lose this property after implantation. In tissue scaffolds, it is very difficult to create two different features in a single scaffold at the same time. For this reason, in tissue engineering, they can create scaffolds with two or more tissue layers to recruit different cell types and restore their functions. Multilayer tissue scaffold helps repair multiple damages occurring in the scaffold. A tunable drug release mechanism in the scaffold may further facilitate new tissue formation and repair of damaged tissue. Drug carriers release a therapeutic drug onto the scaffold over a controlled and prolonged period by targeting infected tissue and cells, adjusting the dose required to cure the patient. The materials used for tissue scaffold production are called biomaterials. Biomaterials; metals, ceramics, polymers, and composites. Processing and shaping ceramic and metal materials is difficult. Tissue scaffolds of specific geometries can be produced by processing at high temperatures using ceramic and metal materials. Polymer materials are easier to process than metal and ceramic materials. Polymer materials are mostly used in tissue scaffold production. Polymer materials are divided into two: natural and synthetic. The processability feature of synthetic polymers allows the porosity and degradation properties of the tissue scaffold to be produced to be controlled. In the human body, three-dimensional structures are organized by cells and tissues. Tissue scaffolds are produced using different methods to design tissues and aid cell distribution. The first of these methods is the freeze-drying method. In this method, the polymer is dissolved in a suitable solvent and then the solution is frozen by bringing it to a temperature below the freezing point of the entire solution. It forms a network structure with polymer molecules among the ice crystals formed in the solution. The frozen solutions are then placed in the lyophilizer for the lyophilization process, where the pressure is reduced by a vacuum pump. In this way, porous

scaffolds are obtained. Thus, many interconnected porous structures are formed. The second method is solvent casting and particulate leaching method. Tissue scaffolds whose porosity properties and pore size can be controlled are produced by solvent casting and particulate leaching method. This method does not require high temperatures and special equipment. The polymers to be used in this method are dissolved in the appropriate solvent. Then, particles that dissolve in water and have a pore-forming effect, such as salt and sugar, are added to the solution and placed in a container. In this solution taken into the container, the solvent is removed by evaporation. After the solvent is removed, the particles that have a pore-forming effect are removed from the structure with the help of water. In this way, a porous tissue scaffold is formed by solvent casting and particulate leaching. Based on this, two different tissue scaffolds with the optimum properties that a tissue scaffold should have should be developed by using two different methods that have the potential to repair and regenerate the tissue damage and tissue loss experienced in this study. The tissue scaffolds produced by freeze drying, which is the first method, are intended to provide the desired scaffolding properties and be double layered. The tissue scaffolds produced by the second method, solvent casting and particulate leaching, are intended to provide the desired scaffolding properties and release drugs. In both methods, polycaprolactone (PCL) was preferred as the main material in scaffold production. PCL is a biocompatible and biodegradable polymer for tissue formation. Chitosan (CHI) was preferred as the copolymer to support the structure of PCL in the freeze-drying method. Different amounts of carbon nanotubes (CNT) were added to this composite structure to provide support and create a double-layer structure. Acetic acid (AA) was preferred as the solvent. 5% (w/v) PCL and 1% (w/v) CHI were used in all four different mixtures. CNTs were added as 0% (w/v), 0.005% (w/v), 0.01% (w/v) and 0.02% (w/v), respectively. Four different 20 mL solutions were prepared by pouring PCL, CHI into four different AA solvents. Freeze drying (lyophilization) method was applied to the solutions. The prepared solutions were frozen at -20°C. The frozen solutions were then placed in the lyophilizer, where the pressure was reduced by a vacuum pump for the lyophilization process. The solutions were kept in the lyophilizer at -60 °C for ten days. The samples coming out of the lyophilizer were left to dry for two days, and after drying, double-layered tissue scaffolds were produced. SEM was examined to examine the pore structures of these produced double-layer tissue scaffolds, FTIR to characterize organic and inorganic compounds, XRD to verify the chemical structures of the scaffolds, and contact angle and free surface energy analyzes to control the wettability of the scaffold surfaces. The porosity of the surfaces was determined by SEM. Characteristic peaks were observed for the materials with FTIR analysis. PCL was characterized by XRD, and the wettability of the scaffold was measured by contact angle and free surface energy analysis. By contact angle measurement, it was determined that the scaffold was hydrophilic. In literature reviews, it has been determined that tissue scaffolds must have a surface energy of at least 40 mN/m to adhere to the tissue. Their free surface energy is over 40 mN/m. As a result of the analysis, it was determined that a double-layer tissue was successfully produced. In the second study, the solvent casting and particulate leaching method, Polyethylene Glycol (PEG) was used in addition to PCL and Polylactic Acid (PLA) was added to the solution at different rates. PLA was preferred because it has a biocompatible hydrophobic polyester structure. PEG is a hydrophilic, uncharged, non-volatile, and colorless polymer. Since PCL-PEG performed better than PCL in studies, PEG polymer was added to the structure of PCL polymer. Chloroform, the common solvent of these polymers, was preferred as the solvent. Four different solutions were

created using PCL, PLA, and PEG. The PEG ratio was kept constant, and the amount of PLA and PCL was changed proportionally. The first solution was prepared using 14% (w/v) PCL, 14% (w/v) PEG, and 72% (w/v) CHCL₃. This mixture was allowed to dissolve in the magnetic stirrer. After half an hour, a homogeneous mixture was obtained and completely dissolved. The second mixture was prepared using 13.3% (w/v) PCL, 0.7% (w/v) PLA, 14% (w/v) PEG, and 72% (w/v) CHCL₃. The mixture was stirred in a magnetic stirrer for 2-3 hours and a homogeneous mixture was obtained. The third mixture was prepared using 12.6% (w/v) PCL, 1.4% (w/v) PLA, 14% (w/v) PEG, and 72% (w/v) CHCL₃. The mixture was stirred in a magnetic stirrer for 2-3 hours and a homogeneous mixture was obtained. The fourth sample was prepared using 11.9% (w/v) PCL, 2.1% (w/v) PLA, 14% (w/v) PEG, and 72% (w/v) CHCL₃. The mixture was stirred in a magnetic stirrer for 2-3 hours and a homogeneous mixture was obtained. Solvent casting and particulate leaching methods were applied to these prepared solutions. A total of 24 g of salt was added to the solutions and mixed for 15 minutes in a magnetic stirrer. The solutions were released in a fume hood for 24 hours. Then, distilled water was added to the solutions, and they were kept in water for 60 hours. The water of the solutions was changed every 12 hours. Soaking the solutions in water is designed to dissolve NaCl and PEG. Then, the samples taken from the water were dried in air for 2 days and four different tissue scaffolds were produced. SEM was performed to examine the pore structures of the produced tissue scaffolds, FTIR to characterize organic and inorganic compounds, swelling analysis for water retention capacities, contact angle and free surface energy to control the wettability of the scaffold surfaces, and drug release analysis to observe drug transport. Porosity in the scaffolds was provided by sodium chloride porogens and PEG, but when SEM images were examined, it was seen that not all porogens could be removed from the scaffolds. It was observed that all characteristic peaks of the components were seen in the FTIR spectrum. In the swelling test, the scaffold with the highest swelling ratio was the scaffold containing 11.9% PCL/2.1% PLA/PEG, and the swelling ratio increased with the increase in polylactic acid ratio. The scaffold with the best contact angle is the scaffold containing 14% PCL/PEG. Studies have determined that tissue scaffolds must have a surface energy of at least 40 mN/m to adhere to the tissue. The calculated free surface energy value of the produced tissue scaffolds is close to this value, with 35.1-38.8 mN/m. When the %DOX release graph of the tissue scaffolds drawn because of the drug release analysis was looked at, it was observed that the drug was released in four samples starting from the 1st hour and reached 100% at the 720th hour. When we look at the two different methods used in tissue scaffolding, it has been determined that the scaffold structure produced by the freeze-drying method is closer to the desired scaffold structure. The use of PLA alongside PCL in the solvent casting and particulate leaching method increased the hydrophobic properties of the scaffold to be produced. In this thesis study, the most suitable tissue scaffold production for the desired purpose was achieved by the freeze-drying method, both in terms of material and method.

1. GİRİŞ

Her yıl yaşanan kazalar, travmalar ve yaralanmalar sonucu insanlarda doku hasarı ve doku kaybı meydana gelmektedir (Zheng ve ark, 2018). Hasarlı dokular; otogreftler, allogreftler ve ksenogreftler gibi donör greft dokuları kullanılarak yenilenir. Ancak bu yenileme işlemi için klinik uygulamalar sınırlıdır çünkü donör sayısı yetersiz kalmaktadır. Doku mühendisliği, kayıp veya hasarlı dokuları onarmayı ve yeniden modellemeyi amaçlayan mühendislik ilkelerini uygulayan, disiplinler arası bir alandır (Caddeo ve ark, 2017; Langer ve Vacanti, 1993). Son yıllarda doku mühendisliği oldukça gelişmektedir. Doku mühendisliği yaklaşımı ile doku ve organların işlevlerini yerine getirebilecek doku iskeleleri geliştirmek için yoğun araştırmalar yapılmaktadır (Wang ve ark, 2021).

Doku mühendisliğinin; hücreler, biyosinyal molekülleri ve doku iskeleleri olmak üzere üç temel bileşeni vardır (Murphy ve ark, 2013). Bu tez çalışmasında üretimi yapılacak doku iskelesi doku mühendisliğinin en önemli bileşenidir. Doku iskeleleri, hücre dışı matrisin (ECM) yapısını taklit eder ve böylece normal doku oluşumuna yardımcı olur (Ikada, 2006; Langer ve Vacanti, 1993). Doku iskeleleri; hücre yapışması, üremesi, çoğalması ve göçü için üç boyutlu bir kültür ortamı sağlayan doku iskeleleri ve iskeleye ilaç yüklendiği zaman ilacın uzun süreli salınımına izin veren ilaç salınım iskeleleri olmak üzere iki gruba ayrılır (Sokolsky-Papkov ve ark, 2007).

Doku mühendisliğinin temel amacı, dokuyu en iyi şekilde taklit eden bir doku iskelesi tasarlamaktır (Eltom ve ark, 2019). Bu nedenle doku iskelesi üretilirken seçilen malzemeler biyouyumlu olmalı ve vücuda yerleştirildiğinde iltihaplanma ve pıhtı oluşumu gibi doku reaksiyonlarına neden olmamalıdır (O'Brien, 2011). İskele üzerinde ilaç dağılımı homojen olmalıdır (Sokolsky-Papkov ve ark, 2007).

Doku mühendisliği yaklaşımı ile şekillenen yapay doku ve organlarda, hücrel ve yapısal destek sağlayan malzemelere biyomalzemeler denilmektedir (Karakeçili ve Arıkan, 2012). Biyomalzemeler; metaller, seramikler, polimerler ve kompozit malzemelerdir (Salgado ve ark, 2004). Bu çalışmada doku iskelesi üretimi için çoğunlukla polimerler tercih edilmiştir. Doku mühendisliğinde, dokuyu geliştirmek ve

doku iskelesi oluşturmak için doğal polimerler ve sentetik polimerler kullanılır (Puppi ve ark, 2010). Doğal polimerler; biyouyumludur, kolay işlenir, dokuların doğal ECM'sine daha yakın bir yapıyı taklit eder, hücre yapışmasını sağlar (Armentano ve ark, 2010). İlk çalışmada kitosan doğal polimer olarak tercih edilmiştir. Sentetik polimerler ise belirli koşullar altında üretilir ve biyolojik olarak inerttirler. Bu polimerlerin avantajları özelliklerinin tahmin edilebilir olması ve istenilen uygulamalar için uyarlanmış farklı türevlerden oluşturulabilmeleridir (Nair ve Laurencin, 2007). Yapılan iki çalışmada da polikaprolakton ortak sentetik polimer olarak tercih edilmiştir. Bunun yanı sıra yapılan ikinci çalışmada polilaktik asit ve polietilen glikol tercih edilmiştir.

Dokular, insan vücudunda üç boyutlu yapılar tarafından organize edilir. Bu dokuları tasarlamak ve hücre dağılımını kolaylaştırmak için farklı yöntemlerle doku iskelelerinin üretilmesi gerekmektedir (Baldwin ve Saltzman, 1998). Doku iskelelerin üretiminde kullanılan farklı yöntemler vardır. Bu yöntemlere Dondurarak kurutma, çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma, elektrospining ve gaz köpüklenmesi örnek verilebilir (Lu ve ark, 2013; Subia ve ark, 2010). Bu tez çalışmasında dondurarak kurutma, çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi ile doku iskelesi geliştirilmesi tercih edilmiştir.

1.1. Tezin Kapsamı

Bu tez çalışması kapsamında iki farklı yöntem kullanarak doku iskelesi üretimi hedeflenmiştir. Bu amaca yönelik seçilen yöntemler; dondurarak kurutma ve çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemleridir. Bu çalışma kapsamında iki farklı üretim yöntemi içinde ana malzeme olarak Polikaprolakton tercih edilmiştir. Seçilen ilk yöntem olan dondurarak kurutma ile çift katmanlı dört farklı doku iskelesi üretimi yapılması hedeflenmiştir. Üretimi yapılan doku iskelelerin karakterizasyonlarının ise SEM, FTIR, XRD, temas açısı ve serbest yüzey enerjisi gibi farklı analizlerle incelenmesi hedeflenmiştir. Seçilen ikinci yöntem olan çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi ile de dört farklı doku iskelesi üretimi yapılması hedeflenmiştir. Üretimi yapılan doku iskelelerin karakterizasyonlarının ise SEM, FTIR, Temas Açısı ve serbest yüzey enerjisi, şişme analizi gibi farklı analizler ile incelenmesi ve ilaç salınım analizi yapılması hedeflenmiştir.

1.2. Tezin Amacı

Bu çalışmanın amacı, doku hasarını ve doku kaybını onarma ve yenileme potansiyeline sahip iki farklı yöntem kullanılarak bir doku iskelesinde olması gereken optimum özelliklere sahip polikaprolakton bazlı farklı doku iskelesi geliştirmektir. İlk yöntem olan dondurarak kurutma ile üretilen doku iskelelerinin istenilen iskele özellikleri sağlanması ve çift katmanlı olması amaçlanmıştır. İkinci yöntem olan çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi ile üretilen doku iskelelerinin ise istenilen iskele özellikleri sağlanması ve ilaç salınımı yapması amaçlanmıştır.

1.3. Literatür Araştırması

Bu bölümde bu tez çalışması kapsamında olan konular hakkında literatür bilgisi verilmiştir. İlk olarak doku mühendisliği ve tezin ana konusu olan doku iskelesi hakkında bilgiler verilmiş ve bu çalışmanın amaçları olan çift katmanlı doku iskelesi ve ilaç salınımı konuları hakkında bilgiler verilmiştir. Daha sonra doku iskelesinin sahip olması gereken özellikler, doku iskelesi üretiminde kullanılan malzemeler hakkında bilgi verilmiştir. Biyomalzemeler konusunda ayrıca bu tez çalışmasında kullanılan malzemelerde açıklanmıştır. Daha sonra doku iskelesi üretiminde kullanılan yöntemler açıklanmıştır. Bu çalışmada kullanılan dondurarak kurutma ve çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi de anlatılmıştır.

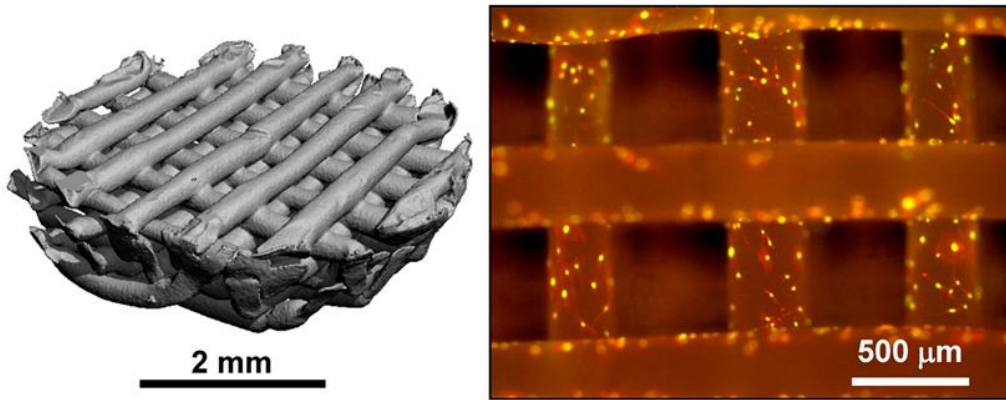
1.3.1. Doku mühendisliği ve doku iskelesi

Doku mühendisliği; dokularda meydana gelen hasarı onarmak ve yenilemek, dokuyu iyileştirmek ve dokunun işlevini devam ettirmek için mühendislik yöntemlerini kullanan çok disiplinli bir alandır (Top ve Gökçe, 2020). Doku mühendisliği alanında yapılan ilk uygulama 16 yy.'da "İmplantasyon Yoluyla Kusurların Cerrahisi" adıyla Bologna Üniversitesi'nde yapılmıştır. Bu çalışmada burun protezi anlatılmıştır (O'Brien, 2011). Dünya genelinde doku kayıpları ve organ yetmezliği, organ nakli için mevcut dokulardaki eksiklik nedeniyle meydana gelen önemli sağlık sorunlarından biridir. Doku mühendisliği, üç boyutlu (3B) biyomalzemelerin, hücre dışı matrisin yapısını taklit etmek için kullanılması ile hasarlı dokuların tedavisinde yeni bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır (Khan ve ark, 2024). Doku mühendisliğinin en temel amacı hasarlı dokuları onarmak ve dokunun yeniden oluşumuna yardımcı olmaktır (Eldeeb ve ark, 2022). Doku mühendisliği uygulamaları; deri dokusunda (yara iyileşmesine yardımcı), merkezi ve çevresel sinir sistemi tedavilerinde, kıkırdak ve kemik dokusu

tedavilerinde, kalp damar hastalıklarında (kalp kapakçıkları, kalp kası dokusu ve kan damarları) ve diş ya da göz ile ilgili sorunların çözümünde kullanılan dokuları içermektedir (Can ve Ersoy, 2014; Gümüşderelioğlu, 2010).

Doku mühendisliğinin; hücreler, biyosinyal molekülleri ve doku iskelesi olmak üzere üç temel bileşeni vardır (Ikada, 2006). Hücreler; çalışmanın amacına uygun olarak seçilirler. Seçilen hücreler, doku iskelesinin yapısına ekilirler ve böylece gerekli doku oluşumunu sağlarlar (Murphy ve ark, 2013). Canlı türünün farklılığına göre doku mühendisliği alanında uygulanabilen hücreler; otolog, allojenik ve ksenojenik olarak sınıflandırılırlar. Otolog hücreler, hastanın kendisine ait olan hücreler; allojenik, hücreler hasta dışındaki insanlara ait hücreler ve ksenojenik hücreler ise hayvan kökenli hücrelerdir (Ikada, 2006). Biyosinyal molekülleri; yeni doku oluşumuna, yapışma, üreme farklılaşma ve göç gibi hücresel işlemlere yardımcı olurlar (Gümüşderelioğlu, 2010).

Doku iskeleleri üç boyutlu ve gözenekli bir yapıya sahiptir. Şekil 1.1.'de 2 mm gözenek boyutuna sahip üç boyutlu gözenekli yapıda olan üç boyutlu bir doku iskelesi örneği mevcuttur. Doku iskeleleri, hücreler arası bağın oluşturulmasını sağlarlar ve hücre dışı matrisin yapısını taklit ederler. Doku oluşumunu desteklerler, doku büyümesi ve gelişimi için ve kontrollü ilaç salınımında kullanılırlar (Ikada, 2006; Sokolsky-Papkov ve ark, 2007; Top ve Gökçe, 2020).



Şekil 1.1. Doku iskelesi (Simon, 2021).

Hastanın kendisinden, hastanın yakınından veya bir başka kaynaktan alınan hücreler, doku hasarına uygun olarak tasarlanmış doku iskelesine ekilir. Biyosinyal molekülleri ve gerekli besin maddeleri ile laboratuvar ortamında oluşturulan hücreler doku iskelesine yapışır, çoğalır ve kendi hücre dışı matrislerini sentezleyerek doku

oluşturmaya başlarlar. Bu sırada doku iskelesi de bozunmaya başlar. Yeterli miktarda hücre dışı matris oluştuğunda doku iskelesinin tamamen yok olması gerekir. Elde edilen doku parçası hasarlı bölgeye yerleştirilerek tedavi başlatılır (Gümüşderelioğlu, 2010).

1.3.2. İki (çift) katmanlı doku iskelesi

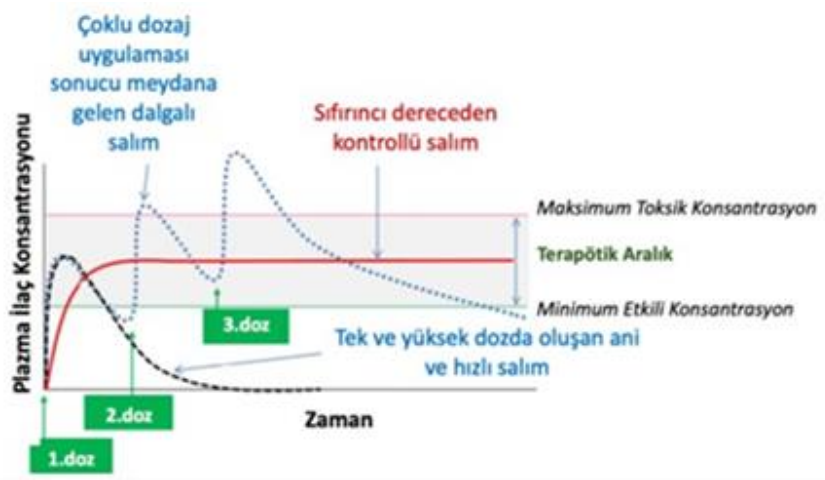
Doku iskelelerinde, aynı anda iki farklı özelliğin tek bir iskelede oluşturulması oldukça zordur (Guo ve ark, 2023). Bu sebeple doku mühendisliğinde farklı hücre tiplerinin görevlendirilmesini ve işlevlerinin yeniden sağlanması için iki veya daha fazla doku katmanlı doku iskelesi oluşturabilir. Dokuda meydana gelen hasarlar, her biri farklı hücresel organizasyonlara sahip iki veya daha fazla doku katmanlı olan doku iskeleleri ile onarılırlar (Garrison ve ark, 2021).

1.3.3. Doku iskelesinde ilaç salınımı

Doku mühendisliği uygulamalarında doku iskeleleri, doku büyümesinin desteklenmesi ve uyarılmasının yanı sıra Soares ve ark yaptığı Levofloksasin/İbuprofen gibi ilaç salınım çalışmaları da son yıllarda kullanılmaktadır (Soares ve ark, 2023; Sokolsky-Papkov ve ark, 2007). Kontrollü ilaç salınımı; ilacın vücuttaki hedeflenen bölgeye yeterli süre içinde kontrol edilebilir miktarda verilmesidir (Zamani ve ark, 2013). İdeal bir ilaç salınım sisteminin klinikte kullanılabilmesi için ilaç taşıyıcı doku iskelesinin; biyoyumlu ve biyobozunur özelliklere sahip olması, doku iskelesinde kullanılan malzemenin mekanik kuvveti, gözenekli yapısı ve morfolojisi dikkate alınmalıdır (Preethi ve ark, 2020). Kontrollü ilaç salınım mekanizması doku iskelesinde, yeni doku oluşumunu ve hasarlı dokunun onarılmasını daha da kolaylaştırır. Kontrollü ilaç salınımında; hastanın daha az ilaç alması, fazla dozların azaltılması veya ortadan kaldırılması sağlanır.

İlaç konsantrasyonunun doz uygulamasına göre değişimi şekil 1.2.'de gösterilmiştir. Kandaki ilaç miktarının sabit kalması için sürekli olarak aynı dozda ilaç uygulaması yapılması gerekmektedir. Kontrollü ilaç salınımı ile ilaç taşıyıcı sistemlerde ilacın istenilen dozu alındıktan sonra kandaki değeri sabit kalır. Böylece hastaya artarda ilaç verilmesi engellenmiş olur. İlaç taşıyıcı sistemin amacı; istenilen anatomik bölgeye tedavi edici bir ilaç salınımı yapmak ve istenilen süre zarfında tedavi edici bir düzeyde ilaç konsantrasyonunu sağlamaktır (Eskitoros Toğay, 2018). İlaç salınımında kullanılacak olan ilaç, tek ve yüksek dozda uygulandığı zaman ilaç konsantrasyonu

toksik olacak düzeyde maksimuma ulaşmış sonrasında aniden minimuma düşebilir. Bu durumda tedavi için çoklu doz uygulanmasının yapılması gerekebilir (Aytuğlu, 2021).



