



**KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİNE YÖNELİK ÇOK KATMANLI  
KARBON NANOTÜP KATKILI POLİ (LAKTİK ASİT)/  
POLİVİNİLPIROLİDON BİYOKOMPOZİT NANOFİBERLERİN  
SENTEZLENMESİ VE KARAKTERİZASYONU**

**Yunus Emre BÜLBÜL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAYIS 2019**

Yunus Emre BÜLBÜL tarafından hazırlanan “KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİNE YÖNELİK ÇOK KATMANLI KARBON NANOTÜP KATKILI POLİ (LAKTİK ASİT)/ POLİVİNİLPIROLİDON BİYOKOMPOZİT NANOFİBERLERİN SENTEZLENMESİ VE KARAKTERİZASYONU” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. Nursel DİLSİZ

Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum. ....

**Başkan:** Prof. Dr. Nuray YILDIZ

Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum. ....

**Üye:** Prof. Dr. Nurdan SARAÇOĞLU

Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum. ....

Tez Savunma Tarihi: 28/05/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....  
Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
  - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
  - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Yunus Emre BÜLBÜL

28/05/2019



KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİNE YÖNELİK ÇOK KATMANLI KARBON  
NANOTÜP KATKILI POLİ (LAKTİK ASİT)/ POLİVİNİLPIROLİDON  
BİYOKOMPOZİT NANOFİBERLERİN SENTEZLENMESİ VE  
KARAKTERİZASYONU

(Yüksek Lisans Tezi)

Yunus Emre BÜLBÜL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2019

ÖZET

Tez çalışmasının amacı, kemik doku mühendisliğine yönelik, (-OH) veya (-COOH) ile fonksiyonelleştirilmiş çok katmanlı karbon nanotüp (ÇKNT) içeren poli(laktik asit) (PLA)/polivinilpirolidon (PVP) kompozit fibröz iskelelerin elektro-eğirme tekniğiyle geliştirilmesi, karakterizasyonu ve *in vitro* etkinliğinin değerlendirilmesidir. Öncelikle poli (laktik asit) (PLA)/Polivinilpirolidon (PVP) polimerlerinden kütlece %10 (w/v) PLA ile %2 (w/v) PVP polimerlerini içeren çözelti, hacimce 70:30 (v/v) oranında tetrahidrofuran (THF): dimetilformamid (DMF) çözücü karışımında hazırlanarak kontrol grubunu oluşturan iskele üretilmiştir. Daha sonra bu polimer karışımına ÇKNT<sub>COOH</sub> veya ÇKNT<sub>OH</sub> %0,25, %0,5 ve %1,0 (toplam polimer kütlesince w/w) oranlarında eklenerek kompozit fibröz iskelelerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen fibröz iskelelerin morfolojik, fizikokimyasal ve mekanik özellikleri, taramalı elektron mikroskobu (SEM), atomik kuvvet mikroskobu (AFM), Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), X-ışını kırınımı (XRD), yüzey temas açısı, hidrolitik bozunma ve çekme dayanımı analizleri ile belirlenmiştir. Ayrıca, preosteoblastik MC3T3-E1 hücreleriyle yapılan *in vitro* hücre proliferasyonu çalışmasıyla doku iskelesi olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. SEM ve AFM sonuçlarına göre tüm iskeleler boncuksuz ve düzgün morfolojide üretilmiştir. FTIR spektrumları tüm iskele bileşenlerinin karakteristik özelliklerini koruduğunu; XRD kırınım desenleri ise PLA'nın belirgin özellik gösterdiğini ve tüm iskelelerin amorf yapıda olduğunu göstermiştir. Hem ÇKNT<sub>COOH</sub> hem de ÇKNT<sub>OH</sub> içeren iskelelerin hidrofiliteleri ve çekme dayanımları derişimleriyle doğru orantılı olarak artmıştır. Hidrolitik bozunma sonucu, 63 günün sonunda %74,4 ile en yüksek kütle kaybı %1,0 ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelede görülmüştür. 1, 4 ve 7 günlük MTT analizi sonucunda, tüm iskelelerin MC3T3-E1 hücreleri üzerinde toksik bir etki göstermediği ve ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelelerin saf PLA/PVP ve ÇKNT<sub>OH</sub> içeren iskelelere göre daha yüksek hücre proliferasyonuna izin verdiği sonucuna ulaşılmıştır. Sonuç olarak, ÇKNT<sub>COOH</sub>'ün doku mühendisliği uygulamaları için en ideal aday olduğu bulunmuştur.