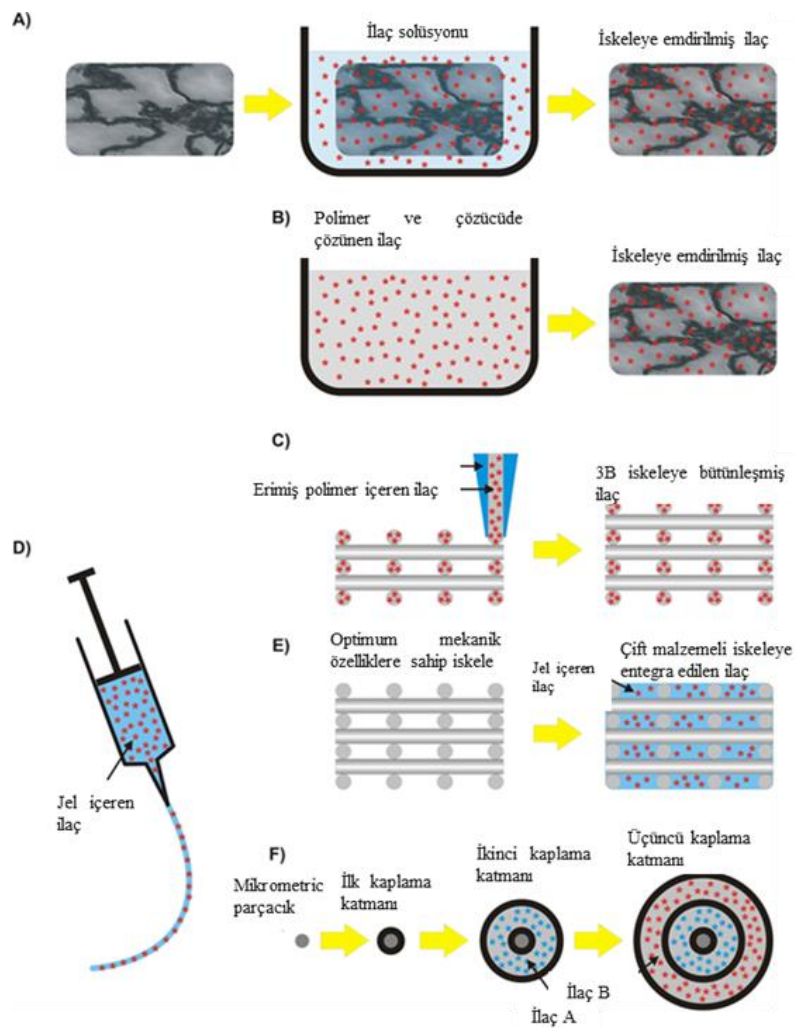
Şekil 1.2. İlaç konsantrasyonunun doz uygulamasına göre değişimi (Aytuğlu, 2021).

İlacın fiziksel veya kimyasal olarak iskele yüzeyine bağlanması önemlidir. Yüzey bağlanması ile ilacın doğrudan iskele içinde kapsüllenmesi veya ilaç salınım sistemlerinin iskele üzerine dahil edilmesi yoluyla kontrollü ilaç salınımı gerçekleştirilebilir. İlacın iskele ile düşük miktarda bağlanması ilacın erken salınmasına sebep olabilir. İlacın iskele ile yüksek bağlanması ise ilacın salınımını engeller ya da ilacın dozunun yetersiz kalmasına neden olur (Zielińska ve ark, 2023).

İlaç salınımında sentetik polimer esaslı biyomalzemeler taşıyıcı olarak tercih edilmektedir. Burada amaç ilaç tedavisinin etkinliğini arttırmaktır (Eskitoros Toğay, 2018). İlaçlar doku iskele yapısına dahil edildiğinde, polimerin bozulması ilacın salınım kinetiğini belirler. İskele duvarları ilaçla doyurulur ve polimer bozunduğunda ilaç salınımı gerçekleşir. İskele yüzeyleri polimer/ilaç tabakası ile kaplandığında salınım, kaplama polimerinin difüzyonu ve bozulması ile kontrol edilir (Rambhia ve Ma, 2015). Salınan ilacın miktarı ve salınma süresi; malzemenin bileşimi, salınım sistemi veya ilaç bütünleşme yöntemleri değiştirilerek kontrol edilebilir. İlaçların kontrollü iskeleden salınımı, yenilenme sürecini hızlandırabilir ve vücuttaki istenmeyen etkilerin vücuttan kaldırılmasına yardımcı olur. İlaçların etkili olabilmeleri için minimum bir eşiği geçmeleri gerekir. Kontrollü salınımındaki zorluklar, doku iskelesinin mekanik veya yapısal özelliklerine ve ilacın kendisine zarar vermeden ilacın salınımını hassas bir şekilde ayarlamaktır (Aytuğlu, 2021).

Deri, sinir, kalp, kan damarları, kemik, kırık, kas-iskelet sistemi, diş gibi alanlarda iskelelerden ilaç salınımı kontrol edilir ve ayrıca kanser tedavisi için ilaç salınımı gerçekleştirilir (L. Li ve ark, 2022).

İlaçların iskelelerden hedeflenen alana kontrollü bir şekilde salınmasını sağlamak için farklı yöntemler mevcuttur (Şekil 1.3.). Bunlar; iskelenin ilaca daldırılması yöntemi, iskelenin solvent bazlı işlenmesi sırasında ilaç entegrasyonu, ilaç içeren katmanlı üretim yöntemi, enjekte edilebilir jel içeren ilaç ile salınım yöntemi, mekanik olarak stabil katı iskelenin ilaç içeren kombinasyonu, katman katman işlem sırasında iki farklı ilacın hapsedilmesi yöntemleridir.



Şekil 1.3. İlaç salınım yöntemleri a) İskelenin ilaca daldırılması yöntemi, b) iskelenin solvent bazlı işlenmesi sırasında ilaç entegrasyonu, c) ilaç içeren katmanlı üretim yöntemi d) enjekte edilebilir jel içeren ilaç, e) mekanik olarak stabil katı iskelenin ilaç içeren kombinasyonu, f) katman katman işlem sırasında iki farklı ilacın hapsedilmesi (Costa, 2015).

İlaç salınım yöntemlerinden en kolayı iskelelerin ilaca daldırılması ile yöntemidir (Şekil 1.3.a). Bu yöntemde doku iskelesi belirli miktarda ilaç içeren çözeltiye daldırılır (Farzin ve ark, 2019). Bu daldırma işlemi ile iskelelerin yüzeyleri üzerinde bir ilaç kaplaması oluşur.

Kullanılan ikinci yöntem ise iskelelerin solvent bazlı işlenmesi sırasında ilaç entegrasyonudur. İmalat sırasında ısıya dayalı veya solvent bazlı işlemler aracılığıyla ilacın iskele malzemesine entegre edilmesi yöntemidir (Şekil 1.3.b).

Kullanılan üçüncü yöntem ise katmanlı üretim yöntemidir (Şekil 1.3.c). Bu yöntem, ilaçların ve ilaç yüklü malzemelerin iki boyutlu ve üç boyutlu modellerinin hassas bir şekilde basılmasını sağlar. İlaçların konumunun, dozunun ayarlanması ve hedef bölgelere olan mesafelerin kontrolü bu yöntemle sağlanabilmektedir.

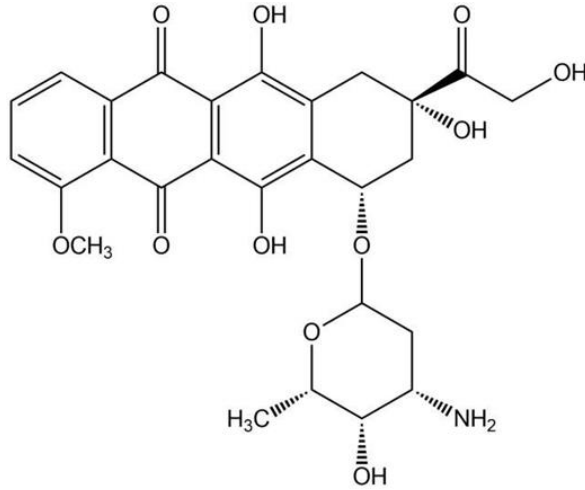
Kullanılan dördüncü yöntem ise enjekte edilebilir jel içeren ilaç ile salınım yöntemidir. Bu yöntemde hidrojeller kullanılır. Hidrojeller enjekte edilebilir bir formda uygulanma olanağı tanıdığı için ilaç hedeflenen bölgeye kolayca yerleştirilir (Şekil 1.3.d). Böylece cerrahi bir işleme gerek kalmadan ilaç hedeflenen bölgeye yerleşmiş olur.

Kullanılan beşinci yöntem ise mekanik olarak stabil katı iskelelerin ilaç içeren kombinasyonu yöntemidir (Şekil 1.3.e). Kemik dokusu benzersiz biyomekanik özelliklere sahip olmasından dolayı taklit edilmesi zordur. Özellikle yük taşıyan alanlarda doku mühendisliği yaklaşımı ile oluşturulan iskelede iki ya da daha fazla malzeme kombinasyonu gereklidir. Bu kombinasyonda bir malzeme gerekli mekanik özellikleri sağlamakla görevliken, diğer malzeme yakın çevresine yenileme sürecini destekleyen ilaçların salınımını gerçekleştirir. Yenilenecek alanların yük taşımadığı ve malzemelerin ve iskelelerin mekanik özelliklerinin kritik olmadığı durumlarda, form ve işlevsellik açısından daha çok yönlü malzemelerin kullanılması mümkün hale gelir. Bu tür malzemelerin iyi örnekleri çoğunlukla sudan oluşan ve kolayca ilaç yüklenebilen hidrojellerdir. Hidrojel yalnızca oluşan kemik kusurlarını doldurmak için değil, en önemlisi yeni kemik oluşumu sırasında vaskülarizasyonu desteklemek için kullanılmaktadır.

İlaçların kontrollü salınımında son olarak kullanılan yöntem, katman katman işlem sırasında iki farklı ilacın hapsedilmesi yöntemidir (Şekil 1.3.f). Bu yöntemde malzemeler belirli bir yüzey üzerinde bozunabilir ve kaplama katmanlarının oluşmasını sağlar. İlaçlar, bu esnada çeşitli katmanlar arasında sıkışıp kalabilir.

Hücreler, çeşitli katmanlarını bölgesel olarak bozduklarından dolayı, implantasyon üzerine kontrollü ve sıralı bir şekilde salınabilirler. Bu yöntem implantlarla ilişkili aşınmaya bağlı iltihaplanma gibi yan etkileri azaltmak için, ortopedik implantlara uygulanabilir (Costa, 2015).

Bu çalışmada ilaç olarak kullanılan şekil 1.4.'te kimyasal yapısı verilen Doksorubisin (DOX)'dir. Bu ilaç yaygın olarak bazı lösemi hastalığının, mesane, meme, mide, akciğer, yumurtalık, tiroid ve diğer kanserlerin tedavisinde kemoterapik ajan sınıfından olan antibiyotik olarak kullanılmaktadır (Balan, 2021; Doustgani, 2017). En ciddi yan etkisi ise kalp yetmezliği ile sonuçlanabilen kardiy toksisitedir. 543.52 g/mol molekül ağırlığına sahip, kırmızı renkte ve ışığa karşı duyarlı bir ilaçtır (Balan, 2021).



Şekil 1.4. Doksorubisinin yapısı (Skalová ve ark, 2020).

1.3.4. Doku iskelesinin sahip olması gereken özellikler

Doku iskelelerinin biyolojik yönü, yapısı ve kimyasal bileşimi ile ilgili kendine özel özellikleri vardır (Eltom ve ark, 2019). Bunlardan başlıcaları; biyoyumluluk, biyobozunurluk, gözeneklilik, mekanik dayanımdır.

Biyoyumluluk: Doku mühendisliğine üretilen doku iskelesinin en önemli özelliği biyoyumlu olmasıdır (O'Brien, 2011). Doku iskelesi biyoyumluluğu sağlamak için uygun yüzey kimyasına sahip olmalıdır. İskele vücuda yerleştirildikten sonra vücut tarafından reddedilmeye sebep olabilecek ciddi bir inflamatuvar tepkiye neden olmasını önlemek için ihmal edilebilir bir bağışıklık reaksiyonu ortaya çıkarmalıdır ve iltihaplanmaya neden olmadan hücre bağlanmasına ve büyümesine izin vermelidir (Flores-Rojas ve ark, 2023; O'Brien, 2011). Bir dokuya implante edilecek iki katmanlı

bir doku iskelesinin biyouyumluluğu için iki katmanında bulunan malzemelerin implantasyon bölgesini çevreleyen doku arayüzlerinde toksik veya inflamatuvar reaksiyonlara neden olmaması gerekir (Vaiani ve ark, 2023).

Biyobozunurluk: İskeleler, zamanla vücudun kendi hücrelerinin implante edilen iskelenin yerini almasına izin verecek şekilde tasarlanmışlardır ve kalıcı değildirler. Bu sebeple iskelenin, hücrelerin kendi hücre dışı matrislerini üretmesine izin verecek şekilde biyolojik olarak parçalanabilir yani biyobozunur olması gerekir (O'Brien, 2011).

Gözeneklilik: Doku iskeleleri için bir diğer önemli özellik ise iskelenin gözenekli bir yapıya sahip olmasıdır. Bu gözenekli yapı; hücre oluşumu, doku yenilemesine ve doku büyümesine yardımcı olur ve belirli bir süre boyunca mekanik stabiliteyi korur. Gözenekli yapı ayrıca besin taşınması, hücre temizliği ve hücre atıkların uzaklaştırılmasını sağlar. Doku iskelesinde oluşan gözeneklerin boyutu ve yapısı hücre tipine bağlı olarak değişebilir (Flores-Rojas ve ark, 2023). Hücreler, malzeme yüzeyinde bulunan kimyasal gruplar yani ligandlar aracılığıyla iskelelerle etkileşim meydana getirirler. Ortalama gözenek boyutuna bağlı olarak ligand yoğunluğu, hücrelerin yapışabileceği bir gözenek içindeki yüzeyin alanından etkilenir. Bu sebepten hücrelerin, iskele içinde bulunan ligandlara bağlanacağı yapıya göç etmesine izin verecek büyüklükte ve etkili bağlanmaya izin verecek minimum ligand yoğunluğuna sahip spesifik bir yüzey oluşturacak büyüklükte olması gerekir. Doku iskelesinin gözenek boyutu, dokuya ve hücre tipine göre değişmektedir.

Mekanik Dayanım: Doku iskelelerinin kullanım amacına göre sahip olması gereken özelliklerden biri de mekanik dayanımdır. Doku iskelesinin implantasyon sırasında yeterince mekanik dayanıma sahip olması ve implantasyon sonrasında da bu özelliğini kaybetmemesi gereklidir (O'Brien, 2011). İskele ile yeni oluşan doku arasındaki mekanik özelliklerde oluşabilecek ciddi değişiklikleri en aza indirmek için iskele hedef dokuya benzer mekanik özelliklere sahip olmalıdır. Bu durum istenmeyen doku türlerinin oluşumunu engellemeye yardımcı olur (Flores-Rojas ve ark, 2023).

Doku iskelesinde bu özelliklerin sağlanabilmesi için doku iskelesi üretiminde kullanılan biyomalzemeler ve üretim teknikleri büyük önem taşımaktadır.

1.4. Doku Mühendisliğinde Kullanılan Biyomalzemeler

Doku mühendisliğinin temel amacı, dokuyu en iyi şekilde taklit eden bir doku iskelesi geliştirmektir (Eltom ve ark, 2019). Doku mühendisliği yaklaşımı ile şekillenen yapay doku ve organlarda, hücresel ve yapısal destek sağlayan malzemelere biyomalzemeler denilmektedir (Karakeçili ve Arıkan, 2012).

Doku iskelesi geliştirilmesinde kullanılacak biyomalzemelerin seçimi oldukça önemlidir. Çünkü biyomalzemeler insan vücudunda kullanıldıkları bölgeye göre değişik özelliklere sahiptir ve vücut kullanılan biyomalzemelere karşı farklı tepkiler oluşturmaktadır. Kullanılan bazı biyomalzemeler vücut tarafından kabul edilirken, aynı biyomalzemeler farklı koşullarda vücut tarafından reddedilebilmektedir (Arıkan, 2013). Doku iskelesi üretiminde öncelikli olarak hedef doku için uygun biyomalzeme seçilmesi gereklidir. Uygun olmayan biyomalzeme seçimi vücutta iltihap ve pıhtı gibi istenmeyen reaksiyonlar oluşabilmektedir (Zohora ve Azim, 2014). Biyomalzemelerin geliştirilmesinde hücre ortamının karmaşık yapısından dolayı ve hücrenin doğal ortamının taklit edilmeye çalışılmasından dolayı zorluklar yaşanabilmektedir (Özbek, 2019). Biyomalzemeler; metallere, seramikler, polimerler ve kompozit malzemelerdir (Salgado ve ark, 2004).

1.4.1. Metaller

Metaller (Şekil 1.5.), tıp alanında kemik hasarlarının tedavisine yönelik üretilen implantların yapımında kullanılan bir malzeme türüdür (Gerçek Beşkardeş, 2008). Doku mühendisliğinde titanyum, altın ve paslanmaz çelik gibi metaller kullanılmaktadır. Metaller, mekanik özelliklerinin iyi olması ve korozyona dirençli olmaları, toksik olmamaları ve inert yapıda olmaları sebebi ile biyomalzeme olarak tercih edilmektedir. Metallerin implantasyon bölgesinde enfeksiyona sebep olmaları, biyobozunur yapıda olmamaları ve sınırlı işlenebilirlik sağlamaları biyomalzeme alanında kullanımları için dezavantajlarıdır (Yıldırım, 2018).



Şekil 1.5. Metalik biyomalzemeler (Tandoğan, 2019).

1.4.2. Seramikler

Seramik, ısıya dayanıklı ve inorganik bir biyomalzemedir. Seramikler, implantasyon bölgesinde bulunan dokularla olan etkileşimlerine göre biyo inert ve biyoaktif olarak sınıflandırılabilir. Biyo inert seramik yapıları iskeleler, hücreler ve dokularla aktif olarak etkileşime girmezler. Biyoaktif seramik yapıları ise biyomoleküller, hücreler ve dokularla etkileşime girerler. Hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat, alüminyum oksit ve karbon biyouyumlu seramik malzemelere örnektir. Bu malzemeler; iyi korozyon direnci, osteoiletkenlik, yüksek basma dayanımı ve iyi kemik entegrasyonu gibi özelliklere sahiptirler. Seramik malzemelerin kırılma yapıları, zayıf mekanik özellikleri, yüksek yoğunlukları, düşük çekme gerilimleri, biyobozunur olmamaları ve implantasyon için şekillendirme zorlukları gibi dezavantajları kullanım alanını oldukça kısıtlamaktadır (Suamte ve ark, 2023; Yıldırım, 2018).

1.4.3. Polimerler

Doku mühendisliğinde geniş bir kullanım alanına sahip polimerler, üç boyutlu bir yapı oluşturmak ve dokuyu geliştirmek için biyomalzeme olarak kullanılır. Biyomalzeme olarak kullanılan polimerlerin dokularla uyumlu olmaları için yüzey özelliklerinin fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak doğal dokulara uyumlu olması gerekir. Polimerler doğal polimerler ve sentetik polimerler olmak üzere ikiye ayrılır (Tablo 1.1.).

Tablo 1.1. Polimer türleri.

Doğal Polimerler	Sentetik Polimerler
Polisakkaritler <i>Aljinat,</i> <i>Agaroz,</i> <i>Kitosan (CHI)</i>	Polilaktik Asit (PLA)
Proteinler <i>Kollajen,</i> <i>Jelatin,</i> <i>Fibrin Jel</i>	Poliglikolik Asit (PGA)
	Polikaprolakton (PCL)
	Polietilen Glikol (PEG)

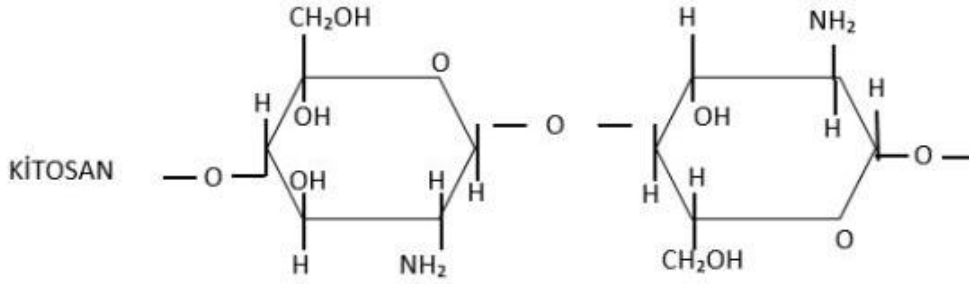
Doğal veya sentetik polimerlerden yumuşak dokuyu oluşturacak doku iskeleleri elde edilebilirken; seramik, polimer veya kompozitlerden sert dokuyu oluşturacak doku iskeleleri elde edilir (Arıkan, 2013).

1.4.3.1. Doğal polimerler

Doğada kendiliğinden oluşan, in vivo ve enzimatik ortamda bozunmaya uğrayan polimerlere doğal polimerler denir (Suamte ve ark, 2023; Yıldırım, 2018). Doğal polimerler, biyoaktif özelliğe sahip olması sebebiyle hücrelerle üstün etkileşimler elde edebilen polimerlerdir (Suamte ve ark, 2023). Kolay işlenebilir olmaları, biyoyumlu olmaları ve dokuların doğal matrisine yakın bir yapıyı taklit edebilmeleri doğal polimerlerin avantajlarından. Zayıf mekanik özellikleri, karmaşık yapıya sahip olmaları, kaynaklarının sınırlı olması ve maliyetinin yüksek olması ise doğal polimerlerin dezavantajlarından (Naderi ve ark, 2011).

Doğal polimerlerden olan kitosan (Şekil 1.6.) doku mühendisliği uygulamalarında doku iskelesi hazırlanmasında sıklıkla kullanılan bir polimerdir. Kitosan; biyoyumlu, biyobozunur, toksik olmayan ve farklı formlarda üretilebilen polimerdir. Kitosan, lineer bir polisakkarit yapısına sahiptir. Kitosanın üretimi ((1-4) bağlı 2-deoksi-2-

amino-β-D-glukopiranoz), kabuklu hayvanların ve böceklerin kabuklarından elde edilen kitinin deasetilasyonu ile gerçekleşmektedir (Tıgılı ve ark, 2007; Weska ve ark, 2007). Kitosan, ilaç salım sistemleri, yumuşak ve sert doku rejenerasyonu, yara tedavisi için doku iskelesi üretiminde kullanılmaktadır. Kitosan yapılarında bulunan amino gruplarının özellikleri sayesinde polimerlerin özelliklerini değiştirebilir (Pillai ve ark, 2009).



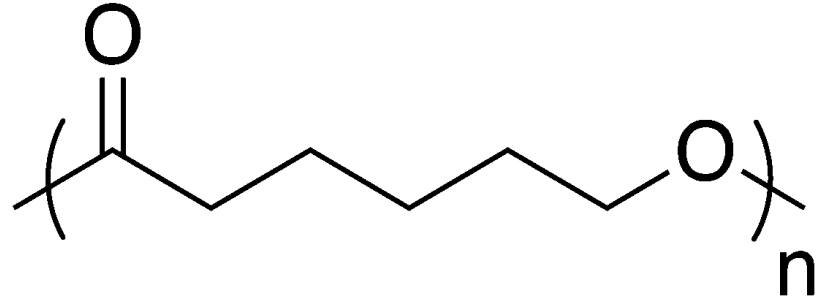
Şekil 1.6. Kitosanın yapısı (Kurtuluş ve Vardar, 2020).

1.4.3.2. Sentetik polimerler

İlaç taşıyıcı sistemler ve doku iskeleleri üretiminde kullanılan biyobozunur alifatik poliesterlere sentetik polimerler denir (Nair ve Laurencin, 2007). Sentetik polimerler, kontrol edilebilir şartlarda üretilen malzemelerdir. Polimerin, fonksiyonel grupların içerikleri değiştirilerek, istenilen mekanik ve fiziksel özelliklere sahip sentetik polimerler üretilebilmektedir. Sentetik polimerler, biyolojik olarak inert yapıya sahiptirler, işlenebilirlik ve esneklik açısından, doğal polimerlerden oldukça üstündürler (Lee ve Shin, 2007; Sheikh ve ark, 2015). Sentetik polimerlerin işlenebilirlik özelliği, üretilecek olan doku iskelesinin gözeneklilik ve bozunma özelliklerinin kontrol edilebilmesini sağlar (Lee ve Shin, 2007). Sentetik polimerlerin; yüksek dayanıklılık, biyobozunurluk, biyouyumluluk, kolay şekillendirme, yüksek gözeneklilik, uzun süreli uygulamalarda kullanım gibi avantajları vardır. Doku mühendisliği uygulamalarında; Poliglikolik asit (PGA), polilaktik asit (PLA), polietilen glikol (PEG) ve polikaprolakton (PCL) gibi polimerler yaygın olarak kullanılan sentetik polimerlerdir. Sentetik polimerler farklı malzeme gruplarıyla bir araya getirilip kompozit bir yapı oluşturarak, doku iskelesinin biyouyumluluğunu arttırmayı amaçlar (Gunatillake ve ark, 2003). Birçok sentetik polimer çeşitli avantajlarından dolayı doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmaktadır.

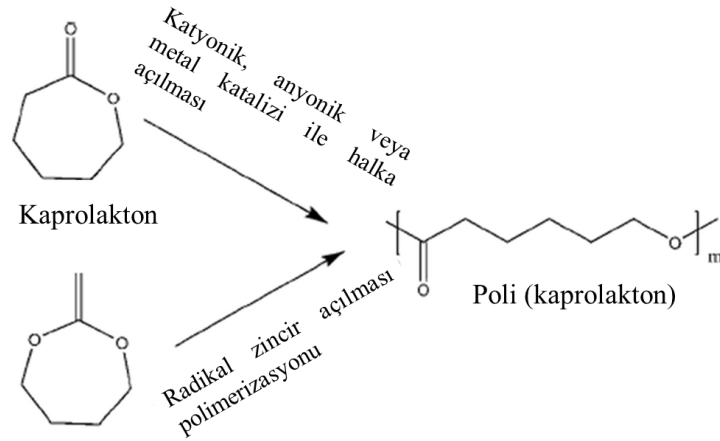
Sentetik bir polimer olan polikaprolakton (PCL) (Şekil 1.7.), doku mühendisliği çalışmalarında hem tek başına hem de diğer polimerlerle birlikte görev alabilmektedir.

PCL; monomeri ϵ -kaprolakton olan, hidrofobik bir yapıda, yüksek termal kararlılığa ve yarı kristal yapıya sahip biyobozunur bir polimerdir.



Şekil 1.7. PCL'nin yapısı (Weyhrich ve ark, 2023).

PCL; anyonik, kationik ve koordinasyon tepkimeleri kullanılarak 170 °C'de ϵ -kaprolaktonun zincir açılımı polimerizasyonu ya da 2-metilen-1-3-dioksepanın serbest radikal zincir açılma polimerizasyonu (Şekil 1.8.) ile oluşur (Guarino ve ark, 2008).

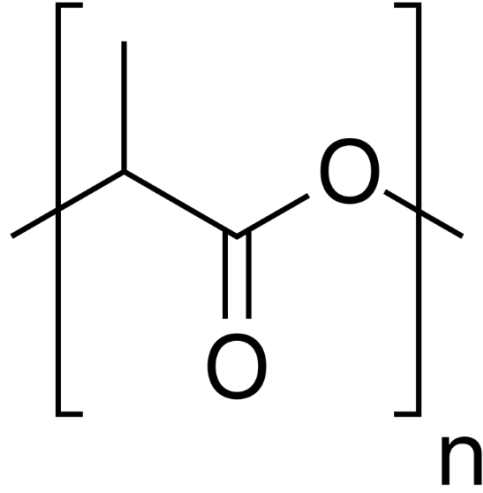


Şekil 1.8. PCL'nin polimerizasyon reaksiyonları (Siddiqui ve ark, 2018).

PCL biyoyumlu bir polimerdir, birçok farklı polimerle uyumlu halde etkileşime girebilir ve fiziksel özelliklerini uzun süre koruyabilirler (Guarino ve ark, 2008; Kweon ve ark, 2003). Bu sebeple doku onarımı uygulamalarında tercih edilir. Ayrıca PCL diğer polimerlere kıyasla terapötik ilaç salımı gibi uygulamalarda yüksek geçirgenliğe sahiptir ve bu nedenle ilaç salınımında oldukça tercih edilir (Pachence ve Kohn, 2000; Woodruff ve Hutmacher, 2010). Gözenekli bir yapıya sahip olması, çözünürlüğünün yüksek olması, uygun mekanik özelliklere sahip olması, kolay parçalanabilmesi ve kolay şekillendirilebilme gibi avantajlara sahiptir (Woodruff ve Hutmacher, 2010).

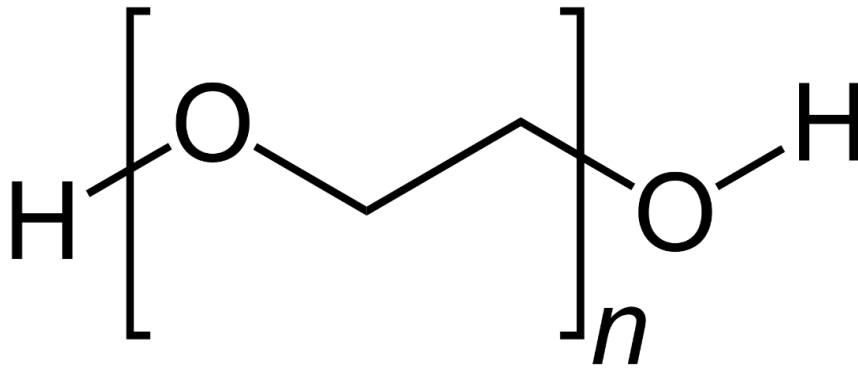
PCL'nin, istenilen özelliklere sahip bir doku iskelesi üretebilmesi için çözücülerle ilişkisi oldukça önemlidir. Çözücülere göre; hücre-polimer etkileşimine katkıda bulunan yüzey morfolojisi, su temas açısı ve yüzey enerjisi gibi birçok özelliğin değiştiği bilinmektedir (Tang ve ark, 2004). Erime noktası (T_m) kristalin yapısına bağlı olarak 59-64 °C arasındadır, camsı geçiş sıcaklığı (T_g) ise -60°C'dir (Sinha ve ark, 2004). Düşük camsı geçiş sıcaklığına sahip olmasından dolayı oda sıcaklığında kauçuğumsu bir yapıya sahiptir. İnsan vücudu gibi fizyolojik koşullar altında yapısındaki ester bağlarının hidrolizi ile bozunma gerçekleştirir. PCL'nin molekül ağırlığı 3.000-100.000 g/mol aralığındadır. Kristal yapısı, molekül ağırlığına ters orantılı olarak etki etmektedir. PCL'nin kristallik oranı arttıkça molekül ağırlığı azalır. PCL'nin, kristal yapısı ve düşük erime sıcaklığına sahip olması daha kolay şekil almasını sağlar (Woodruff ve Hutmacher, 2010). PCL, hidrofobik bir yapıya ve yüksek kristaliniteye sahip olmasından dolayı diğer polimerlere göre daha yavaş bir şekilde bozunmaya uğrar (Kweon ve ark, 2003). Bozunma sıcaklığı (T_{boz}) yaklaşık olarak 350 °C civarındadır. Diğer alifatik polimerlerin bozunma sıcaklığı 235-255 °C civarındadır PCL'nin bozunma sıcaklığı diğer polimerlere göre daha yüksektir (Pachence ve Kohn, 2000).

Bir diğer sentetik polimer türü olan Polilaktik asit (PLA) (Şekil 1.9.); mısır, şeker kamışı ve buğday gibi yenilenebilir ve bitkisel bir kaynağa sahip bir sentetik polimerdir. Hidrofobik ve alifatik bir polimer olmasının yanı sıra uygun ve ekonomik bir polimerdir (Sheikh ve ark, 2015). PLA; termal stabiliteye sahip, biyouyumlu ve toksik olmayan bir polimerdir (Collins ve ark, 2021). PLA'nın erime sıcaklığı (T_m) 155 °C'dir. PLA'nın kimyasal yapısı bozunma hızına ve kristallik derecesine bağlıdır. PLA'nın bozunması hidroliz yolu ile iki aşamada gerçekleşir. Birinci aşamada, ester gruplarının rastgele enzimatik olmayan zincir kesimleri moleküler ağırlıkta bir azalmaya sebep olur. İkinci aşamada ise laktik asit ve düşük molekül ağırlıklı oligomerler doğal olarak karbondioksit ve su elde etmek için mikroorganizmalar tarafından metabolize olana kadar molekül ağırlığını azaltır (Oyama ve ark, 2009). PLA doku mühendisliği uygulamalarında PEG ve PCL ile harmanlanarak elde edilen iskelenin esneklik kazanmasına yardımcı olur. Aynı zamanda PLA iskelenin mekanik özelliklerini de geliştirebilir (Jiang ve ark, 2023).



Şekil 1.9. PLA'nın yapısı (Wikipedia, 2022).

Bir diğer sentetik polimer türü olan Polietilen glikol (PEG) ise hidrofilik yapıda, yüksüz, uçucu olmayan ve renksiz bir sentetik polimerdir (J. S. Park ve ark, 2007). Doku mühendisliği uygulamalarında PEG (Şekil 1.10.) bazlı hidrofilik, çapraz bağlı polimer ile doku iskelesi oluşturulmaktadır. Tek PEG zinciri bağlayıcılar doğrusal PEG zincirlerinin oluştururlar, iki veya daha fazla PEG zinciri bağlayıcıları ise dallanmış PEG zincirlerini oluştururlar. PEG'in avantajları; mekanik özellik, düşük toksisite, düşük ve protein direncidir (Bailon ve Berthold, 1998; B. Q. Li ve ark, 2011; Zhang ve ark, 2002).



Şekil 1.10. PEG'in yapısı (Wikipedi, 2023).

1.4.4. Kompozitler

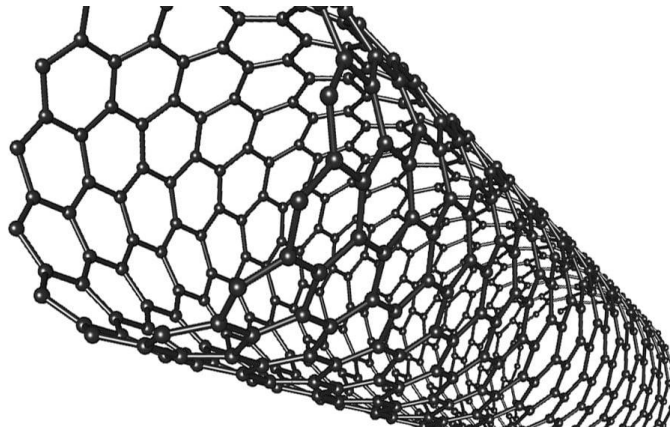
Doku mühendisliğinde birçok biyomalzeme kullanılmaktadır. Ancak kullanılan tek bir malzeme genellikle doku iskelesinin ihtiyaçlarını karşılamakta yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle polimer, seramik gibi iki ya da daha fazla malzemenin bir araya gelmesi ile çok fonksiyonlu kompozit malzemeler oluşturulur (Bose ve ark, 2012). Ayrıca

kompozitler nano boyuttan makro boyuta kadar değişim gösterebilirler. İnsan vücudunda bulunan hücre dışı matris, deri, kemik, ligamentler, tendonlar gibi birçok yapı kompozittir. Kompozit malzemelerin özellikleri; ara yüzeylerin etkileşimlerine, malzemeyi oluşturan bileşenlere ve bu bileşenlerin dağılımlarına göre değişmektedir.

Matris yapılarının nanoboyutta bulunan fiberler ya da partiküllerle oluşturduğu kompozitlere nanokompozitler adı verilmektedir (Ratner, 2013). Nanokompozitlerin hazırlanmasında; karbon nano yapılar, nano hidroksiapatit ve metal nanopartiküller olarak üçe ayrılan nano yapılar kullanılır. Karbon nano tüp, karbon nanofiber ve grafen gibi karbon türevli formlardan oluşan malzemeler ise karbon nano yapılaradır.

Nano kompozit malzemelerden olan karbon nano tüpler (CNT), grafen tarafından oluşturulan silindirik yapılardır. Tek tabakası olan tek katmanlı ve birden çok tabakası çok katmanlı karbon nanotüp olmak üzere iki farklı karbon nano tüp çeşidi vardır (Armentano ve ark, 2010).

Karbon nano tüplerin (Şekil 1.11.) doğal biyolojik yapıların nano ölçeğini taklit etmek için uyarlanabilecek bir yapıya sahip olması, düşük yoğunluklu olmaları ve gelişmiş mekanik özelliklere sahip olmaları doku mühendisliğinde tercih edilmelerinin sebebidir (Cellot ve ark, 2009). Doku mühendisliğinde oluşturulan doku iskelesinde kullanılan polimerin içine karbon nano tüpün eklenmesi oluşacak kompozit malzemenin mekanik dayanımında artışa sebep olur ve polimerlerin fiziksel özellikleri ve performansını güçlendirir (Armentano ve ark, 2010).



Şekil 1.11. Karbon nano tüp (Aslan, 2023).

1.5. Doku İskelesi Üretiminde Kullanılan Yöntemler

İnsan vücudunda üç boyutlu yapılar, hücreler ve dokular tarafından organize edilir. Dokuları tasarlamak ve hücre dağılımına yardımcı olmak için farklı yöntemlerle doku

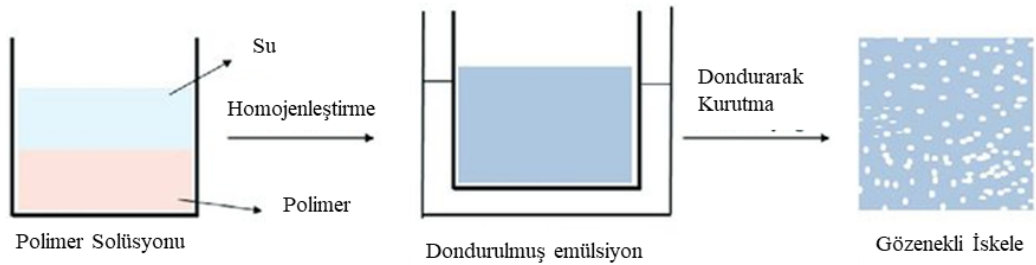
iskeleleri üretilmektedir. Üretilen doku iskelelerinin tasarımı, doku büyümesinin ve dokunun yenilenmesinin sağlanması açısından önemlidir (Vesvoranan ve ark, 2022). Üretilen doku iskeleleri uygun gözenekli bir yapıda olmalı, gözenekli yapının birbiri ile iyi bir birleşimi olmalı, mekanik dayanımları iyi olmalı, uygun bozunma hızına sahip olmalıdır. Bu özellikler biyomalzemenin işleme yöntemine göre farklılık göstermektedir. Seramik ve metal malzemelerin işlenmesi ve bu malzemelere şekil verilmesi zordur. Seramik ve metal malzemeler kullanılarak yüksek sıcaklıklarda işleme ile belirli geometrilerde doku iskelesi üretilir. Polimer malzemeler ise metal ve seramik malzemelere göre daha kolay işlenir. Doku iskelesi üretiminde kullanılan yöntemler geleneksel yöntemler ve serbest katı hal yöntemleri olarak iki gruba ayrılmaktadır (Gerçek Beşkardeş, 2008).

1.5.1. Geleneksel yöntemler

Gözenekli bir doku iskelesi üretimi için kullanılan en yaygın geleneksel yöntemlere; dondurarak kurutma, çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma, electrospinning ve gaz köpüklenmesi örnek verilebilir.

1.5.1.1. Dondurarak kurutma

Ürünün dondurulmasını, basıncın düşürülmesini ve daha sonra süblimasyonla ürün içindeki donmuş suyun çıkarılmasını sağlayan dehidrasyon işlemine dondurarak kurutma (liyofilizasyon) (Şekil 1.12) denir. Bu işlemler düşük sıcaklıkta gerçekleştirilir (Fellows, 2017). Dondurarak kurutma yönteminde düşük sıcaklık kullanılması nedeniyle işlem yüksek kaliteli bir ürünle sonuçlanır ve ürünün orijinal şekli korunur (Fellows, 2017; Ratti, 2001).



Şekil 1.12. Dondurarak kurutma yöntemi ile doku iskelesi üretimi şablonu (Murugan ve Parcha, 2021).

Dondurarak kurutma işlemi uygulanacak ürün bir şişe ya da tepside dondurulur. Suyun üçlü noktasının altında ürüne vakum uygulanır ve buzun süblimleşmesini sağlayacak miktarda ısı enerjisi verilir.

Dondurarak kurutma işlemi üç ana aşamada gerçekleştirilir;

- Ürünün Dondurulması: Ürün ön hazırlık işlemleri tamamlandıktan sonra düşük sıcaklıkta -20°C ile -80°C aralığında ürünün tamamen dondurulup, kristal forma geçmesidir.
- Süblimasyon (Birincil Kurutma): Donmuş olan üründe süblimasyon işleminin gerçekleşmesi için gerekli enerjinin oluşturulmasıdır. En uzun süren aşamadır. Bu aşamada, liyofilizatör adı verilen cihaz haznesi içindeki basınç düşürülür ve dondurma basamağında oluşan buz kristallerinin süblimasyonunu başlatmak adına ısı uygulanır. Cihaz haznesi içindeki basınç vakum pompası aracılığıyla düşürülür.
- Desorpsiyon (İkincil Kurutma): İkincil kurutma aşamasında, ürünü kalıcı şekilde saklanabilir hale getirmek için nem içeriği, mümkün olduğunca azaltılır. Ürünün iç yüzeyinde adsorpsiyon ile tutulan suyun giderilmesi sağlanır. Bunun için, daha yüksek bir sıcaklıkta 20 ila 30°C aralığında ve düşük basınç altında maddenin su buharı desorbe edilir ve tamamen uzaklaştırılır.

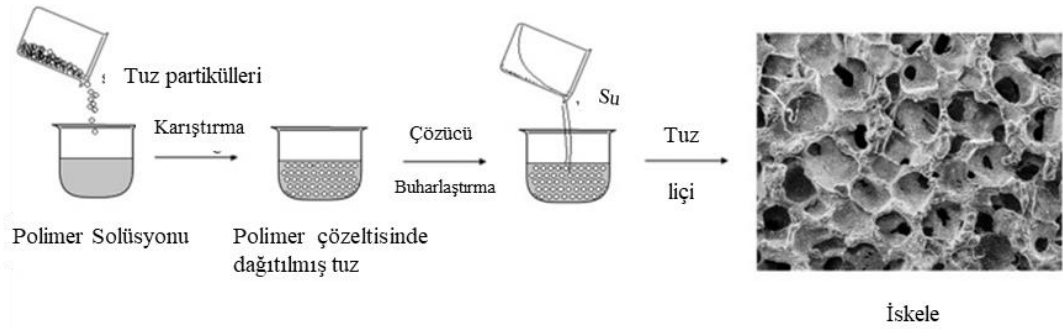
Birincil kurutmanın temel amacı, çözücünün, matrsten süblimasyon yoluyla uzaklaştırılması olmakla birlikte, ikincil kurutmanın temel amacı, ürünün nem içeriğini biyolojik aktivitelerin veya kimyasal reaksiyonların gerçekleşemeyeceği seviyelere düşürmektir (Fellows, 2017; Ratti, 2001).

Bu yöntemin avantajı gözenekleri birbirine bağlı ve uyumlu olan bir iskele üretilmesidir. Dezavantajı ise, sınırlı gözenek boyutunun sahip bir iskele oluşumudur (Karakeçili ve Arıkan, 2012).

1.5.1.2. Çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma

Çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi (Şekil 1.13.) ile gözeneklilik özelliği ve gözenek boyutu kontrol edilebilen doku iskelelerinin üretimi yapılmaktadır (Mikos ve Temenoff, 2000). Bu yöntemde yüksek sıcaklıklara ve özel ekipmanlara gerek yoktur. Bu yüzden oldukça kolay bir yöntemdir (Bülbül, 2019). Bu yöntemde kullanılacak polimerler uygun çözücü içinde çözünür. Daha sonra çözeltinin içine tuz, şeker gibi suda çözünen ve por yapıcı etkisi olan porojenler eklenir ve bir kaba alınır (Mikos ve Temenoff, 2000). Kaba alınan bu çözeltide çözücünün buharlaştırılarak uzaklaştırılması işlemi uygulanır. Çözücü uzaklaştıktan sonra por yapıcı etkisi olan porojenler suyun yardımıyla yapıdan uzaklaştırılır. Bu şekilde çözücü döküm ve

parçacık uzaklaştırma yöntemi ile gözenekli bir doku iskele oluşumu gerçekleştirilir (Langer, 2007). Bu yöntemle elde edilen doku iskelelerinin gözeneklilik oranlarının %50-90 civarındadır (Suamte ve ark, 2023). Ancak gözenekliliği %20-50 olan doku iskelelerin üretildiği gözlemlenmiştir (Vesvoranan ve ark, 2022).



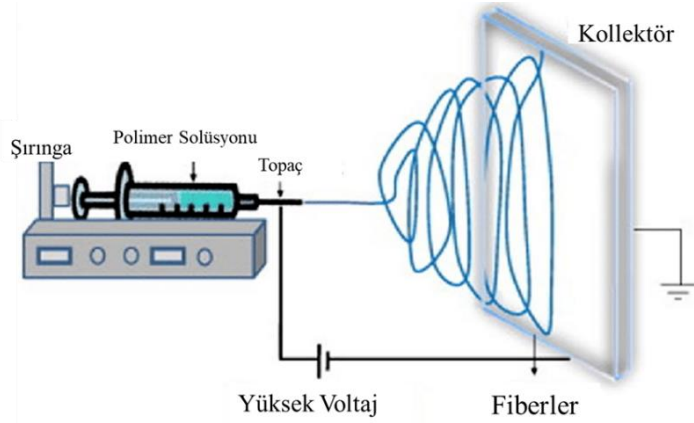
Şekil 1.13. Çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma tekniği şablonu (Janik ve Marzec, 2015).

Bu yöntemin avantajı iskelenin iyi bir kristal yapıya sahip olması ve oldukça kolay bir yöntem olmasıdır (Ma, 2004). Bu yöntemin dezavantajları ise iskelelerin mekanik özelliklerinin sınırlı olması, ince bir yapıda iskele üretilmesidir. Ayrıca iskele üretiminde kullanılan porojenler tamamen çözünmediği için yapıda kalabilmektedir. İnce bir yapıda üretilmesinin sebebi, polimerik çözeltinin çözücünün yapısından uzaklaştırılabilmesi için, yüzeye ince bir tabaka halinde dökülmesidir. Ayrıca yapıdan uzaklaşmayan çözücü kalıntıları da toksit bir etki yaratarak hücrelere ve dokulara zarar verebilir. Çözelti daha kalın dökülürse çözücünün yapıdan uzaklaşması da oldukça zor olur (X. Liu ve Ma, 2004; Suamte ve ark, 2023).

1.5.1.3. Electrospinning

Elektrospinning yöntemi (Şekil 1.14.), elektrostatik kuvvetler kullanılarak nano ya da mikro ölçekli çaplarda lifler ile polimerin fiber yapıda üretilmesidir (Sill ve von Recum, 2008). Bu yöntemde dört temel bileşeni vardır. Bunlar kollektör, yüksek voltajlı güç kaynağı ünitesi, toplama plakası, polimerik materyal içeren bir şırıngadır (Collins ve ark, 2021). Polimerik çözelti damlatılmak üzere şırıngaya yerleştirilir (Eltom ve ark, 2019; Subia ve ark, 2010). Polimerik çözelti ve toplama plakasına güç kaynağı ünitesinden yüksek gerilim uygulandığında damlacığın taylor konisi oluşturmasından sonra elektrospinning gerçekleşir (Gerçek Beşkardeş, 2008). Elektrospinning yönteminde polimerin çözücüsü ve molekül ağırlığı önemlidir. Polimer çözeltisi kollektörde üzerine uygulanan voltaj ile birikir. Çözücünün katılış ya da

buharlaşmasıyla birlikte polimer toplama plakası üzerinde lif şeklinde birikmesiyle iskele üretimi gerçekleşir. Üretilen doku iskelesinin özelliklerini; polimerin ve çözücünün özellikleri, çözeltinin akış hızı, uygulanan voltaj, iğnenin toplama plakasına uzaklığı gibi etkenler oldukça etkiler (Anjum ve ark, 2022).

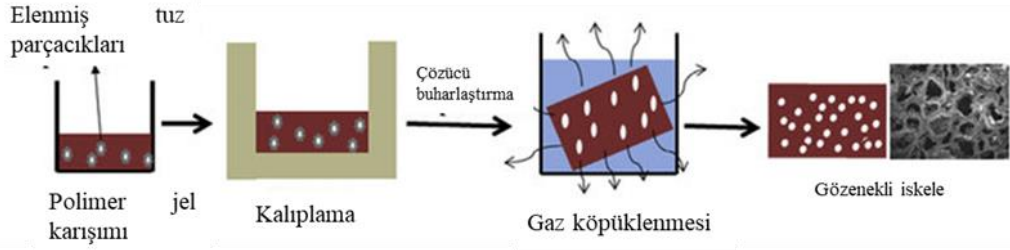


Şekil 1.14. Elektrospinning yöntemi (Mortimer ve Wright, 2017).