Bilim Kodu : 91213

Anahtar Kelimeler : Elektro-eğirme, doku iskelesi, PLA, PVP, ÇKNT

Sayfa Adedi : 81

Danışman : Prof. Dr. Nursel DİLSİZ

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF MULTIWALLED CARBON  
NANOTUBE REINFORCED POLY (LACTIC ACID)/POLYVINYLPIRROLIDONE  
BIOCOMPOSITE NANOFIBERS FOR BONE TISSUE ENGINEERING

(M. Sc. Thesis)

Yunus Emre BÜLBÜL

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

May 2019

ABSTRACT

The aim of this thesis is to develop, characterize and evaluate the in vitro efficacy of PLA/PVP composite fibrous scaffolds containing (-OH) or (-COOH) functionalized CNT for bone tissue engineering. Firstly, the solution containing 10% (w/v) PLA and 2% (w/v) PVP polymers was prepared in a solvent mixture of tetrahydrofuran (THF): dimethylformamide (DMF) at a ratio of 70:30 (v/v) as a control group. Then, to this polymer mixture, CNT-COOH or CNT-OH was added in the ratio of 0.25%, 0.5% and 1.0% (w/w of the total polymer mass) to produce composite fibrous scaffolds. Morphological, physicochemical and mechanical properties of fibrous scaffolds were determined by scanning electron microscopy (SEM), atomic force microscopy (AFM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction (XRD), surface contact angle, hydrolytic degradation, and tensile strength analyses. According to SEM and AFM results, all scaffolds were produced with bead-free and uniform morphology. FTIR spectra show that all scaffold components retain their characteristics; XRD diffraction patterns showed that PLA showed prominent features and all scaffolds were amorphous. The hydrophilicity and tensile strengths of scaffolds containing both CNT-COOH and CNT-OH increased in direct proportion to their concentration. As a result of hydrolytic degradation, the highest mass loss was observed at 74.4% at the end of 63 days on the scaffold containing 1.0% CNT-COOH. MTT analysis of 1, 4 and 7 days showed that all scaffolds had no toxic effect on MC3T3-E1 cells and scaffolds containing CNT-COOH allowed higher cell proliferation than scaffolds containing pure PLA/PVP and CNT-OH. In conclusion, CNT-COOH is the most suitable candidate for tissue engineering applications.

Science Code : 91213  
Key Words : Electrospinning, tissue scaffold, PLA, PVP, MWCNT  
Page Number : 81  
Supervisor : Prof. Dr. Nursel DİLSİZ