Bu yöntemin avantajı; uygun gözeneğe sahip ve kontrol edilebilen gözenek boyutuna sahip iskele üretimidir. Dezavantajı ise sınırlı mekanik özelliklere sahip olması iskele üretilmesi ve artan gözenek boyutu ile lif kalınlığının azalmasıdır (Eltom ve ark, 2019; Subia ve ark, 2010).

1.5.1.4. Gaz köpüklenmesi

Gaz köpüklenmesi yönteminde (Şekil 1.15.) gözenekli bir yapı oluşturabilmek için çözücü yerine gaz kullanılmaktadır. Bu yöntemde yüksek gözeneğe sahip yapılar oluşturabilmek için yüksek basınçlı karbondioksit (CO_2) gazı kullanılır. Gaz köpüklenme yönteminde basınç kalıplama yöntemi ile polimer diskleri üretilir. Daha sonra bir hücreye yerleştirilen polimer diskleri, birkaç gün boyunca yüksek basınç altında CO_2 gazına maruz bırakılır. Böylece polimer gaza doymun hale getirilir ve daha sonra gazın çözülden uzaklaşması sağlanır. Hücre içerisinde bulunan basıncın atmosferik basınca düşürülmesiyle yüksek gözeneklere sahip bir iskele oluşturulmaktadır (Chung ve Park, 2007; Ergin ve ark, 2018). Bu yöntem %85 gözenekliliğe, gözenek boyutları 30 μm ila 700 μm arasında değişen, süngerimsi bir iskelenin oluşmasıyla sonuçlanır (Vaiani ve ark, 2023).



Şekil 1.15. Gaz köpüklenmesi yöntemi (Suamte ve ark, 2023).

1.5.2. Serbest katı hal üretim yöntemleri

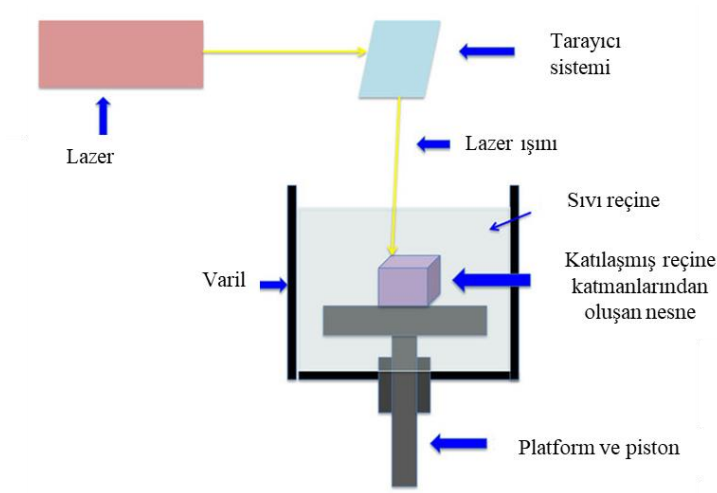
Doku mühendisliğinde üç boyutlu yapısal özelliklerin kontrol edilmesi ve istenilen gözenekliliğe sahip doku üretiminin gerçekleştirilebilmesi için serbest katı hal yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler bilgisayar teknolojisine dayanmaktadır. Bu yöntemin diğer adı hızlı prototip üretilmesidir (S. A. Park ve ark, 2011). Doku mühendisliğine uygun şekilde özelleştirilmiş veya hastaya özel olan doku iskeleleri üretilebilmesi bu yöntemin avantajıdır (Langer, 2007).

Serbest katı hal üretim yöntemi üçe ayrılmaktadır. Bunlar stereolitografi (SLA), eriyik yığma modelleme (FDM) ve seçici lazer sinterleme (SLS)'dir. Serbest katı hal yöntemlerinde karmaşık yapıların tasarımı için bilgisayar destekli tasarım (CAD), manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve bilgisayarlı tomografi (CT) gibi yazılımlar kullanılmaktadır. Dijital ortamda hazırlanan bilgiler, cihaz için katman şeklinde özel kesit formatına çevrilir. Dijital cihazlar kullanılarak işlenen polimer katmanları arasında bağlayıcı yayılmasıyla doku iskelesi üretimi sağlanır (C. Liu ve ark, 2007).

1.5.2.1. Stereolitografi (SLA)

Stereolitografi (Şekil 1.16.), birbiri üzerinde ince katmanlar halinde ultraviyole (UV) ile kürlenebilen malzemeler kullanılarak yapılan sıralı baskı yoluyla katı nesne üretim yöntemidir (Schubert ve ark, 2014). SLA yöntemi; ışığa duyarlı sıvı reçine içeren bir nesne, tarayıcı sistemi, platform ve reçineyi ışınlamak için bir UV lazer olmak üzere dört bileşenden oluşur. Platform, UV lazer ile sertleştirilen ışığa duyarlı bir sıvı tabakasının biriktirilmesi için kullanılır ve katılaştığı zaman platform alçalır. Platformun açılmasıyla birinci tabaka ikinci bir tabaka ile kaplanır ve üç boyutlu bir iskele oluşturmak için bu işlemler tekrarlanır. İskeleye, UV ışığı altında kürlenme işlemine uygulanır ve kürlenmemiş reçine, tamamen kürlenmiş bir kısım elde etmek için yıkanır (Eltom ve ark, 2019). SLA'nın yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya kurulum olmak üzere iki farklı çeşidi vardır. Yukarıdan aşağıya kurulumda, üretim

platformu yukarıdan başlayıp aşağı doğru hareket eder ve yukarıdan aşağıya doğru iskele üretimi gerçekleşir. Aşağıdan yukarıya kurulumda ise üretim platformu aşağıdan başlayıp yukarı doğru hareket eder ve aşağıdan yukarıya doğru bir iskele üretimi gerçekleştirilir. Ayrıca her yeni katman ışınlama yolu ile sertleştirilir (Suamte ve ark, 2023). Bu yöntemin dezavantajı, lazer ışınının genişliğinden dolayı üretilen iskele özelliklerinin sınırlı olmasıdır (Bajaj ve ark, 2014).

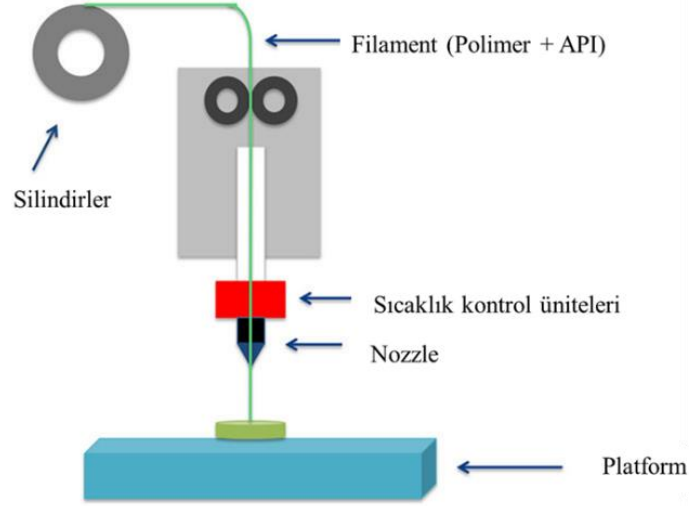


Şekil 1.16. Stereolitografi yöntemi (Konta ve ark, 2017).

1.5.2.2. Eriyik yığma modellemesi (FDM)

Eriyik yığma modelleme (Şekil 1.17.) yönteminde bir termoplastik polimer erimeye maruz bırakılır daha sonra erimiş sıvı sıcak bir ekstrüzyon ağzı yoluyla bir yüzey üzerinde biriktirilir. Biriktirme için izlenilen yol, bilgisayar destekli üretim (CAM) ve bilgisayar destekli tasarım (CAD) kullanılarak önceden tanımlanır ve bu tanımlamaya göre yönlendirilir. XY düzleminde her katmanın tamamlanmasından sonra platform Z düzlemine alçaltılır ve bu işlem imalat tamamlanıncaya kadar yapılır. Bu şekilde üç boyutlu bir iskele üretimi gerçekleştirilir.

Bu yöntemin avantajı; yüksek gözenekli, iyi mekanik özelliklere sahip iskele oluşumu sağlaması, malzeme işleme ve malzeme taşıma kolaylığıdır (Chou ve ark, 2016). Bu tekniğin dezavantajı ise; önceden oluşturulmuş filamanların boyutunda ve nozul ve silindirler yoluyla beslenecek malzeme özelliklerinde tutarlılık gerektirmesidir (Shor ve ark, 2009).



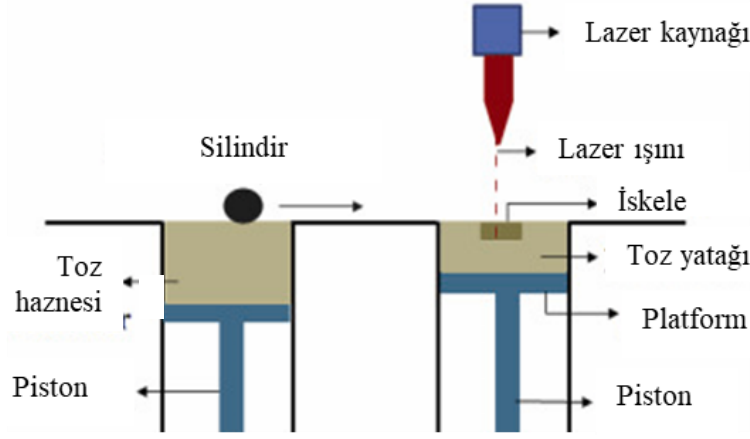
Şekil 1.17. Eriyik yığma modellemesi (Konta ve ark, 2017).

1.5.2.3. Seçici lazer sinterleme (SLS)

Seçici lazer sinterleme yönteminde (Şekil 1.18.) polimerler, metaller ve seramikler kullanılarak iskele üretimi yapılır. Toz parçacıklarını ince katmanlara sinterlemek için yüksek güçlü lazerler kullanan bir yöntemdir. SLS'nin farklı parametrelerinin kontrolü ile iskele içinde bulunan mikro yapıların kolay taşınması ve düzenlenmesi sağlanır.

Toz parçacıklarını platform üstüne ince katmanlar halinde dağıtılır. Yazıcı tozu önceden ham maddenin erime noktasının altındaki bir sıcaklığa kadar ısıtır. Lazer, üç modelin bir kesitini tarar ve tozu malzemenin hemen altına veya tam erime noktasına kadar ısıtır. Bu işlem tek bir katı parça oluşturmak için parçacıkları mekanik olarak bir araya getirmektedir. Platform daha sonra, 50 ila 200 mikron arasında olmak üzere, bir katman alçalmaktadır ve süreç, parçalar tamamlanana kadar her katman için devam etmektedir (Formlabs, 2020).

Yüksek çalışma sıcaklığı altında yapılması ve fazla tozun uzaklaştırılması için gerekli olan son işlemin yapılması bu tekniğin dezavantajlarıdır (Suamte ve ark, 2023).



Şekil 1.18. Seçici lazer sinterleme yöntemi (Suamte ve ark, 2023).

1.6. Hipotez

Bu tez çalışmasında yapılan araştırmalar sonucu ana malzeme olarak polikaprolakton tercih edilmesiyle iki farklı yöntem kullanılarak farklı uygulamalara sahip doku iskelesi üretimi öngörülmüştür. Literatürdeki çalışmalarda doku mühendisliği uygulamaları için birçok polimerik malzeme kullanıldığı ve bunların tek bir polimerden üretildiği için malzemeler genellikle doku iskeleleri için istenilen ihtiyaçları karşılamakta yetersiz kaldığı belirtilmiştir. Bu nedenle dondurarak kurutma yönteminde üretilecek iskelelerin yapısına CNT eklenmesi öngörülmüştür. Böylece doku iskelesinin doku iskelesinin istenilen özelliklere sahip olmasının yanı sıra çift katmanlı olacağı öngörülmüştür. Ayrıca doku mühendisliği uygulamalarında doku iskelelerinde kontrollü ilaç salınımı son yıllarda kullanılmaktadır. Bu nedenle çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi ile doku iskelesinin istenilen özelliklere sahip olmasının yanı sıra seçilen DOX ilacı ile ilaç salınımı yapması öngörülmüştür.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Doku İskelesi Üretimi

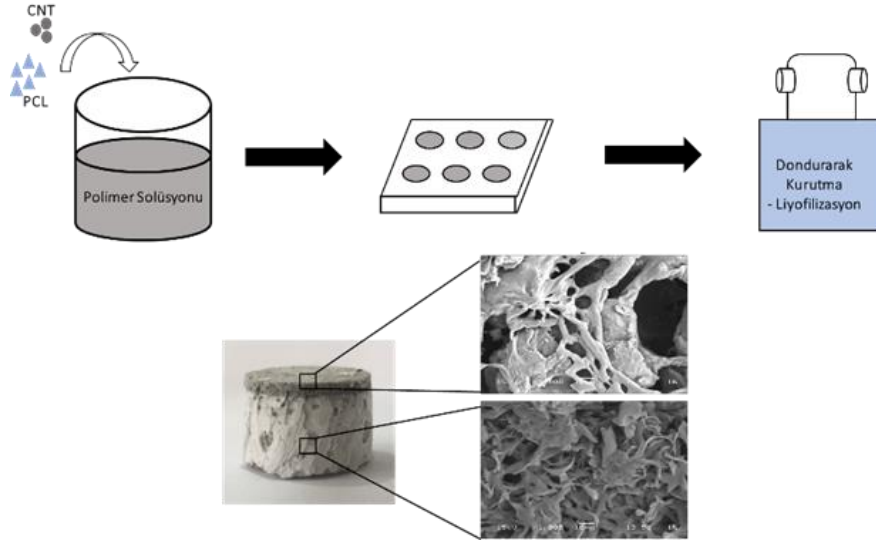
Bu tez çalışmasında ilk olarak dondurarak kurutma yöntemi ile dört farklı doku iskelesi üretimi yapılmıştır. Daha sonra üretilen bu iskelelere analizler yapılmıştır.

2.1.1. Kullanılan kimyasallar ve özellikleri

Polikaprolakton Sigma Aldrich (Japan) (Mw 14000-Mn 10000 g/mol), Chitosan Acros Organics (China) (Mn 100000-300000 g/mol), 110x170 nm x 5-9 µm boyutuna sahip Karbon Nano Tüp Sigma Aldrich (Japan) ve çözücü olarak Asetik Asit Isolab (Germany) (Mw 60,05 g/mol) kullanılmıştır. Bu tez çalışmasında PCL'nin tercih edilmesinin sebebi, biyoyumlu olması, biyobozunurluğunun oldukça iyi olması ve yapılan diğer çalışmalarda doku iskelesi üretiminde yine ana madde olarak kullanılmasıdır. PCL'nin yapısına destek olabilmesi, kompozit bir yapı oluşturabilmesi ve PCL'nin biyoyumluluğunun arttırılması için doğal bir polimer olan kitosan (CHI) kullanılmıştır. Oluşan bu kompozit yapıya destek sağlamak ve çift katmanlı bir yapı oluşturması için farklı oranlarda karbon nanotüp (CNT) eklenmiştir. Çözücü olarak asetik asit (AA) tercih edilmiştir.

2.1.2. Uygulanan yöntem

Bu çalışmada seçilen malzemelere dondurarak kurutma yöntemi diğer bir adıyla liyofilizasyon yöntemi uygulanarak doku iskeleleri üretilmiştir (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Dondurarak kurutma yönteminin şematik gösterimi.

Üretilen bu doku iskeleleri çift katlı olarak üretilmiştir. Tablo 2.1.'de verilen oranlara göre PCL, CHI, AA ve CNT kullanılarak dört farklı karışım hazırlanmıştır.

Tablo 2.1. Dondurarak kurutma yöntemi ile iskele üretiminde kullanılan bileşenler.

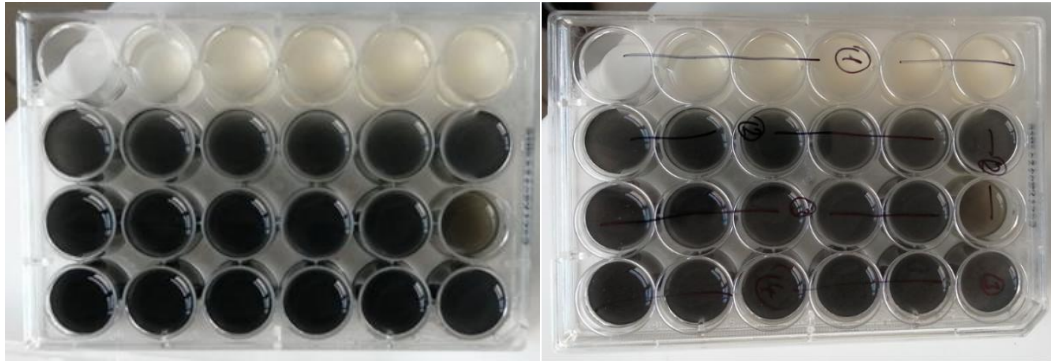
Bileşen	Çözelti No (% Ağırlık/hacim)			
	1	2	3	4
Poli Kaprolakton (PCL)	5	5	5	5
Kitosan (CHI)	1	1	1	1
Karbon Nano Tüp (CNT)	0	0,005	0,01	0,02
Asetik Asit (AA)	94	93,995	93,99	93,98

PCL ve CHI dört farklı AA çözücüsüne dökülerek dört farklı 20 mL'lik çözeltiler hazırlanmıştır. Daha sonra bu çözeltilere CNT'ler belirlenen oranda eklenmiştir. CNT'nin eklenmesiyle bu çözeltiler iki saat IKA marka C-MAG HS7 model manyetik karıştırıcıda (Şekil 2.2.) karıştırılmaya bırakılmıştır. Çözeltilerin bir kısmı manyetik karıştırıcıda çözünmüştür. Daha sonra çözeltiler, çözünmeyi hızlandırmak ve homojen bir karışım elde etmek için numuneler QSONICA marka Q500 model sonikatör cihazına yerleştirilmiştir. Çözeltilerin tamamı kısa sürede çözülerek homojen bir karışım elde edilmiştir.



Şekil 2.2. Manyetik karıştırıcı.

Hazırlanan homojen çözeltiler şekil 2.3.'deki kuyu plakalarına dökülmüştür. Kuyu plakalarında ilk altı sırada %0 (w/v) CNT; 7. ve 12. sıralar arasında ve 18. sırada %0.005 (w/v) CNT; 13. ve 17. sıra arasında ve 24. sırada %0.01 (w/v) CNT; 19. ve 23. sıralar arasında %0.02 (w/v) CNT içeren çözeltiler vardır.



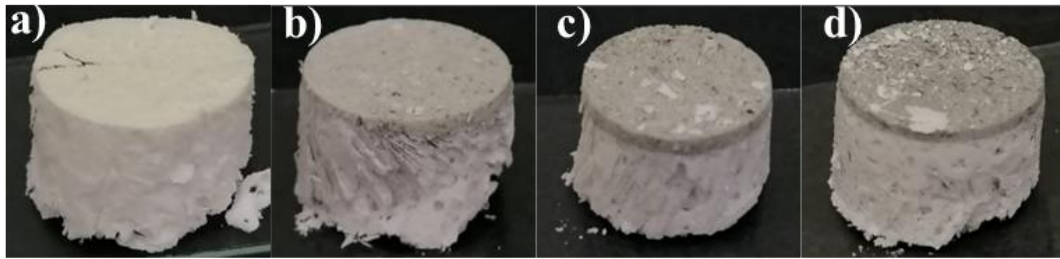
Şekil 2.3. PCL, CHI ve CNT kullanılarak elde edilen homojen karışımın kuyu plakalarına dökülmüş hali.

Hazırlanan bu solüsyonlar iki gece -20°C 'de dondurulmuştur. Bu donmuş solüsyonlar daha sonra liyofilizasyon işlemi, yani basıncın vakumla pompasıyla düşürüldüğü gözenekli bir yapı iskelesi elde edilmesi için BIOBASE marka BK-FD10T BK-FD10PT model liyofilizatöre (Şekil 2.4) yerleştirilmiştir.



Şekil 2.4. Liyofilizatör.

Çözeltiler -60°C 'de 10 gün boyunca liyofilizatörde tutulmuştur ve 10 gün sonunda cihazdan çıkartılmıştır. Daha sonra oda sıcaklığında iki gün kurumaya bırakılmıştır. Sonuç olarak, şekil 2.5'de gösterilen çift katmanlı numuneler elde edilmiştir. Numunelerde CNT içeren ince katmanlar alt katman, diğer katman ise üst katman olarak adlandırılmıştır.



Şekil 2.5. Dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen çift katmanlı iskeleler a) PCL/CHI, b) PCL/CHI/%0,005CNT, c) PCL/CHI/%0,01CNT, d) PCL/CHI/%0,02 CNT.

2.1.3. Yapılan analizler

Dondurarak kurutma yöntemi ile üretilen doku iskelelerine taramalı elektron mikroskobu (SEM), fourier kızılötesi dönüşüm spektroskopisi (FTIR), X-Ray difraktometre (XRD), temas açısı ve serbest yüzey enerjisi analizleri yapılmıştır.

2.1.3.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi

Üretilen iskelelerin yüzey morfoloji analizlerini belirlemek için taramalı elektron mikroskobu analizi yapılmıştır (Ratner, 2013). Analiz, Joel marka JSM 6060 model taramalı elektron mikroskobu ile gerçekleştirilmiştir. Numuneler ölçüm için çift taraflı iletken bant ile sabitlenmiştir. Örnekler 250 kez yakınlaştırılan görüntülerle karakterize edilmiştir.

2.1.3.2. FTIR (fourier kızılötesi dönüşüm spektroskopisi) analizi

Organik veya inorganik bileşikleri karakterize etmek için kullanılan FTIR, kızılötesi radyasyonun absorpsiyonu ile kimyasal bağların titreşimini ölçme prensibi ile çalışır (Ratner, 2013). Liyofilize çift katmanlı iskelelerin yüzey kimyasını incelemek için üretilen iskeleler Perkin Elmer marka Spectrum Two model FTIR cihazına yerleştirilmiştir. Analiz 4000-500 cm^{-1} dalga boyları arasında gerçekleştirilmiştir.

2.1.3.3. X-Ray difraktometre (XRD) analizi

Her madde için XRD piklerinin yoğunlukları farklıdır. Bu meydana gelen kırınım aralıklarının hangi maddeye ait olduğunu gösteren veriler vardır. Bu veriler kullanılarak XRD analizi ile malzemenin temel bileşenleri bulunabilmektedir (Ohara ve ark, 2008). Kristal fazın X ışınlarının malzemenin kendine özgü atomik düzenine göre karakteristik bir düzende kırılarak analiz etmesi için XRD analizi yapılmıştır. Analiz, Rigaku marka S D/Max 2200 LV model cihaz ile 10°-90° tarama aralığında gerçekleştirilmiştir.

2.1.3.4. Temas açısı ve serbest yüzey enerjisi

Temas açısı ölçümleri hem materyal yüzeyinin serbest enerjisi hem de ıslanabilirliği hakkında bilgi veren bir yöntem olarak kullanılır. Bu yöntem, hücrelerin iskele yüzeylerine başarılı bir şekilde yapışıp yapışmayacağı belirlemek için iskele yüzeylerinin ıslanabilirliğini inceler. Doku iskelesi uygulamalarında, hücrelerin doku iskelesine kolay tutunması adına ıslanabilirlik oldukça önemli bir özelliktir (Tıgılı ve ark, 2007). Bu nedenle hücre iskelelerinde temas açısı ölçümü ve serbest yüzey analizi yapılmıştır. Ölçümler, Terralab marka temas açısı ölçüm cihazı ile yapılmıştır.

Temas açısının θ değeri uygulanan damlacığın şekliyle tanımlanır, damlacık şeklinin yanı sıra sıvının serbest yüzey gerilimi γ_{lv} , katının serbest yüzey enerjisi γ_{sv} ve katı

ile sıvı arasındaki arayüz enerjisine γ_{sl} de bağlıdır. Bu büyüklükler arasındaki ilişki eşitlik 2.1.'de verilen Young denklemi ile açıklanmaktadır (Jirkovec ve ark, 2021).

$$\gamma_{sv} - \gamma_{sl} = \gamma_{lc} * \cos \theta \quad (2.1)$$

Yüzey ıslanabilirliği hidrofobik ve hidrofilik olarak sınıflandırılır. Temas açısı 90° 'den büyükse hidrofobik, 90° 'den küçükse hidrofilik olarak kabul edilir. Temas açısı 0° 'ye yaklaştıkça hidrofilik özellik artar.

Serbest yüzey enerji değerlerinde kullanılan yöntemlere göre farklı sonuçlar elde edilmektedir. Serbest yüzey enerjisi hesaplamaları için Zisman yöntemi kullanılmıştır. Katının tamamen ıslatılabilmesi için gerekli sıvının yüzey gerilimi olan kritik yüzey enerjisini (γ_C) bulmak için Zisman yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde katının temas açısı sıfır olarak kabul edilir. Temas açısı değerlerinin ölçümünde birden fazla sıvı kullanılır.

Zisman yönteminde temas açısı verilerine dayanarak, sıvının x ekseninde yüzey gerilimi ve y ekseninde $\cos\theta$ değerlerinin gösterildiği grafikler oluşturulur. Ölçüm yapılırken değer noktalarına düz bir çizgi yerleştirilir ve yüzey için kritik yüzey gerilimi değerini verecek olan $\cos\theta = 1$ noktasının değeri elde edilir (Siboni ve ark, 2004).

Düz çizginin denklemi; b'nin çizginin yön katsayısı olduğu, eşitlik 2.2. ile belirlenir (Liber-Kneć ve Łagan, 2021).

$$\cos \theta = 1 + b(\gamma_C + \gamma_L) \quad (2.2)$$

Test edilen malzeme için eşitlik 2.1 ve eşitlik 2.2 kullanılarak serbest yüzey enerji γ_S ile kritik yüzey serbest yüzey enerji γ_C arasındaki ilişki eşitlik 2.3'te verilmiştir (Liber-Kneć ve Łagan, 2021).

$$\gamma_S = \frac{(b \times \gamma_C + 1)^2}{4b} \quad (2.3)$$

2.2. Çözücü Döküm ve Parçacık Uzaklaştırma Yöntemi ile Doku İskelesi Üretimi

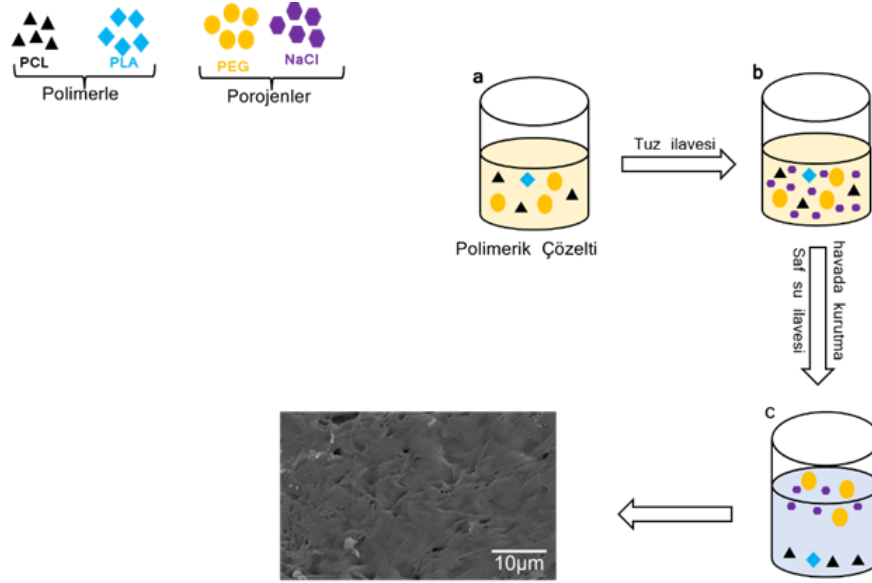
Bu tez çalışmasında ikinci olarak çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi ile doku iskelesi üretimi yapılmıştır. Daha sonra üretilen iskelelere analizler yapılmıştır.

2.2.1. Kullanılan kimyasallar ve özellikleri

Bu çalışmada polimer olarak Polikaprolakton Sigma Aldrich (Japan) (Mw 14000-Mn 10000 g/mol), Polilaktik asit Sigma Aldrich (Germany) (Mw 60000 g/mol) ve Polietilen glikol Sigma Aldrich (Germany) (Mn 20000 g/mol) kullanılmıştır. Çözücü olarak kloroform Merck (Mn 119,38 g/mol) tercih edilmiştir. PCL'nin tercih edilme sebebi biyobozunurluğunun ve biyoyumluluğunun iyi olması ve yapılan diğer çalışmalarda doku iskelesi üretiminde yine ana madde olarak kullanılmasıdır. PCL'ye ilaveten PLA ve PEG kullanılmıştır. PLA biyoyumlu hidrofobik poliester bir yapıya sahip olmasından dolayı tercih edilmiştir. PEG ise hidrofilik karakterli, yüksüz, uçucu olmayan ve renksiz bir polimerdir. PCL-PEG çalışmalarda PCL'den daha iyi performans gösterdiği için PEG polimeri PCL polimerinin yapısına eklenmiştir. Kloroformun tercih edilmesinin nedeni, kullanılan tüm polimerler için ortak bir çözücü olmasıdır.

2.2.2. Uygulanan yöntem

Bu çalışmada seçilen malzemelere çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi uygulanarak doku iskeleleri üretilmiştir (Şekil 2.6.).



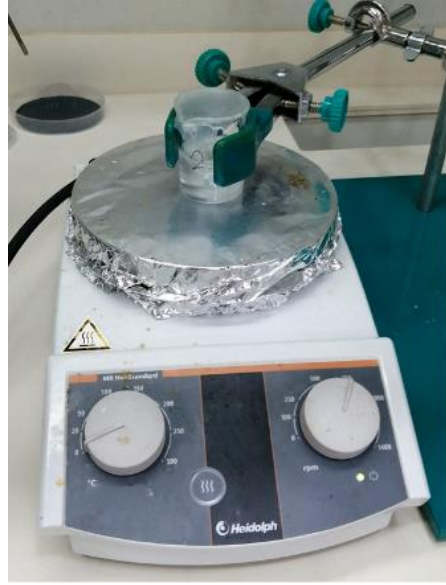
Şekil 2.6. Uygulanan çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi şablonu.

PCL, PLA ve PEG kullanılarak dört farklı çözelti oluşturulmuştur. Tablo 2.2.'de oranları verildiği gibi PEG oranı sabit tutulup, PLA ve PCL'nin miktarı orantılı olarak değiştirilmiştir.

Tablo 2.2. Çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi ile iskele üretiminde kullanılan bileşenler.

Bileşen	Çözelti No			
	1	2	3	4
	(% Ağırlık/hacim)			
Polikaprolakton (PCL)	14	13,3	12,6	11,9
Polietilen Glikol (PEG)	14	14	14	14
Polilaktik Asit (PLA)	0	0,7	1,4	2,1
Kloroform (CHCl ₃)	72	72	72	72

Hazırlanan ilk çözelti IKA marka C-MAG HS7 model manyetik karıştırıcıda çözülmeye bırakılmıştır ve yarım saat sonra homojen bir karışım elde edilmiş ve tamamen çözülmüştür. Hazırlanan ikinci (Şekil 2.7.), üçüncü ve dördüncü çözelti IKA marka C-MAG HS7 model manyetik karıştırıcıda 2-3 saat karıştırılmıştır ve homojen bir karışım elde edilmiştir.



Şekil 2.7. Manyetik karıştırıcı.

Toplamda şekil 2.8.'de görülen dört farklı homojen karışım elde edilmiştir.



Şekil 2.8. Elde edilen homojen karışımlar.

Çözeltilere toplam 24 g NaCl eklenmiştir ve manyetik karıştırıcıda 15 dakika karıştırılmıştır. Nihai çözeltiler, 24 saat boyunca bir çeker ocak içinde serbest bırakılmıştır. Daha sonra çözeltilere distile su ilave edilerek 60 saat suda bekletilmiştir (Şekil 2.9.). Her 12 saatte bir çözeltilerin suyu değiştirilmiştir. Çözeltilerin suda bekletilmesi NaCl ve PEG'i çözmek için tasarlanmıştır. Daha sonra sudan alınan numuneler iki gün boyunca havada kurutulmuştur ve doku iskelesi üretimi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.9. Çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi ile suda bekletilen numuneler.

2.2.3. Yapılan analizler

Üretilen doku iskelelerine taramalı elektron mikroskobu (SEM), fourier kızılötesi dönüşüm spektroskopisi (FTIR), şişme testi, temas açısı ve serbest yüzey enerjisi ve ilaç salınım analizi yapılmıştır.

2.2.3.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi

Üretilen iskelelerin yüzey morfoloji analizlerini belirlemek için taramalı elektron mikroskobu analizi yapılmıştır (Ratner, 2013). Analiz, Joel marka JSM 6060 model taramalı elektron mikroskobu ile gerçekleştirilmiştir. Numuneler ölçüm için çift taraflı iletken bant ile sabitlenmiştir. Örnekler 250 kez yakınlaştırılan görüntülerle karakterize edilmiştir.

2.2.3.2. FTIR (fourier kızılötesi dönüşüm spektroskopisi) analizi

Organik veya inorganik bileşikler karakterize etmek için kullanılan FTIR, kızılötesi radyasyonun absorpsiyonu ile kimyasal bağların titreşimini ölçme prensibi ile çalışır (Ratner, 2013). Doku iskelelerinin yüzey kimyasını incelemek için üretilen iskeleler Perkin Elmer marka Spectrum Two model FTIR cihazına yerleştirilmiştir. Analiz 4000-500 cm⁻¹ dalga boyları arasında gerçekleştirilmiştir.

2.2.3.3. Şişme testleri

Doku iskeleleri yapılarına su alabilmeleri, gözeneklilik ve gözeneklerin içsel bağlantılı oluşu ile ilgilidir (Tıgılı ve ark, 2007). Kurutulmuş doku iskelelerinin kuru ağırlığı Shimadzu marka ATX224 model hassas terazi ile ölçüldükten sonra doku iskelesi şişmesi için 37° distile su içerisine koyularak bekletilmiştir. Belirli zamanlarda (5, 15, 30, 60, 120 dakika) şişmiş ağırlıkları ölçülmüştür. Her numunede ağırlık ölçümünden hemen sonra distile su değiştirilmiştir. Şişme çalışmaları her dört iskele için de aynı prosedür uygulanmıştır. Doku iskelelerinin şişme oranı eşitlik 2.4.'e göre hesaplanmıştır (Nga ve ark, 2020).

$$\text{Ağırlıkça Şişme (\%)} = \left[\frac{M_w - M_d}{M_d} \right] \times 100 \quad (2.4)$$

Md: Kuru ağırlık

Mw: Islak ağırlık

2.2.3.4. Temas açısı ve serbest yüzey enerjisi

Temas açısı ölçümleri hem materyal yüzeyinin serbest enerjisi hem de ıslanabilirliği hakkında bilgi veren bir yöntem olarak kullanılır. Hücrelerin iskele yüzeylerine başarılı bir şekilde yapışıp yapışmayacağını belirlemek için iskele yüzeylerinin ıslanabilirliği incelenir. Doku iskelesi uygulamalarında, hücrelerin doku iskelesine

kolay tutunması adına ıslanabilirlik oldukça önemli bir özelliktir (Tıǧlı ve ark, 2007). Bu nedenle hücre iskelelerinde temas açısı ölçümü ve serbest yüzey enerjisi analizi yapılmıştır. Ölçümler, Terralab marka temas açısı ölçüm cihazı ile yapılmıştır.

Temas açısının θ değeri uygulanan damlacığın şekliyle tanımlanır, damlacık şeklinin yanı sıra sıvının serbest yüzey gerilimi γ_{lv} , katının serbest yüzey enerjisi γ_{sv} ve katı ile sıvı arasındaki arayüz enerjisine γ_{sl} de bağlıdır. Bu büyüklükler arasındaki ilişki eşitlik 2.5.'te verilen Young denklemi ile açıklanmaktadır (Jirkovec ve ark, 2021).

$$\gamma_{sv} - \gamma_{sl} = \gamma_{lv} * \cos \theta \quad (2.5)$$

Yüzey ıslanabilirliği hidrofobik ve hidrofilik olarak sınıflandırılır. Temas açısı 90° 'den büyükse hidrofobik, 90° 'den küçükse hidrofilik olarak kabul edilir. Temas açısı 0° 'ye yaklaştıkça hidrofilik özellik artar.

Serbest yüzey enerji değerlerinde kullanılan yöntemlere göre farklı sonuçlar elde edilmektedir. Serbest yüzey enerjisi hesaplamaları için zisman yöntemi kullanılmıştır. Katının tamamen ıslatılabilmesi için gerekli sıvının yüzey gerilimi olan kritik yüzey enerjisini (γ_c) bulmak için zisman yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde katının temas açısı sıfır olarak kabul edilir. Temas açısı değerlerinin ölçümünde birden fazla sıvı kullanılır.

Zisman yönteminde temas açısı verilerine dayanarak, sıvının x ekseninde yüzey gerilimi ve y ekseninde $\cos\theta$ değerlerinin gösterildiği grafikler oluşturulur. Ölçüm yapılırken değer noktalarına düz bir çizgi yerleştirilir ve yüzey için kritik yüzey gerilimi değerini verecek olan $\cos\theta = 1$ noktasının değeri elde edilir (Siboni ve ark, 2004).

Düz çizginin denklemi; b'nin çizginin yön katsayısı olduğu, eşitlik 2.6. ile belirlenir (Liber-Kneć ve Łagan, 2021).

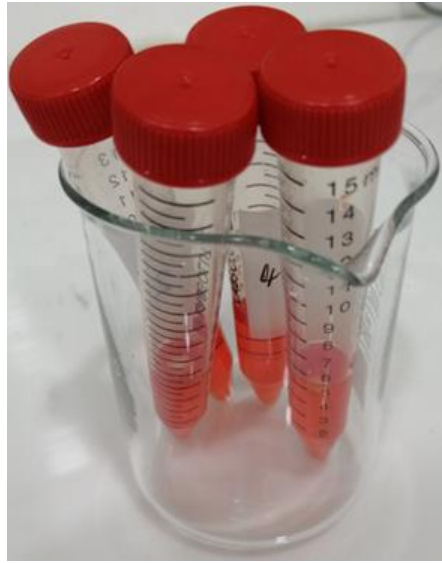
$$\cos \theta = 1 + b(\gamma_C + \gamma_L) \quad (2.6)$$

Test edilen malzeme için eşitlik 2.5 ve eşitlik 2.6 kullanılarak serbest yüzey enerji γ_S ile kritik yüzey serbest yüzey enerji γ_C arasındaki ilişki eşitlik 2.7'de verilmiştir (Liber-Kneć ve Łagan, 2021).

$$\gamma_S = \frac{(b \times \gamma_C + 1)^2}{4b} \quad (2.7)$$

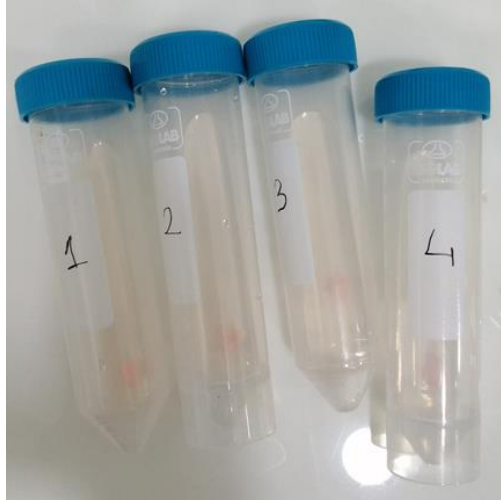
2.2.3.5. İlaç salınım analizi

Doku iskeleleri birim iskele olarak hazırlanmıştır. Hacimde ağırlıkça %14PCL/PEG iskelesi, %13,3PCL/%0,7PLA/PEG iskelesi, %12,6PCL/%1,4PLA/PEG iskelesi, %11,9PCL/%2,1PLA/PEG iskelesi 0,5mg/mL DOX solüsyonu içeren santrifüj tüplerine yerleştirilmiştir (Şekil 2.10). İlaç salım analizi için iskeleler daldırma kaplama yöntemi ile hazırlanmıştır. Tüpler üç gün boyunca 30 kHz'de Nüve marka ST30 model çalkalamalı su banyosu cihazında işlenmiştir.



Şekil 2.10. DOX çözeltisi içeren santrifüj tüpleri.

Birim iskeleler çözültiden çıkarılıp deiyonize su içeren tüplere yerleştirilmiştir. DOX salınımı, absorbans/konsantrasyon kalibrasyon eğrisi ile UV-VIS spektrometri ile değerlendirilmiştir. Bu analiz için 1 saat sonra tüpten 5 mL solüsyon alınmıştır ve solüsyonlar Shimadzu marka UV-2600 model UV-VIS spektrometri ile analiz edilmiştir. Tüpten 5 mL solüsyon alındıktan sonra tekrar 5 mL deiyonize su eklenmiştir (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Deiyonize suda bekleyen iskeleler.

Bu işlem 24 saat, 168 saat ve 720 saat sonra tekrarlanmıştır. Yapılan ölçüm sonucunda her numune için aynı dalga boyunda 244 nm’de değerlendirme yapılmıştır. DOX salınımının yüzdesini bulmak için eşitlik 2.8.’e göre hesaplama yapılmıştır (Boztepe ve ark, 2020).

$$\text{DOX (\%)} = \left[\frac{\text{belirlenen zamanda absorbe edilen DOX miktarı}}{\text{yüklenen DOX miktarı}} \right] \times 100 \quad (2.8)$$

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Üretilen doku iskelelerinin istenilen amaçlar doğrultusunda üretilmiş olmaları için belirli özelliklere sahip olmaları gerekmektedir. Bu sebeple, doku iskelelerinin sahip olması gereken özellikler için analizler yapılmıştır. Bu bölümde yapılan analizlerin sonuçlarından bahsedilmiştir.

3.1. Dondurarak Kurutma Yöntemi ile Üretilen Doku İskelesi Analizleri

Bu yöntem ile PCL, CHI, AA ve CNT kullanarak dört farklı çift katmanlı doku iskelesi üretimi yapılmıştır. Bu iskelelere yapılan SEM, FTIR, XRD, temas açısı ve serbest yüzey enerjisi analizler sonucu elde edilen bulgular anlatılmıştır.

3.1.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi

Üretilen doku iskeleleri, hücrelerin büyümesine ve çoğalmasına yardımcı olmak için gözenekli bir yapıya sahip olmalıdır (Leong ve ark, 2003). SEM görüntüleri ImageJ yazılımı ile analiz edilerek iskelelerin yüzey gözeneklilik oranı ve gözenek boyutları belirlenmiştir. ImageJ ile işlenen görseller, iskelelerin her katmanının (a.1-d.2) farklı bir yüzey gözeneklilik oranına sahip olduğunu göstermektedir. ImageJ ile görüntüler işlenirken tüm iskeleler için varsayılan eşik değerleri kullanılmıştır.

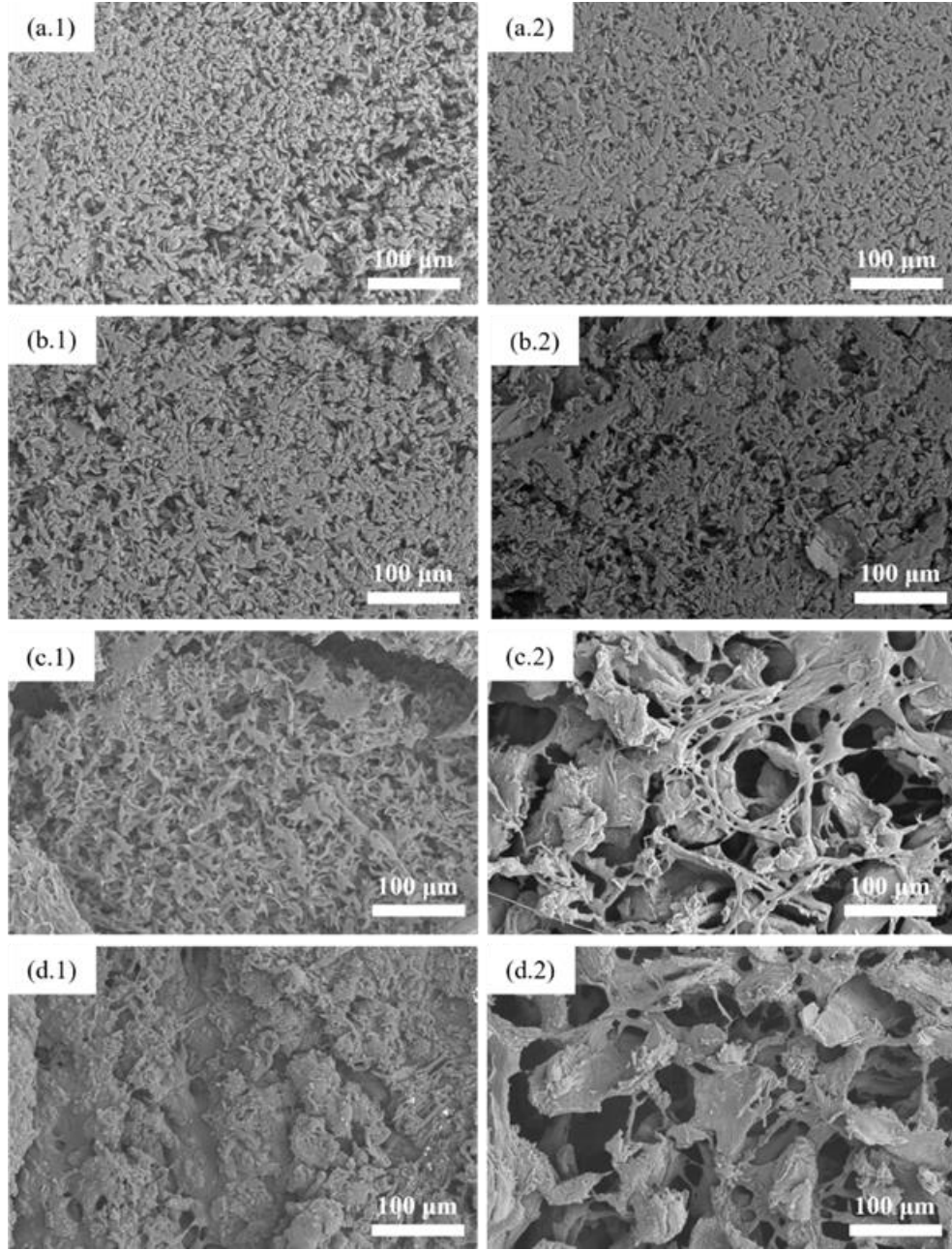
Şekil 3.1. a.1 ve şekil 3.1. a.2 sırasıyla PCL/CHI içeren iskelenin üst ve alt katmanlarıdır ve yüzeylerinin %42,411'i ve %30,605'i gözeneklerden oluşmaktadır.

Şekil 3.1 b.1 ve şekil 3.1 b.2 sırasıyla PCL/CHI/%0,005CNT içeren iskelenin üst ve alt katmanlarıdır ve yüzeylerinin %38,757'si ve 38,679'u gözeneklerden oluşmaktadır.

Şekil 3.1 c.1 ve şekil 3.1 c.2 sırasıyla CL/CHI/%0,01CNT içeren iskelelerin üst ve alt katmanlarıdır ve yüzeylerinin %45,770'i ve %42,459'u gözeneklerden oluşmaktadır.

Şekil 3.1 d.1, şekil 3.1 d.2 sırasıyla PCL/CHI/%0,02 CNT içeren iskelenin üst ve alt katmanlarıdır ve yüzeylerinin %53,733'ü ve %44,797'si gözeneklerden oluşmaktadır ve en yüksek gözeneklilik yüzdesine sahip olan iskeledir. Tıpkı bu çalışmada çıkan sonuçlar gibi Mota ve ark (2013) gözeneklilik oranı %24 ila %60 arasında değişen PCL bazlı iskeleleri üretilmiştir (Mota ve ark, 2013). Ayrıca tüm numuneler incelendiğinde üst katmanın ortalama gözenek boyutu 5,21 µm, alt katmanın

ortalaması ise 5,35 μm 'dir. Böylece iskelenin her iki katmanının da benzer gözenek boyutlarına sahip olduğu ortaya çıkar. Bu çalışma belirli bir hücreye özgü değildir ve benzer gözenek boyutlarına sahip çalışmalar literatürde Kang ve ark (2007) çalışmasında mevcuttur (Kang ve ark, 2007).



Şekil 3.1. a.1) PCL/CHI içeren iskelenin üst katmanı, a.2) PCL/CHI içeren iskelenin alt katmanı, b.1) PCL/CHI/%0,005CNT içeren iskelenin üst katmanı, b.2) PCL/CHI/%0,005CNT içeren iskelenin alt katmanı, c.1) PCL/CHI/%0,01CNT içeren iskelenin üst katmanı, c.2) PCL/CHI/%0,01CNT içeren iskelenin alt katmanı, d.1) PCL/CHI/%0,02CNT içeren iskelenin üst katmanı, d.2) PCL/CHI/%0,02CNT içeren iskelenin alt katmanı.

3.1.2. FTIR (fourier kızılötesi dönüşüm spektroskopisi) analizi

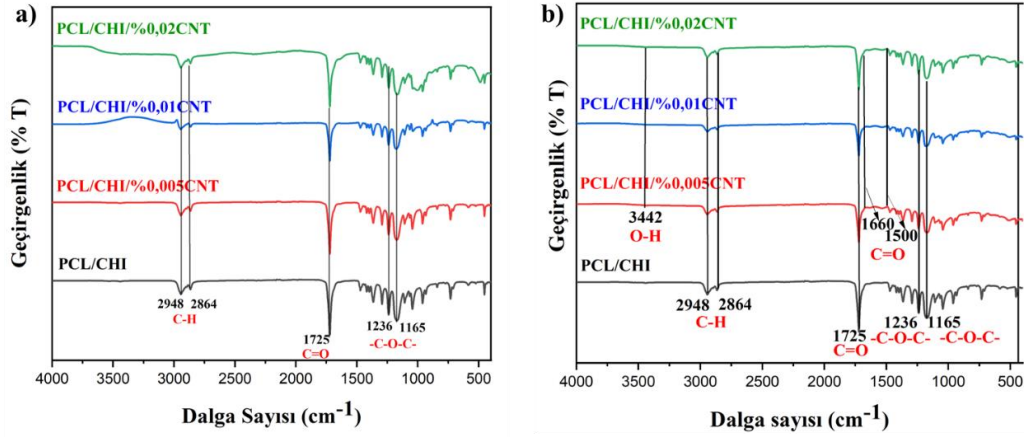
Doku iskelesinin yüzeyinde bulunan fonksiyonel grupların tespit edilmesi, iskelenin çevresiyle olan ilişkisini ve iskelenin işlevini belirlemede yardımcı olur (Boncukçu, 2023). Bu nedenle tez çalışmasında üretilen iskeleler FTIR spektrofotometresiyle fonksiyonel grupları açısından incelenmiştir.

Doku iskelesinin üst katmanı (Şekil 3.2.a) ve alt katmanının (Şekil 3.2.b) FTIR analizi Şekil 3.2.'de gösterilmiştir. Üst katmanlarda yapılan FTIR analizinde; Safaeijavan ve ark (2014) çalışmasındakine benzer şekilde 2948 cm^{-1} 'de asimetrik bir C-H gerilmesi, Li ve ark (2018) çalışmasındakine benzer şekilde 2864 cm^{-1} 'de simetrik bir C-H gerilmesi, 1725 cm^{-1} 'de ester karbonil grubunun C=O gerilmesi, Priselac ve ark (2022) çalışmasına benzer şekilde 1236 cm^{-1} 'de bir C-O-C asimetrik gerilmesi ve 1165 cm^{-1} simetrik -C-O-C- gerilmesi ile PCL'nin varlığını doğrulanmıştır (W. Li ve ark, 2018; Priselac ve ark, 2022; Safaeijavan ve ark, 2014).

Kitosanın varlığı; Correia ve ark (2011) ve Jana ve ark (2014) çalışmalarına benzer şekilde 1613 cm^{-1} 'de ortaya çıkan amid I'deki C=O gerilmesiyle ve 1556 cm^{-1} 'de ortaya çıkan amid II'deki N-H gerilmesiyle doğrulanmıştır (Correia ve ark, 2011; Jana ve ark, 2014). PCL ve CHI tepe noktalarının üst üste binmesi, PCL ile aşılansmış kitosan kopolimer varlığını ortaya çıkarmıştır (Sultana ve ark, 2017).

Alt katmana bakıldığı zaman PCL'nin varlığını kanıtlayan karakteristik bantların üst katmanla aynı değerlere sahip bantlar olduğu tespit edilmiştir. Alt katmanda da yine kitosanın üst katmandaki değerlerine yakın pikler elde edilmiştir. 1620 cm^{-1} 'de ortaya çıkan, amid I'deki C=O gerilmesiyle ve 1564 cm^{-1} 'de amid II'deki N-H gerilmesiyle doğrulanmıştır. Karışımdaki her iki polimere de yanıt veren doku iskelesinin substratında karakteristik bantlar tanımlanmıştır.

3442 cm^{-1} 'de meydana gelen O-H gerilmesiyle CNT varlığı Manoj ve ark. (2018) çalışmasına benzer şekilde doğrulanmıştır (Manoj ve ark, 2018). CNT'ler üzerindeki altıgen yapının bütünlüğü ve karbon çift bağının (C=C) varlığı $1500-1660\text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki bantlarla Eren ve ark çalışmasındakine benzer şekilde belirlenmiştir (Eren ve ark, 2015).



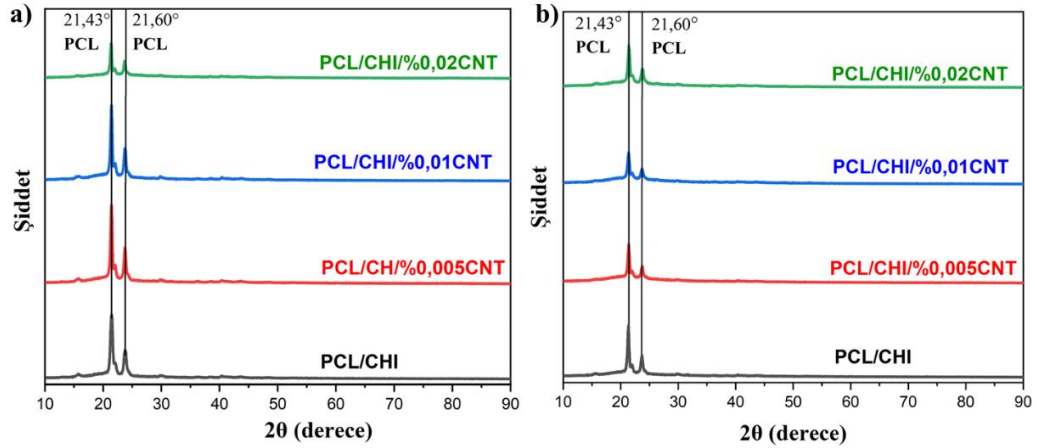
Şekil 3.2. a) PCL/CHI, PCL/CHI/%0,005CNT, PCL/CHI/%0,01CNT, PCL/CHI/%0,02CNT içeren iskelenin üst katman FTIR Analizi b) PCL/CHI, PCL/CHI/%0,005 CNT, PCL/CHI/%0,01 CNT, PCL/CHI/%0,02 CNT içeren iskelenin alt katman FTIR analizi.

3.1.3. X-Işını difraktometrisi (XRD) analizi

Üst katman ve alt katman için $2\theta=10-90^\circ$ aralığında PCL'nin yapıya katılıp katılmadığını belirlemek için XRD analizi yapılmıştır. İki katmanda yapı bakımından benzer olmasından kaynaklı olarak XRD modellerinde birbirine yakın sonuçlar alınmıştır. Üst katmanın (Şekil 3.3.a) ve alt katmanın (Şekil 3.3.b) XRD spektrumu şekil 3.3.'te verilmiştir. PCL/CHI içeren yapı iskelesinde tepe noktası Abbasi ve ark (2020) çalışmasına benzer şekilde 21.43° ve 23.77° 'de tanımlanmıştır (Abbasi ve ark, 2020). PCL/CHI/%0.005CNT içeren iskele yapısındaki tepe noktası 21.43° ve 23.77° 'de tanımlanmıştır. PCL/CHI/%0.01CNT içeren iskele yapısındaki tepe noktası 21.29° ve 23.77° 'de tanımlanmıştır. PCL/CHI/%0.02CNT içeren iskele yapısındaki düzlemin tepe noktası 21.29° ve 23.6° 'de tanımlanmıştır. Bu elde edilen keskin pikler literatürdeki Firoozi ve ark (2017) ve Kumar ve ark (2014) çalışmalarındaki benzer şekilde PCL'nin kristal düzlemine karşılık gelmektedir (Firoozi ve ark, 2017; Kumar ve ark, 2014). Yarı kristalin kitosanın PCL çözeltisine dahil edilmesi, bazı etkileşimlerde PCL'nin koordinat özelliğini değiştirir, kristallik derecesinde azalmaya ve son grafikte PCL'nin tepe yoğunluğunun düşmesine neden olmuştur (Firoozi ve ark, 2017; Kumar ve ark, 2014). Pikler PCL/CHI/%0.01CNT, PCL/CHI/%0.02CNT için küçük bir kayma tespit edilmiştir.

Alt katmanda PCL/CHI içeren iskele yapısındaki tepe noktası 21.34° ve 23.68° 'de tanımlanmıştır. PCL/CHI/%0.005CNT içeren iskele yapısındaki tepe noktası 21.40°

ve 23.72°'de tanımlanmıştır. PCL/CHI/%0.01CNT içeren iskele yapısındaki tepe noktası 21.36° ve 23.72°'de tanımlanmıştır. PCL/CHI/%0.02CNT içeren iskele yapısındaki düzlemin tepe noktası 21.40° ve 23.76°'de tanımlanmıştır. Elde edilen keskin pikler Firoozi ve ark (2017) ve Kumar ve ark (2014) çalışmalarına benzer bir şekilde PCL'nin kristal düzlemine karşılık gelir (Firoozi ve ark, 2017; Kumar ve ark, 2014).

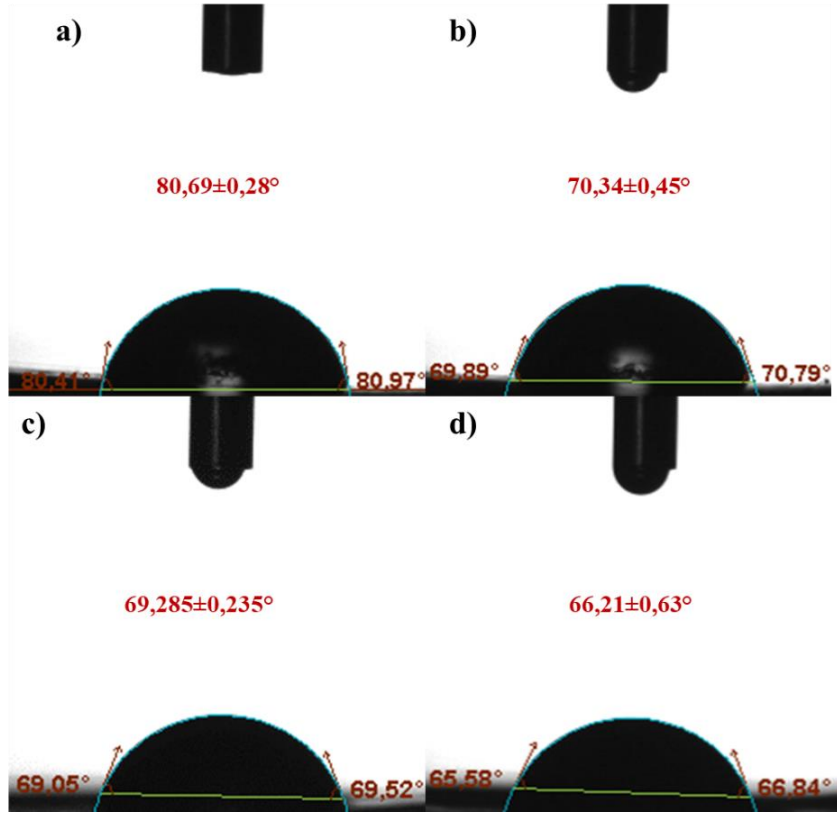


Şekil 3.3. a)PCL/CHI, PCL/CHI/%0,005CNT, PCL/CHI/%0,01 CNT, PCL/CHI/%0,02 CNT içeren iskele üst katman XRD Analizi b)PCL/CHI, PCL/CHI/%0,005 CNT, PCL/CHI/%0,01 CNT, PCL/CHI/%0,02 CNT içeren iskele alt katman XRD analizi.

3.1.4. Temas açısı ve serbest yüzey enerjisi

PCL'nin doku iskelesinin yapısında kullanılmasındaki en büyük sınırlamalar; temas açısının (111°) yüksek olması, düşük ıslanabilirliğe ve hidrofobik yapıya sahip olmasıdır (Abbasi ve ark, 2020; Sultana ve ark, 2017).

İskelelerin temas açısı ölçümleri ve hassas düşme görüntüleri şekil 3.4.'te gösterilmiştir. Ortalama temas açıları sırasıyla $80,69 \pm 0,28^\circ$, $70,34 \pm 0,45^\circ$, $69,285 \pm 0,235^\circ$, $66,21 \pm 0,63^\circ$ 'dir. Yapılan ölçülerde iskelenin temas açısının azaldığı ve hidrofilik özelliğin arttığı gözlenmiştir. Hesaplanan temas açılarına göre iskele yapılarının tümünün hidrofilik olduğu gözlenmiştir.



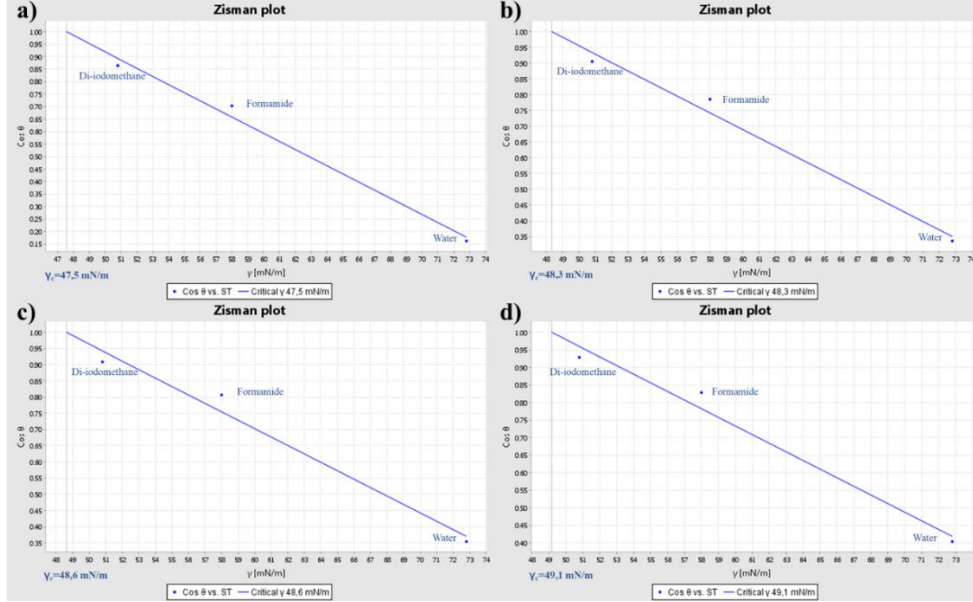
Şekil 3.4. a) PCL/CHI, b) PCL/CHI/%0,005 CNT, c) PCL/CHI/%0,01 CNT, d) PCL/CHI/%0,02 CNT temas açısı ölçümü.

Serbest yüzey enerjisi hesaplamaları için Zisman yöntemi kullanılmıştır. Temas açısı değerlerinin ölçümünde birden fazla sıvı kullanılır. Bu ölçümde sıvı olarak su, formamid ve diiodometan kullanılmıştır (Tablo 3.1.)

Tablo 3.1. Su, formamid ve diiodometanın temas açıları.

Numune	Water θ [°]	Formamide θ [°]	Di-iodomethane θ [°]
PCL/CHI	80,69	45,32	30,26
PCL/CHI/%0,005 CNT	70,34	38,216	25,13
PCL/CHI/%0,01 CNT	69,285	36,217	24,71
PCL/CHI/%0,02 CNT	66,21	34,08	21,796

Hazırlanan farklı numune için için su, formamid ve diiodometan sıvılarının kullanımıyla ölçülen temas açısı değerlerine bağlı olarak çizilen Zisman grafiği, şekil 3.5.'te gösterilmiştir.



Şekil 3.5. Kritik yüzey serbest enerjisinin elde edilen değeri ile çizilen Zisman grafikleri a) PCL/CHI, b) PCL/CHI/%0,005 CNT, c) PCL/CHI/%0,01 CNT, d) PCL/CHI/%0,02 CNT.

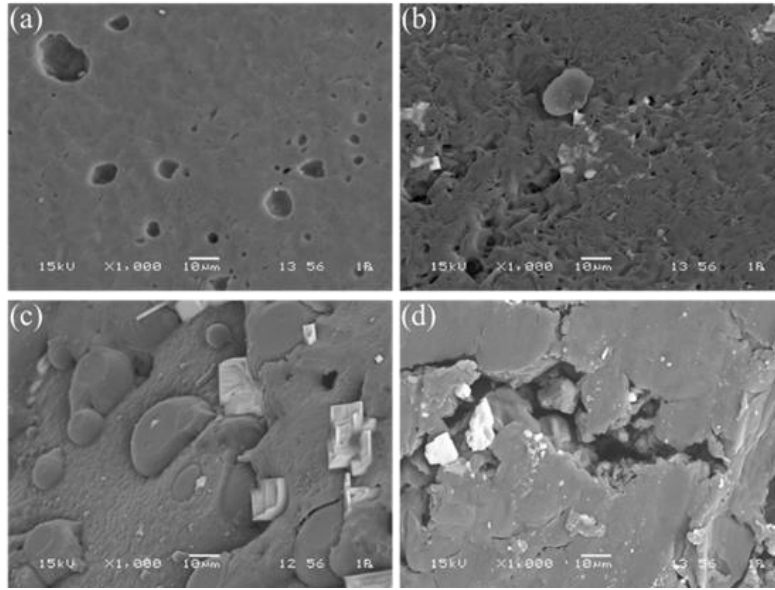
3.2. Çözücü Döküm ve Parçacık Uzaklaştırma Yöntemi Üretilen Doku İskelesi Analizleri

Bu yöntem ile PCL, PEG, PLA kullanarak dört farklı doku iskelesi üretimi yapılmıştır. Bu iskelelere yapılan SEM, FTIR, şişme testi, temas açısı ve serbest yüzey enerjisi ve ilaç salınım analizi sonucu elde edilen bulgular anlatılmıştır.

3.2.1. Elektron mikroskobu (SEM) analizi

İskele gözeneklerinin nano, mikro ve makro boyutları, farklı hücre tiplerinin çoğalmasına ve hücrede farklı süreçlerin gerçekleşmesine olanak sağlar (Bružauskaitė ve ark, 2016). Tüm iskeleler incelendiğinde ImageJ yazılımı ile 580 nm ile 27µm arasında değişen gözenek boyutlarına sahip oldukları belirlenmiştir.

İskelelerin SEM analizi görüntüleri şekil 3.6.'da verilmiştir. %14PCL/PEG, %13,3PCL/%0,7PLA/PEG, %12,6PCL/%1,4PLA/PEG ve %11,9PCL/%2,1PLA/PEG içeren iskelelerinin nanogözenek ve mikrogözenek ortalamaları birbirine yakın olup, tüm seviyelerdeki gözenek ortalaması $2,34 \pm 0,68$ µm'dir.

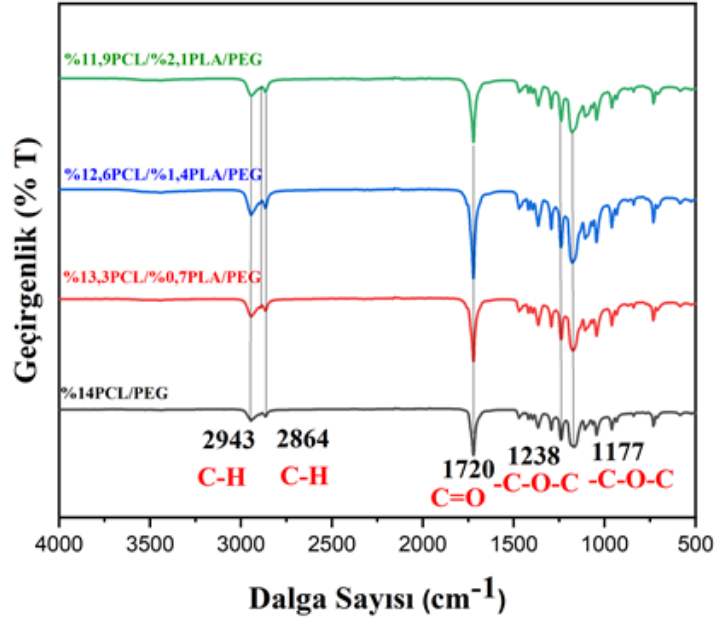


Şekil 3.6. SEM Analiz görüntüleri a) %14PCL/PEG, b) %13,3PCL/%0,7PLA/PEG, c) %12,6PCL/%1,4 PLA/PEG d) %11,9PCL/%2,1PLA/PEG içeren doku iskelesi.

3.2.1.1. FTIR (fourier kızılötesi dönüşüm spektroskopisi) analizi

Şekil 3.7.'de, iskelenin FTIR analizini göstermektedir. Kullanılan polimerlere (PCL-PEG-PLA) yanıt veren karakteristik bantlar tanımlanmıştır. Dört numune üzerinde yapılan analizlerde; Hassanajili ve ark (2019) çalışmalarına benzer şekilde 2943 cm^{-1} 'de asimetrik bir C-H gerilmesi, 2864 cm^{-1} 'de simetrik bir C-H gerilmesi Ramírez-Cedillo ve ark (2019) ve Safaeijavan ve ark (2014) çalışmasına benzer şekilde 1720 cm^{-1} 'de ester karbonil grubunun C=O gerilmesi, Azizi ve ark çalışmalarındakine benzer şekilde 1238 cm^{-1} 'de bir -C-O-C- simetrik gerilmesi ve 1177 cm^{-1} -C-O-C- simetrik gerilmesi ile PCL'nin varlığı kanıtlamıştır (Azizi ve ark, 2018; Hassanajili ve ark, 2019; Ma, 2004; Ramírez-Cedillo ve ark, 2019; Safaeijavan ve ark, 2014).

Cesur ve ark (2020) çalışmasına benzer şekilde 2979 cm^{-1} 'de alkil gruplarının C-H gerilmesi, 1103 cm^{-1} ve 1141 cm^{-1} aralığında eter C-O gerilmesi ve 1238 cm^{-1} 'de tekrarlanan C-O-C gerilmesi ile PEG varlığı kanıtlanmıştır (Cesur ve ark, 2020). Küçük miktarlarda ve değişen oranlarda kullanılan PLA'nın, 2. numune 3. numune ve 4. numunede 2943 cm^{-1} 'de -CH₃ simetrik gerilmesi, 2888 cm^{-1} 'de simetrik -CH₃ gerilmesi, 1043 cm^{-1} 'de C-O gerilmesi ile Osorio-Arciniega ve ark (2021), Chieng ve ark (2014), Hassanajili ve ark (2019) ve Zimina ve ark (2020) benzer sonuçlar elde ettiği için varlığını doğrulanmıştır (Chieng ve ark, 2013; Hassanajili ve ark, 2019; Osorio-Arciniega ve ark, 2021; Zimina ve ark, 2020).

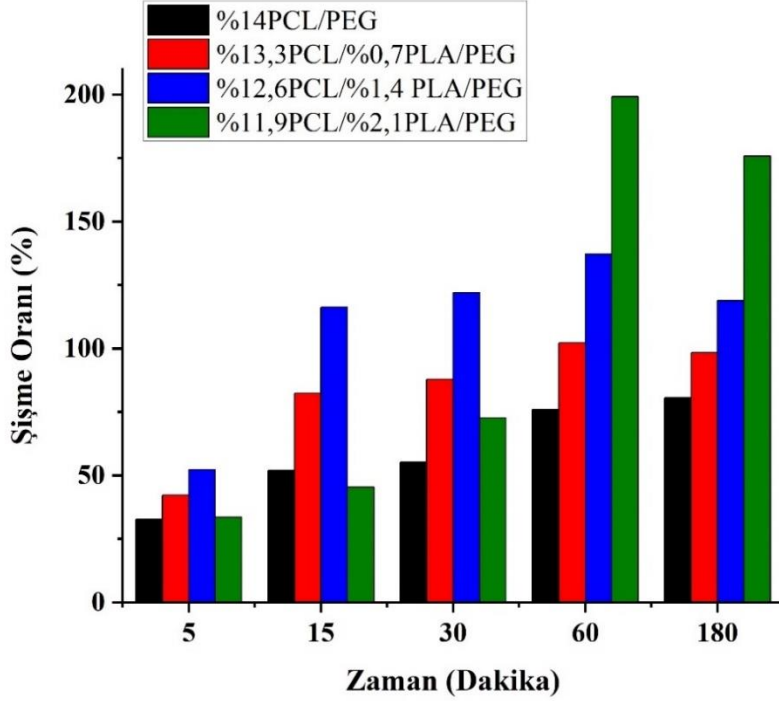


Şekil 3.7. %14PCL/PEG, %13,3PCL/%0,7PLA/PEG, %12,6PCL/%1,4 PLA/PEG, %11,9PCL/%2,1PLA/PEG içeren iskelelerin FTIR Analizi.

3.2.2. İskelelerin şişme özellikleri

Doku iskelelerinde; hücresel yapışma, vücut sıvılarının emilmesi ve hücresel besin kaynaklarının aktarılmasını sağlamak için şişme ve sıvı tutma özellikleri önemli rol oynamaktadır (Hasan ve ark, 2018). Doku iskelelerinin sulu bir ortamda hacimsel değişime uğrayıp uğramadıklarının belirlemek için şişme analizi yapılmaktadır.

Şekil 3.8.'de, zamana bağlı olarak doku iskelelerinin şişme oranlarını mevcuttur. Numunelerin kuru ağırlığı sırasıyla 15 mg, 18,2 mg, 19,1 mg ve 12,8 mg'dır. İskelelerin ağırlıkça yüzde şişmeleri eşitlik 2.4.'e göre hesaplanmıştır. İlk 60 dakikada tüm gruplarda su emme kapasitesinin gözlenmiştir. En yüksek şişme oranı 4. örnekte 60 dakikada meydana gelmiştir. PCL oranı en yüksek doku iskelesinde en az su emme gözlenmiştir.

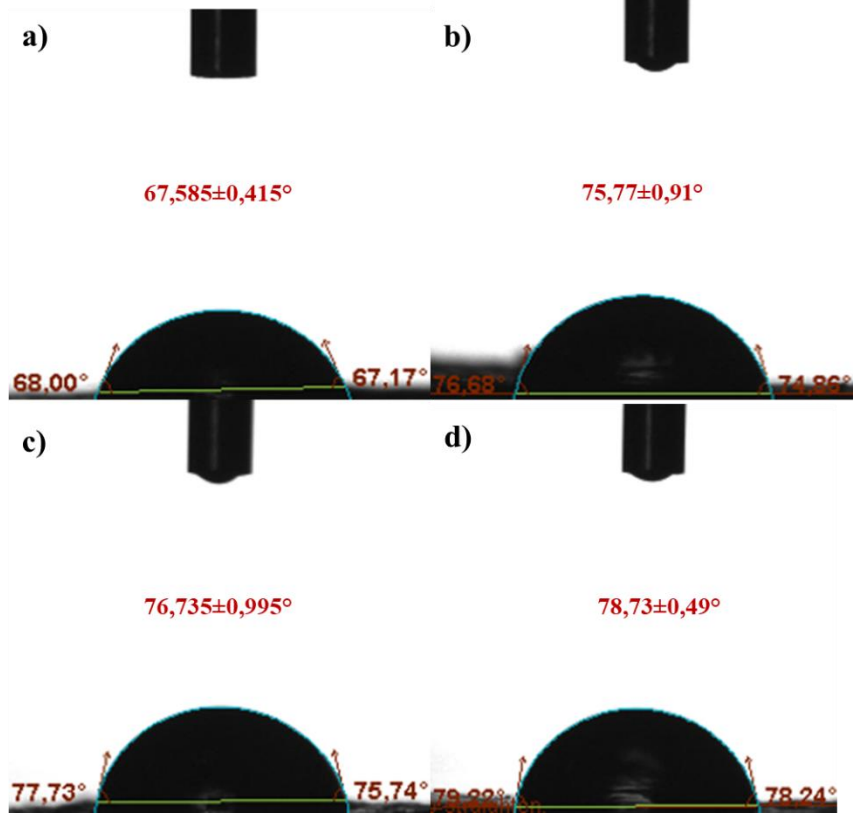


Şekil 3.8. %14PCL/PEG, %13,3PCL/%0,7PLA/PEG, %12,6PCL/%1,4 PLA/PEG, %11,9PCL/%2,1PLA/PEG içeren iskelelerin şişme analizleri.

3.2.3. Temas açısı ve serbest yüzey enerjisi

PCL'nin doku iskelesinin yapısında kullanılmasındaki en büyük sınırlamalar; temas açısının (111°) yüksek olması, düşük ıslanabilirliğe ve hidrofobik yapıya sahip olmasıdır (Abbasi ve ark, 2020; Sultana ve ark, 2017). PCL'nin yapısına PEG eklenmesi ile iskelelerin hidrofiliğini sağlamıştır. PLA'da yüksek temas açısı sebebiyle (110°) hidrofobik bir yapıdadır (Jia ve ark, 2017). Hidrofobik yüzeyler, daha düşük hücre yapışmasına neden olmaktadır (Safaeijavan ve ark, 2014).

Yapılan temas açısı ölçümü şekil 3.9.'da gösterilmiştir. Ortalama temas açıları sırayla $67,585 \pm 0,415^\circ$, $75,77 \pm 0,91^\circ$, $76,735 \pm 0,995^\circ$, $78,73 \pm 0,49^\circ$ 'dir. İlk iskelede PLA kullanılmadığı için temas açısı diğer iskelelere göre daha düşük çıkmıştır ve iskele en iyi hidrofilik yapıya sahip iskeledir. Diğer üç iskelede ise yapıya artan oranda PLA katıldığı için temas açısı artmış ve hidrofilik özellik azalmıştır.



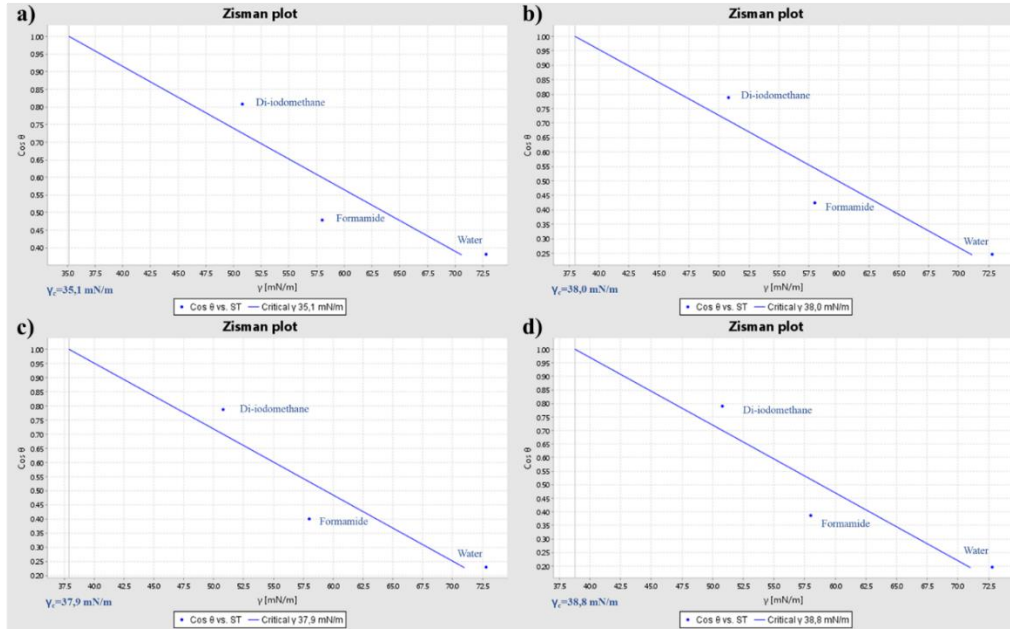
Şekil 3.9. a) %14PCL/PEG, b) %13,3PCL/%0,7PLA/PEG, c) %12,6PCL/%1,4 PLA/PEG, d) %11,9PCL/%2,1PLA/PEG içeren iskelelerin temas açıları.

Serbest yüzey enerjisi hesaplamaları için Zisman yöntemi kullanılmıştır. Temas açısı değerlerinin ölçümünde birden fazla sıvı kullanılır. Bu ölçümde sıvı olarak su, formamid ve diiodometan kullanılmıştır (Tablo 3.2.)

Tablo 3.2. Su, formamid ve diiodometanın temas açıları.

Numune	Water θ [°]	Formamide θ [°]	Di-iodomethane θ [°]
14PCL/PEG	67,585	61,42	36,102
13,3PCL/0,7PLA/PEG	75,77	64,93	37,96
12,6PCL/1,4PLA/PEG	76,735	66,41	38,09
11,9PCL/2,1PLA/PEG	78,73	67,27	37,81

Hazırlanan farklı numune için için su, formamid ve diiodometan sıvılarının kullanımıyla ölçülen temas açısı değerlerine bağlı olarak çizilen Zisman grafiği, şekil 3.10.'da gösterilmiştir

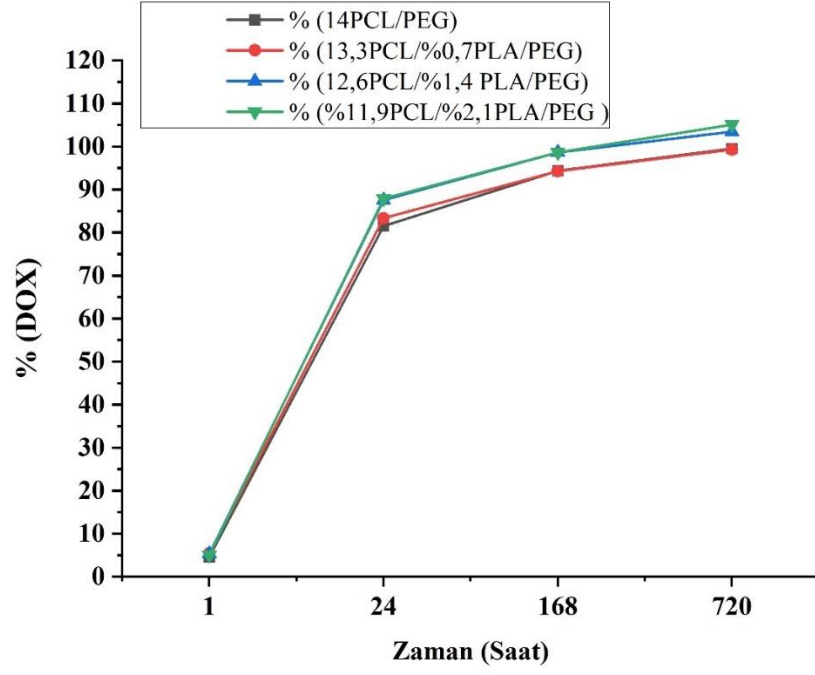


Şekil 3.10. a) % 14PCL/PEG, b) % 13,3PCL/%0,7PLA/PEG, c) % 12,6PCL/%1,4 PLA/PEG, d) % 11,9PCL/%2,1PLA/PEG içeren iskelelerin zisman grafiği.

3.2.4. İlaç salınım analizi

İlaç salınımı analizinde 0,5 mg/mL DOX (Doksorubisin) ilacı kullanılmış ve salınım daldırma kaplama yöntemi ile sağlanmıştır. DOX çözeltisi içinde üç gün süre bekletilerek ilacın tamamının iskele tarafından absorblanması sağlanmıştır. İlaç salınımı sağlanmış iskeleler deiyonize su içeren tüplere yerleştirilmiş ve ilk olarak 1 saat ardından sırası ile 24, 168 ve 720 saat bekletme sonrası tüplerden 5 mL solüsyon alınarak UV-VIS spektrometri ile analiz edilmiştir. Analiz için alınan her 5 mL solüsyon için için 5 mL deiyonize su ilavesi yapılmıştır.

%DOX salınımını hesaplamak için, 244 nm dalga boyundaki veriler seçilmiştir. Her bir numune için 1, 24, 168 ve 720. Saatlerdeki DOX salınımları eşitlik 2.8'de verilen %DOX formülü ile hesaplanmıştır. Bu hesaplamalar doğrultusunda çıkan sonuçlar şekil 3.11.'de gösterilmiştir. Şekil 3.11'e göre dört numune içinde birinci saatten itibaren ilaç salınımı gözlemlenmiştir.



Şekil 3.11. Doku iskelelerinin %DOX salınımı.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, ana bileşeni PCL olan malzemelerle dondurarak kurutma yöntemi ve çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi kullanılarak doku iskelesi üretimi yapılmıştır.

Dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan numuneler çift katmanlı olarak başarılı bir şekilde üretilmiştir. Bu çift katmanlı doku iskelelerine SEM, FTIR, XRD, temas açısı ve yüzey enerjisi analizleri gerçekleştirilmiştir.

Üretilen doku iskeleleri çift katmanlı ve gözeneklidir. İki katmanın gözenek yapısı birbirine benzerdir. Karbon nano tüp ilavesi ile gözenek oranı artmış ve en yüksek gözenek yüzdesi %53,733 ve %44,797 gözeneklilik ile en yüksek karbon nanotüp içeren iskelede elde edilmiştir. Bununla birlikte PCL/CHI/CNT iskelelerinin gözenek boyutlarının artması diğer hücre tiplerinin çoğalmasını desteklemesi açısından beklenen bir özelliktir.

FTIR analizi ile doku iskelesi üretimi için kullanılan çözelti karışımındaki polikaprolakton, kitosan ve karbon nanotüpten oluşan polimerlere ait karakteristik piklerin ve XRD analizi ile doku iskelelerinde kristal yapıya sahip polikaprolaktana ait piklerin varlığı tespit edilmiştir.

Polikaprolakton hidrofobik yapıdadır, kitosan ve karbon nanotüp ilavesi hidrofobik yapıyı azaltarak hidrofilik iskele oluşumunu sağlamıştır. Temas açısının azalması ile hidrofilik özellik artmaktadır ve en düşük temas açısına sahip dolayısı ile üretilen en biyouyumlu iskele PCL/CHI/%0,02 CNT içeren çözelti ile elde edilmiştir.

Doku iskelelerinin dokuya yapışması için en az 40 mN/m yüzey enerjisine sahip olması gereklidir ve üretilen doku iskelelerinin hesaplanan serbest yüzey enerjisi değeri 47,5-49,1 mN/m'dir.

Sonuç olarak dondurarak kurutma yöntemi ile iskelelerin hazırlanmasında PCL, CHI ve CNT'nin kullanılabilmesi ve çift katmanlı bir iskele oluşturacağı ortaya çıkmıştır.

İkinci çalışmada çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yöntemi ile doku iskelesi numuneleri üretilmiştir. Üretilen numunelerin dondurarak kurutma yöntemiyle

üretileen numunelere göre oldukça ince olduğu tespit edilmiştir. Bu doku iskelelerine SEM, FTIR, şişme testi, temas açısı ve yüzey enerjisi ve ilaç salınımı analizleri gerçekleştirilmiştir.

Üretilen doku iskelelerinin SEM mikroyapı incelemesi gözenek miktarının doku iskelesinden beklenen miktara oranla daha az olduğunu göstermiştir ve bu sonuç gözenek oluşumu sağlaması için kullanılan NaCl porojenlerinin iskelelerden tamamen uzaklaştırılmadığına işaret etmektedir.

FTIR spektrumunda bileşenlerin tüm karakteristik pikler görüldüğü gözlemlenmiştir.

Şişme testinde en yüksek şişme oranına sahip iskele %11,9PCL/%2,1PLA/PEG içeren iskeledir ve polilaktik asit oranı artışı ile şişme oranı artmıştır. Şişme oranı gözenek boyutuyla doğru orantılıdır. Hücrenel besin kaynaklarının aktarılmasını ve vücut sıvılarının emilimi kolaylaştırır.

Doku iskelelerinin dokuya yapışması için yaklaşık olarak en az 40 mN/m yüzey enerjisine sahip olması gereklidir ve üretilen doku iskelelerinin hesaplanan serbest yüzey enerjisi değeri 35,1-38,8 mN/m ile bu değere yakındır.

Yapılan ilaç salınımı analizinde doku iskelelerinin %DOX salınımı grafiğine bakıldığı zaman ilaç salınımı yapıldığı gözlemlenmiştir. Grafikte ilacın birinci saatten itibaren dört numune içinde salınım yaptığını ve 24. saatte dört numune için salınımın %80'e ulaştığı gözlemlenmiştir. Dört numune için salınım 720. saatte %100'e ulaşmıştır.

Doku iskelesinde kullanılan iki farklı yöntemle bakıldığında dondurarak kurutma yöntemi ile üretilen iskele yapısının istenilen iskele yapısına daha yakın olduğu tespit edilmiştir. Çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma yönteminde iskele yapısal olarak daha ince ve PCL'nin yanında PLA'nın kullanılması üretilecek iskelenin hidrofobik özelliğini arttırmıştır.

Bu tez çalışmasında hem malzeme açısından hem de yöntem açısından dondurarak kurutma yöntemi ile istenilen amaca en uygun doku iskelesi üretimi sağlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Abbasi, N., Hamlet, S., Dau, V. T., Nguyen, N. T. (2020). Calcium phosphate stability on melt electrowritten PCL scaffolds. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, 5(1), 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2020.01.001>
- Anjum, S., Rahman, F., Pandey, P., Arya, D. K., Alam, M., Rajinikanth, P. S., Ao, Q. (2022). Electrospun Biomimetic Nanofibrous Scaffolds: A Promising Prospect for Bone Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *International Journal of Molecular Sciences* 23(16), 9206. <https://doi.org/10.3390/IJMS23169206>
- Arıkan, A. (2013). *Doku İskelelerinin Süperkritik Karbondioksit Ortamında Hazırlanması Ve Karakterizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi.
- Armentano, I., Dottori, M., Fortunati, E., Mattioli, S., Kenny, J. M. (2010). Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: A review. *Polymer Degradation and Stability*, 95(11), 2126–2146. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.06.007>
- Aslan, H. (2023). *Evrım Ağacı*. <https://evrimagaci.org/karbon-nanotup-nedir-uygulama-alanlari-nelerdir-15594>
- Aytuğlu, E. B. (2021). *Kafeik Asit Fenetil Ester Yüklü Kitosan Nanopartikül İçeren Doku İskelesi Üretimi ve Karakterizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi.
- Azizi, M., Azimzadeh, M., Afzali, M., Alafzadeh, M., Mirhosseini, S. H. (2018). Characterization and optimization of using calendula officinalis extract in fabrication of polycaprolactone-gelatin electrospun nanofibers for wound dressing applications. *Journal of Advanced Materials and Processing*, 6(2), 34–46.
- Bailon, P., Berthold, W. (1998). Polyethylene glycol-conjugated pharmaceutical proteins. *Pharmaceutical Science and Technology Today*, 1(8), 352–356. [https://doi.org/10.1016/S1461-5347\(98\)00086-8](https://doi.org/10.1016/S1461-5347(98)00086-8)
- Bajaj, P., Schweller, R. M., Khademhosseini, A., West, J. L., Bashir, R. (2014). 3D biofabrication strategies for tissue engineering and regenerative medicine. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 16(1), 247–276. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071813-105155>
- Balan, K. E. (2021). *Uyarıya Duyarlı Hidrojellerin Sentezlenmesi ve İlaç Salım Davranışlarının İncelenmesi*. İnönü Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.
- Baldwin, S. P., Saltzman, W. M. (1998). Materials for protein delivery in tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 33(1–2), 71–86. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(98\)00021-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(98)00021-0)
- Boncukçu, N. (2023). *Biyoaktif Doku İskelesi Üretimi ve Antimikrobiyal Aktivitesinin Değerlendirilmesi*. Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi.

- Bose, S., Roy, M., Bandyopadhyay, A. (2012). Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Trends in Biotechnology*, 30(10), 546–554. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.07.005>
- Boztepe, C., Künkül, A., Yüceer, M. (2020). Application of artificial intelligence in modeling of the doxorubicin release behavior of pH and temperature responsive poly(NIPAAm-co-AAc)-PEG IPN hydrogel. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 57, 101603. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101603>
- Bružauskaitė, I., Bironaitė, D., Bagdonas, E., Bernotienė, E. (2016). Scaffolds and cells for tissue regeneration: different scaffold pore sizes-different cell effects. *Cytotechnology*, 68(3), 355–369. <https://doi.org/10.1007/S10616-015-9895-4>
- Bülbül, Y. E. (2019). *Kemik doku mühendisliğine yönelik çok katmanlı karbon nanotüp katkılı poli (laktik asit) / polivinilpirolidon biyokompozit nanofiberlerin sentezlenmesi ve karakterizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi.
- Caddeo, S., Boffito, M., Sartori, S. (2017). Tissue Engineering Approaches in the Design of Healthy and Pathological In Vitro Tissue Models. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2017.00040>
- Can, N., Ersoy, M. (2014). Nanolif Yapılı Polimerik Doku İskeleleri. *Tekstil ve Mühendis*, 21(95), 37–50. <https://doi.org/10.7216/130075992014219505>
- Cellot, G., Cilia, E., Cipollone, S., Rancic, V., Sucapane, A., Giordani, S., Gambazzi, L., Markram, H., Grandolfo, M., Scaini, D., Gelain, F., Casalis, L., Prato, M., Giugliano, M., Ballerini, L. (2009). Carbon nanotubes might improve neuronal performance by favouring electrical shortcuts. *Nature Nanotechnology*, 4(2), 126–133. <https://doi.org/10.1038/nnano.2008.374>
- Cesur, S., Cam, M. E., Sayın, F. S., Su, S., Gunduz, O. (2020). Controlled Release of Metformin Loaded Polyvinyl Alcohol (PVA) Microbubble/Nanoparticles Using Microfluidic Device for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 38(17), 185–193. https://doi.org/10.1007/978-3-030-45385-5_17
- Chiang, B. W., Ibrahim, N. A., Yunus, W. M. Z. W., Hussein, M. Z. (2014). Poly(lactic acid)/Poly(ethylene glycol) Polymer Nanocomposites: Effects of Graphene Nanoplatelets. *Polymers*, 6(1), 93–104, <https://doi.org/10.3390/polym6010093>
- Chou, Y. C., Lee, D., Chang, T. M., Hsu, Y. H., Yu, Y. H., Liu, S. J., Ueng, S. W. N. (2016). Development of a Three-Dimensional (3D) Printed Biodegradable Cage to Convert Morselized Corticocancellous Bone Chips into a Structured Cortical Bone Graft. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(4), 595. <https://doi.org/10.3390/ijms17040595>
- Chung, H. J., Park, T. G. (2007). Surface engineered and drug releasing pre-fabricated scaffolds for tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(4–5), 249–262. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.03.015>
- Collins, M. N., Ren, G., Young, K., Pina, S., Reis, R. L., Oliveira, J. M. (2021). Scaffold Fabrication Technologies and Structure/Function Properties in Bone Tissue Engineering. *Advanced Functional Materials*, 31(21). <https://doi.org/10.1002/adfm.202010609>

- Correia, C. R., Moreira-Teixeira, L. S., Moroni, L., Reis, R. L., Van Blitterswijk, C. A., Karperien, M., Mano, J. F. (2011). Chitosan Scaffolds Containing Hyaluronic Acid for Cartilage Tissue Engineering. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 17(7), 717–730. <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2010.0467>
- Costa, P. F. (2015). Bone Tissue Engineering Drug Delivery. *Current Molecular Biology Reports*, 1(2), 87–93. <https://doi.org/10.1007/S40610-015-0016-0>
- Doustgani, A. (2017). Doxorubicin release from optimized electrospun polylactic acid nanofibers. *Journal of Industrial Textiles*, 47(1), 71–88. <https://doi.org/10.1177/1528083716634033>
- Eldeeb, A. E., Salah, S., Elkasabgy, N. A. (2022). Biomaterials for Tissue Engineering Applications and Current Updates in the Field: A Comprehensive Review. *AAPS PharmSciTech*, 23(7). <https://doi.org/10.1208/S12249-022-02419-1>
- Eltom, A., Zhong, G., Muhammad, A. (2019). Scaffold Techniques and Designs in Tissue Engineering Functions and Purposes: A Review. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/3429527>
- Eren, O., Ucar, N., Onen, A., Kizildag, N., Karacan, I. (2015). Synergistic effect of polyaniline, nanosilver, and carbon nanotube mixtures on the structure and properties of polyacrylonitrile composite nanofiber. *Journal of Composite Materials*, 50(15), 2073–2086. <https://doi.org/10.1177/0021998315601891>
- Ergin, E., Ekici, Y., Ataç, F. B. (2018). Doku Mühendisliği ve Uygulama Alanları. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 38(1), 70–78. <https://doi.org/10.5336/medsci.2017-57770>
- Eskitoros Toğay, Ş. M. (2018). *İlaç Taşıyıcı Sistemler İçin Elektro-Eğirme Yöntemi Kullanılarak Pcl Esaslı Membranların Geliştirilmesi*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi.
- Farzin, A., Etesami, S. A., Goodarzi, A., Ai, J. (2019). A facile way for development of three-dimensional localized drug delivery system for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 105, 110032. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110032>
- Fellows, P. J. (2017). Freeze drying and freeze concentration. *Food Processing Technology*, 3, 929–945. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100522-4.00023-7>
- Firoozi, N., Rezayan, A. H., Tabatabaei Rezaei, S. J., Mir-Derikvand, M., Nabid, M. R., Nourmohammadi, J., Mohammadnejad Arough, J. (2017). Synthesis of poly(ϵ -caprolactone)-based polyurethane semi-interpenetrating polymer networks as scaffolds for skin tissue regeneration. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 66(16), 805–811. <https://doi.org/10.1080/00914037.2016.1276059>
- Flores-Rojas, G. G., Gómez-Lazaro, B., López-Saucedo, F., Vera-Graziano, R., Bucio, E., Mendizábal, E. (2023). Electrospun Scaffolds for Tissue Engineering: A Review. *Macromol*, 3(3), 524–553. <https://doi.org/10.3390/macromol3030031>
- Formlabs, (2020), <https://formlabs.com/eu/blog/what-is-selective-laser-sintering/>.

- Garrison, C. M., Singh-Varma, A., Pastino, A. K., Steele, J. A. M., Kohn, J., Murthy, N. S., Schwarzbauer, J. E. (2021). A multilayered scaffold for regeneration of smooth muscle and connective tissue layers. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 109(5), 733–744. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37058>
- Gerçek Beşkardeş, I. (2008). *Biyoseramik Ve Biyosinyal Moleküllerle Desteklenmiş Poli(Kaprolakton) Doku İskeleleri: Sentez, Karakterizasyon Ve Kemik Doku Mühendisliği Uygulamaları*. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi.
- Guarino, V., Causa, F., Taddei, P., di Foggia, M., Ciapetti, G., Martini, D., Fagnano, C., Baldini, N., Ambrosio, L. (2008). Polylactic acid fibre-reinforced polycaprolactone scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 29(27), 3662–3670. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.05.024>
- Gunatillake, P. A., Adhikari, R., Gadegaard, N. (2003). Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. *European Cells and Materials*, 5, 1–16. <https://doi.org/10.22203/eCM.v005a01>
- Guo, S., Jiang, Y., Jiao, J., Shi, Y., Zhu, T., Li, L. (2023). Electrospun gelatin-based biomimetic scaffold with spatially aligned and three-layer architectures for vascular tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 242(3). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125039>
- Gümüşderelioğlu, M. (2010). Doku mühendisliği ve ürünleri. *Bilim ve Teknik*, 516, 70–75.
- Hasan, A., Waibhaw, G., Saxena, V., Pandey, L. M. (2018). Nano-biocomposite scaffolds of chitosan, carboxymethyl cellulose and silver nanoparticle modified cellulose nanowhiskers for bone tissue engineering applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 923–934. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.089>
- Hassanajili, S., Karami-Pour, A., Oryan, A., Talaei-Khozani, T. (2019). Preparation and characterization of PLA/PCL/HA composite scaffolds using indirect 3D printing for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 104. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109960>
- Ikada, Y. (2006). Challenges in tissue engineering. *Journal of the Royal Society Interface*, 3(10), 589–601. <https://doi.org/10.1098/rsif.2006.0124>
- Jana, S., Leung, M., Chang, J., Zhang, M. (2014). Effect of nano- and micro-scale topological features on alignment of muscle cells and commitment of myogenic differentiation. *Biofabrication*, 6(3), 035012. <https://doi.org/10.1088/1758-5082/6/3/035012>
- Janik, H., Marzec, M. (2015). A review: Fabrication of porous polyurethane scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, 48, 586–591. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.12.037>
- Jia, S., Yu, D., Zhu, Y., Wang, Z., Chen, L., Fu, L. (2017). Morphology, Crystallization and Thermal Behaviors of PLA-Based Composites: Wonderful Effects of Hybrid GO/PEG via Dynamic Impregnating. *Polymers*, 9(10), 528. <https://doi.org/10.3390/polym9100528>

- Jiang, Z., Zheng, Z., Yu, S., Gao, Y., Ma, J., Huang, L., Yang, L. (2023). Nanofiber Scaffolds as Drug Delivery Systems Promoting Wound Healing. *Pharmaceutics* 2023, 15(7), 1829. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15071829>
- Jirkovec, R., Erben, J., Sajdl, P., Chaloupek, J., Chvojka, J. (2021). The effect of material and process parameters on the surface energy of polycaprolactone fibre layers. *Materials and Design*, 205, 109748. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2021.109748>
- Kang, X., Xie, Y., Powell, H. M., James Lee, L., Belury, M. A., Lannutti, J. J., Kniss, D. A. (2007). Adipogenesis of murine embryonic stem cells in a three-dimensional culture system using electrospun polymer scaffolds. *Biomaterials*, 28(3), 450–458. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.08.052>
- Karakeçili, A., Arıkan, A. (2012). Preparation of Chitosan-Nanohydroxyapatite Composite Scaffolds by a Supercritical CO₂ Assisted Process. *Polymers and Polymer Composites*, 33(7), 101–113. <https://doi.org/10.1002/pc.22253>
- Khan, M. U. A., Stojanović, G. M., Abdullah, M. F. Bin, Dolatshahi-Pirouz, A., Marei, H. E., Ashammakhi, N., Hasan, A. (2024). Fundamental properties of smart hydrogels for tissue engineering applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254(3). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127882>
- Konta, A. A., García-Piña, M., Serrano, D. R. (2017). Personalised 3D Printed Medicines: Which Techniques and Polymers Are More Successful *Bioengineering*, 4(79), 1-16. <https://doi.org/10.3390/bioengineering4040079>
- Kumar, S., Bose, S., Chatterjee, K. (2014). Amine-functionalized multiwall carbon nanotubes impart osteoinductive and bactericidal properties in poly(ϵ -caprolactone) composites. *RSC Advances*, 4(37), 19086–19098. <https://doi.org/10.1039/C4RA00875H>
- Kurtuluş, G., Vardar, F. (2020). Kitosanın Özellikleri, Uygulama Alanları, Bitki Sistemlerine Etkileri. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*, 32(3), 258–269. <https://doi.org/10.7240/jeps.635430>
- Kweon, H. Y., Yoo, M. K., Park, I. K., Kim, T. H., Lee, H. C., Lee, H. S., Oh, J. S., Akaike, T., Cho, C. S. (2003). A novel degradable polycaprolactone networks for tissue engineering. *Biomaterials*, 24(5), 801–808. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00370-8](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00370-8)
- Langer, R. (2007). Tissue engineering: perspectives, challenges, and future directions. *Tissue Engineering*, 13(1), 1–2. <https://doi.org/10.1089/ten.2006.0219>
- Langer, R., Vacanti, J. (1993). Science. *Educational Forum*, 15(1), 119–120. <https://doi.org/10.1080/00131725009342110>
- Lee, S. H., 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. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.03.016>
- Leong, K. F., Cheah, C. M., Chua, C. K. (2003). Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs. *Biomaterials*, 24(13), 2363–2378. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00030-9](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00030-9)

- Li, B. Q., Dong, X., Fang, S. H., Gao, J. Y., Yang, G. Q., Zhao, H. (2011). Systemic toxicity and toxicokinetics of a high dose of polyethylene glycol 400 in dogs following intravenous injection. *Drug and Chemical Toxicology*, 34(2), 208–212. <https://doi.org/10.3109/01480545.2010.500292>
- Li, L., Hao, R., Qin, J., Song, J., Chen, X., Rao, F., Zhai, J., Zhao, Y., Zhang, L., Xue, J. (2022). Electrospun Fibers Control Drug Delivery for Tissue Regeneration and Cancer Therapy. *Advanced Fiber Materials*, 4(6), 1375–1413. <https://doi.org/10.1007/S42765-022-00198-9>
- Li, W., Hu, Y., Shi, L., Zhang, X., Xiong, L., Zhang, W., Ullah, I. (2018). Electrospinning of Polycaprolactone/Pluronic F127 dissolved in glacial acetic acid: fibrous scaffolds fabrication, characterization and in vitro evaluation. *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition*, 29(10), 1155–1167. <https://doi.org/10.1080/09205063.2018.1439431>
- Liber-Kneć, A., Łagan, S. (2021). Surface Testing of Dental Biomaterials—Determination of Contact Angle and Surface Free Energy. *Materials*, 14(11), 2716. <https://doi.org/10.3390/MA14112716>
- Liu, C., Xia, Z., Czernuszka, J. T. (2007). Design and Development of Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering. *Chemical Engineering Research and Design*, 85(7), 1051–1064. <https://doi.org/10.1205/cherd06196>
- Liu, X., Ma, P. X. (2004). Polymeric scaffolds for bone tissue engineering. *Annals of Biomedical Engineering*, 32(3), 477–486. <https://doi.org/10.1023/b:abme.0000017544.36001.8E>
- Lu, T., Li, Y., Chen, T. (2013). Techniques for fabrication and construction of three-dimensional scaffolds for tissue engineering. *International Journal of Nanomedicine*, 8, 337–350. <https://doi.org/10.2147/IJN.S38635>
- Ma, P. X. (2004). Scaffolds for tissue fabrication. *Materials Today*, 7(5), 30–40. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(04\)00233-0](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(04)00233-0)
- Manoj, B., Raj, A. M., Thomas, G. C. (2018). Tailoring of low grade coal to fluorescent nanocarbon structures and their potential as a glucose sensor. *Scientific Reports*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32371-9>
- Mikos, A. G., Temenoff, J. S. (2000). Formation of highly porous biodegradable scaffolds for tissue engineering. *Electronic Journal of Biotechnology*, 3(2), 114–119. <https://doi.org/10.2225/vol3-issue2-fulltext-5>
- Mortimer, C. J., Wright, C. J. (2017). The fabrication of iron oxide nanoparticle-nanofiber composites by electrospinning and their applications in tissue engineering. *Biotechnology Journal*, 12(7), 1–10. <https://doi.org/10.1002/biot.201600693>
- Mota, C., Puppi, D., Dinucci, D., Gazzarri, M., Chiellini, F. (2013). Additive manufacturing of star poly(ϵ -caprolactone) wet-spun scaffolds for bone tissue engineering applications. 28(4), 320–340. <https://doi.org/10.1177/0883911513490341>
- Murphy, C. M., O'Brien, F. J., Little, D. G., Schindeler, A. (2013). Cell-scaffold interactions in the bone tissue engineering triad. *European Cells and Materials*, 26, 120–132. <https://doi.org/10.22203/eCM.v026a09>

- Murugan, S., Parcha, S. R. (2021). Fabrication techniques involved in developing the composite scaffolds PCL/HA nanoparticles for bone tissue engineering applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 32(8), 1–10. <https://doi.org/10.1007/S10856-021-06564-0/tables/4>
- Naderi, H., Matin, M. M., Bahrami, A. R. (2011). Review paper: Critical issues in tissue engineering: Biomaterials, cell sources, angiogenesis, and drug delivery systems. *Journal of Biomaterials Applications*, 26(4), 383–417. <https://doi.org/10.1177/0885328211408946>
- Nair, L. S., Laurencin, C. T. (2007). Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science*, 32(8–9), 762–798. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.05.017>
- Nga, N. K., Thanh Tam, L. T., Ha, N. T., Hung Viet, P., Huy, T. Q. (2020). Enhanced biomineralization and protein adsorption capacity of 3D chitosan/hydroxyapatite biomimetic scaffolds applied for bone-tissue engineering. *RSC Advances*, 10(70), 43045–43057. <https://doi.org/10.1039/D0RA09432C>
- O'Brien, F. J. (2011). Biomaterials scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, 14(3), 88–95. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(11\)70058-X](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70058-X)
- Ohara, S., Adschiri, T., Ida, T., Yashima, M., Mikayama, T., Abe, H., Setsuhara, Y., Nogi, K., Miyahara, M., Kaneko, K., Ohtomo, A. (2008). Characterization Methods For Nanostructure Of Materials. *Nanoparticle Technology Handbook*, 267–315. <https://doi.org/10.1016/B978-044453122-3.50008-8>
- Osorio-Arciniega, R., García-Hipólito, M., Alvarez-Fregoso, O., Alvarez-Perez, M. A. (2021). Composite Fiber Spun Mat Synthesis and In Vitro Biocompatibility for Guide Tissue Engineering. *Molecules*, 26(24), 7597. <https://doi.org/10.3390/molecules26247597>
- Oyama, H. T., Tanaka, Y., Kadosaka, A. (2009). Rapid controlled hydrolytic degradation of poly(l-lactic acid) by blending with poly(aspartic acid-co-l-lactide). *Polymer Degradation and Stability*, 94(9), 1419–1426. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2009.05.008>
- Özbek, B. (2019). *3 Boyutlu Yazıcı Yardımıyla Doku Mühendisliği İçin İskelet Yapı Üretimi*. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi.
- Pachence, J. M., Kohn, J. (2000). Biodegradable Polymers. *Principles of Tissue Engineering (Second Edition)*, 51, 263-277. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-436630-5.50026-X>
- Park, J. S., Woo, D. G., Sun, B. K., Chung, H. M., Im, S. J., Choi, Y. M., Park, K., Huh, K. M., Park, K. H. (2007). In vitro and in vivo test of PEG/PCL-based hydrogel scaffold for cell delivery application. *Journal of Controlled Release*, 124(1–2), 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2007.08.030>
- Park, S. A., Lee, S. H., Kim, W. D. (2011). Fabrication of porous polycaprolactone/hydroxyapatite (PCL/HA) blend scaffolds using a 3D plotting system for bone tissue engineering. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 34(4), 505–513. <https://doi.org/10.1007/S00449-010-0499-2/metrics>

- Pillai, C. K. S., Paul, W., Sharma, C. P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*, 34(7), 641–678. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001>
- Preethi, G. U., Sreekutty, J., Unnikrishnan, B. S., Archana, M. G., Syama, H. P., Deepa, M., Shiji, R., Anusree, K. S., Sreelekha, T. T. (2020). Doxorubicin eluting microporous polysaccharide scaffolds: An implantable device to expunge tumour. *Materials Science and Engineering: C*, 107, 110332. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110332>
- Priselac, D., Poljaček, S. M., Tomašegović, T., Leskovic, M. (2022). Blends Based on Poly(ϵ -Caprolactone) with Addition of Poly(Lactic Acid) and Coconut Fibers: Thermal Analysis, Ageing Behavior and Application for Embossing Process. *Polymers*, 14(9), 1792. <https://doi.org/10.3390/polym14091792>
- Puppi, D., Chiellini, F., Piras, A. M., Chiellini, E. (2010). Polymeric materials for bone and cartilage repair. *Progress in Polymer Science*, 35(4), 403–440. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2010.01.006>
- Rambhia, K. J., Ma, P. X. (2015). Controlled drug release for tissue engineering. *Journal of Controlled Release*, 219, 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.08.049>
- Ramírez-Cedillo, E., Ortega-Lara, W., Rocha-Pizaña, M. R., Gutierrez-Urbe, J. A., Elías-Zúñiga, A., Rodríguez, C. A. (2019). Electrospun Polycaprolactone Fibrous Membranes Containing Ag, TiO₂ and Na₂Ti₆O₁₃ Particles for Potential Use in Bone Regeneration. *Membranes*, 9(1), 12. <https://doi.org/10.3390/membranes9010012>
- Ratner, B. D. (2013). Surface Properties and Surface Characterization of Biomaterials. *Biomaterials Science: An Introduction to Materials: Third Edition*, 34–55. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-087780-8.00005-X>
- Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: a review. *Journal of Food Engineering*, 49(4), 311–319. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00228-4](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00228-4)
- Safaeijavan, R., Soleimani, M., Divsalar, A., Eidi, A., Ardeshirylajimi, A. (2014). Biological behavior study of gelatin coated PCL nanofibrous electrospun scaffolds using fibroblasts. *Archives of Advances in Biosciences*, 5(1). <https://doi.org/10.22037/JPS.V5I1.5467>
- Salgado, A. J., Coutinho, O. P., Reis, R. L. (2004). Bone tissue engineering: State of the art and future trends. *Macromolecular Bioscience*, 4(8), 743–765. <https://doi.org/10.1002/mabi.200400026>
- Schubert, C., Van Langeveld, M. C., Donoso, L. A. (2014). Innovations in 3D printing: a 3D overview from optics to organs. *British Journal of Ophthalmology*, 98(2), 159–161. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2013-304446>
- Sheikh, Z., Najeeb, S., Khurshid, Z., Verma, V., Rashid, H., Glogauer, M. (2015). Biodegradable Materials for Bone Repair and Tissue Engineering Applications. *Materials*, 8(9), 5744–5794. <https://doi.org/10.3390/MA8095273>

- Shor, L., Güçeri, S., Chang, R., Gordon, J., Kang, Q., Hartsock, L., An, Y., Sun, W. (2009). Precision extruding deposition (PED) fabrication of polycaprolactone (PCL) scaffolds for bone tissue engineering. *Biofabrication*, 1(1), 015003. <https://doi.org/10.1088/1758-5082/1/1/015003>
- Siboni, S., Della Volpe, C., Maniglio, D., Brugnara, M. (2004). The solid surface free energy calculation: II. The limits of the Zisman and of the “equation-of-state” approaches. *Journal of Colloid and Interface Science*, 271(2), 454–472. <https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2003.09.050>
- Siddiqui, N., Asawa, S., Birru, B., Baadhe, R., Rao, S. (2018). PCL-Based Composite Scaffold Matrices for Tissue Engineering Applications. *Molecular Biotechnology*, 60(7), 506–532. <https://doi.org/10.1007/s12033-018-0084-5>
- Sill, T. J., von Recum, H. A. (2008). Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*, 29(13), 1989–2006. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.01.011>
- Simon, C. G. (2021). *National Institute of Standards and Technology*. <https://www.nist.gov/mml/bbd/biomaterials/reference-scaffolds>
- Sinha, V. R., Bansal, K., Kaushik, R., Kumria, R., Trehan, A. (2004). Poly- ϵ -caprolactone microspheres and nanospheres: an overview. *International Journal of Pharmaceutics*, 278(1), 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.01.044>
- Skalová, Š., Langmaier, J., Barek, J., Vyskočil, V., Navrátil, T. (2020). Doxorubicin determination using two novel voltammetric approaches: A comparative study. *Electrochimica Acta*, 330, 135180. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.135180>
- Soares, F., Ribeiro, N., Baião, A., Torres, P. M. C., Sarmiento, B., Olhero, S. M. (2023). Sustained drug release from sintering-free calcium phosphate-based scaffolds. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 88. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104906>
- Sokolsky-Papkov, M., Agashi, K., Olaye, A., Shakesheff, K., Domb, A. J. (2007). Polymer carriers for drug delivery in tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(4–5), 187–206. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.04.001>
- Suamte, L., Tirkey, A., Barman, J., Jayasekhar Babu, P. (2023). Various manufacturing methods and ideal properties of scaffolds for tissue engineering applications. *Smart Materials in Manufacturing*, 1, 100011. <https://doi.org/10.1016/j.smmf.2022.100011>
- Subia, B., Kundu, J., C., S. (2010). Biomaterial Scaffold Fabrication Techniques for Potential Tissue Engineering Applications. *Tissue Engineering*, 143–158. <https://doi.org/10.5772/8581>
- Sultana, T., Amirian, J., Park, C., Lee, S. J., Lee, B. T. (2017). Preparation and characterization of polycaprolactone–polyethylene glycol methyl ether and polycaprolactone–chitosan electrospun mats potential for vascular tissue engineering. *32(5)*, 648–662. <https://doi.org/10.1177/0885328217733849>
- Tandoğan, E. (2019). *DocPlayer.biz.tr*. <https://docplayer.biz.tr/105044319-Biyomalzeme-nedir-insan-vucudundaki-canli-dokularin-islevlerini-yerine-getirmek-desteklemek-kullanilan-dogal-ya-da-sentetik-malzemeler.html>

- Tang, Z. G., Black, R. A., Curran, J. M., Hunt, J. A., Rhodes, N. P., Williams, D. F. (2004). Surface properties and biocompatibility of solvent-cast poly[ϵ -caprolactone] films. *Biomaterials*, 25(19), 4741–4748. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.12.003>
- Tıǧlı, S. R., Karakeçili, A., Gümüşderelioǧlu, M. (2007). In vitro characterization of chitosan scaffolds: Influence of composition and deacetylation degree. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(9), 1665–1674. <https://doi.org/10.1007/s10856-007-3066-x>
- Top, N., Gökçe, H. (2020). *Doku Mühendisliğinde Bilgisayar Destekli Yapay Kemik İskelesi Tasarımı*, İksad Yayınevi. www.iksadyayinevi.com
- Vaiani, L., Uva, A. E., Boccaccio, A. (2023). Structural and topological design of conformal bilayered scaffolds for bone tissue engineering. *Thin-Walled Structures*, 192, 111209. <https://doi.org/10.1016/j.tws.2023.111209>
- Vesvoranan, O., Anup, A., Hixon, K. R. (2022). Current Concepts and Methods in Tissue Interface Scaffold Fabrication. *Biomimetics*, 7(4), 151. <https://doi.org/10.3390/biomimetics7040151>
- Vikipedi, (2022), https://tr.wikipedia.org/wiki/Polilaktik_asit#/media/Dosya:Polylactid_skeletal.svg
- Vikipedi, (2023), Vikipedi: https://tr.wikipedia.org/wiki/Polietilen_glikol
- Wang, L., Wang, C., Zhou, L., Bi, Z., Shi, M., Wang, D., Li, Q. (2021). Fabrication of a novel Three-Dimensional porous PCL/PLA tissue engineering scaffold with high connectivity for endothelial cell migration. *European Polymer Journal*, 161, 110834. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110834>
- Weska, R. F., Moura, J. M., Batista, L. M., Rizzi, J., Pinto, L. A. A. (2007). Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 80(3), 749–753. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.02.006>
- Weyhrich, C. W., Petrova, S. P., Edgar, K. J., Long, T. E. (2023). Renewed interest in biopolymer composites: incorporation of renewable, plant-sourced fibers. *Green Chemistry*, 25, 106-129. doi:10.1039/D2GC03384D
- Woodruff, M. A., Hutmacher, D. W. (2010). The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science*, 35(10), 1217–1256. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002>
- Yıldırım, S. (2018). *Grafen Oksit Katkılı Nanokompozit Doku İskelelerinin Süperkritik Karbondioksit Ortamında Hazırlanması Ve Karakterizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi.
- Zamani, M., Prabhakaran, M. P., Ramakrishna, S. (2013). Advances in drug delivery via electrospun and electrosprayed nanomaterials. *International Journal of Nanomedicine*, 8, 2997–3017. <https://doi.org/10.2147/IJN.S43575>
- Zhang, M., Li, X. H., Gong, Y. D., Zhao, N. M., Zhang, X. F. (2002). Properties and biocompatibility of chitosan films modified by blending with PEG. *Biomaterials*, 23(13), 2641–2648. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00403-3](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00403-3)

- Zheng, J., Zhao, F., Zhang, W., Mo, Y., Zeng, L., Li, X., Chen, X. (2018). Sequentially-crosslinked biomimetic bioactive glass/gelatin methacryloyl composites hydrogels for bone regeneration. *Materials Science and Engineering: C*, 89, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.03.029>
- Zielińska, A., Karczewski, J., Eder, P., Kolanowski, T., Szalata, M., Wielgus, K., Szalata, M., Kim, D., Shin, S. R., Słomski, R., Souto, E. B. (2023). Scaffolds for drug delivery and tissue engineering: The role of genetics. *Journal of Controlled Release*, 359, 207–223. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.05.042>
- Zimina, A., Senatov, F., Choudhary, R., Kolesnikov, E., Anisimova, N., Kiselevskiy, M., Orlova, P., Strukova, N., Generalova, M., Manskikh, V., Gromov, A., Karyagina, A. (2020). Biocompatibility and Physico-Chemical Properties of Highly Porous PLA/HA Scaffolds for Bone Reconstruction. *Polymers*, 12(12), 2938. <https://doi.org/10.3390/polym12122938>
- Zohora, F. T., Azim, A. Y. M. A. (2014). Biomaterials As Porous Scaffolds for Tissue Engineering Applications: A Review. *European Scientific Journal*, 10(21), 186–209.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Canan DURUKAN GÜL

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2020, Düzce Üniversite, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği
- **Yükseklisans** : Devam ediyor, Sakarya Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği

MESLEKİ DENEYİMİ:

- 2021-halen Dehas Medikal Gaz Teknik Ltd. Şti. firmasında Biyomedikal mühendisi olarak çalışmakta.

TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER:

- Durukan Gül, C., İpek, M., Camcı, Y ve Türk, S. 2023. Dondurarak Kurutma Yöntemiyle Oluşturulan Çift Katmanlı Doku İskelesinin Karakterizasyonu, 2. Uluslararası Mühendislik ve Fen Bilimleri Kongresi, 127-137