## TEŞEKKÜR

Bilimsel hazırlık öğrenciliğimden bugünlere kadar beni her zaman destekleyen, zamanını ve emeğini esirgemeyen, laboratuvar altyapısı ve en önemlisi özgür bir çalışma ortamı sağlayarak kendi yolumu bulmama fırsat sunan ve hiç bıkmadan her kaybolmamda yine yeniden motive ederek ilerlememe katkı sağlayan Sayın Hocam Prof. Dr. Nursel DİLSİZ'e, tez çalışmamı "06/2018-27" No'lu Proje ile maddi olarak destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne, MC3T3-E1 hücre hattı teminindeki desteklerinden ötürü Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU'na ve Dr. Ülkü BOZAK'a, hücre kültürü çalışmalarındaki destekleri için Dr. Öğr. Üyesi Z. Burçin GÖNEN'e ve Dr. Dilek BAHAR'a, SEM analizlerinde sağladıkları kolaylıklar için Prof. Dr. Zekiye SULUDERE'ye, Prof. Dr. Selami CANDAN'a, Öğr. Gör. Damla AMUTKAN'a ve Öğr. Gör. Nurcan ÖZYURT'a, çalışmalarım boyunca hem teknik hem de maddi destekleri nedeniyle Teknotıp Analitik Sistemler Ltd.Şti.'ne ve Arda MUNGAN'a, yüksek lisans serüvenimde tanıştığım ve bu süreci varlıklarıyla keyifli hale getiren sevgili arkadaşlarım Dr. Melda TOĞAY'a, Dr. Funda KORKMAZ'a, Tevhide TANIDIR'a, Deniz ÇETİNER'e, Hazal AYDOĞAN'a, çocukluğumdan beri olduğu gibi bu süreçte de beni yalnız bırakmayan kıymetli dostlarım Kübra GÖKDEMİR ve Kerim KARA'ya, iyi ki hayatımda olan, varlıklarını şans olarak gördüğüm arkadaşlarım Seda SAKI'ye (ve ayrıca mutluluk kaynağım olan yoldaki miniğine!), Merve YİĞİT'e ve Murat KARDEŞ'e, bu süreci benimle birlikte sabırla tamamlayan canım kardeşim, ev arkadaşım Enes BÜLBÜL'e, maddi ve manevi desteklerinin yanında özellikle enfes yemekleriyle tez yazma sürecimi kolaylaştıran sevgili teyzem Elif AVŞAR'a ve ailesine, son olarak beni yetiştiren ve hayatım boyunca hiçbir zaman yalnız bırakmayarak maddi ve manevi destekleriyle arkamda olan biricik aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ .....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ .....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Doku Mühendisliği.....	3
2.2. Kemik Doku Mühendisliği.....	5
2.2.1. Kemik doku hasarları .....	7
2.3. Doku Mühendisliğinde Kullanılan Polimerler .....	9
2.3.1. Doğal kaynaklı polimerler .....	9
2.3.2. Sentetik kaynaklı polimerler .....	10
2.4. Biyomedikal Uygulamalarda Poli (laktik asit) ve Polivinilpirolidon .....	11
2.3.1. Poli (laktik asit) (PLA).....	11
2.3.2. Polivinilpirolidon (PVP) .....	12
2.4. Karbon Nanotüpler .....	13
2.4.1. Karbon nanotüplerin özellikleri .....	14
2.4.2. Doku mühendisliğinde karbon nanotüp kullanımı.....	15
2.5. Doku Mühendisliği İçin İskele Üretim Yöntemleri .....	16
2.5.1. Çözücü döküm-partikül uzaklaştırma yöntemi .....	16

	<b>Sayfa</b>
2.5.2. Gaz köpükleştirme .....	17
2.5.3. Dondurarak kurutma (Liyofilizasyon) .....	18
2.5.4. Hızlı prototipleme .....	18
2.6. Elektro-eğirme Tekniği .....	19
2.6.1. Elektro-eğrilmiş doku iskelelerinin avantajları .....	22
2.7. Kemik Doku Mühendisliğiyle İlgili Literatür Çalışmaları.....	23
<b>3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR .....</b>	<b>31</b>
3.1. Malzemeler ve Cihazlar .....	31
3.1.1. Malzemeler.....	31
3.1.2. Cihazlar .....	32
3.2. Doku İskelesi Üretim Çalışmaları .....	33
3.2.1. Elektro-eğirme çözeltilerinin hazırlanması .....	33
3.3. Karakterizasyon Çalışmaları .....	36
3.3.1. SEM analizi.....	36
3.3.2. AFM analizi .....	37
3.3.3. FTIR analizi .....	38
3.3.4. XRD analizi.....	38
3.3.5. Yüzey temas açısı.....	39
3.3.5. Hidrolitik bozunma davranışı.....	39
3.3.6. Mekanik analiz .....	40
3.4. Hücre kültürü çalışması.....	41
3.4.1. Sitotoksosite (MTT) analizi .....	41
<b>4. DENEYSEL SONUÇLAR ve TARTIŞMALAR.....</b>	<b>43</b>
4.1. Karakterizasyon Sonuçları .....	43
4.1.1. Yüzey morfolojisi .....	43
4.1.2. FTIR analizi .....	49

	<b>Sayfa</b>
4.1.3. XRD analizi.....	52
4.1.4. Yüzey temas açısı.....	54
4.1.5. Hidrolitik bozunma davranışı.....	56
4.1.6. Mekanik dayanım analizi .....	58
4.2. <i>In vitro</i> hücre kültürü çalışmaları .....	60
4.2.1. Hücre proliferasyonu.....	60
5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	63
KAYNAKLAR .....	65
ÖZGEÇMİŞ .....	79

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 2.1. Farklı tür ve fonksiyonel gruplu KNT'lerin kemik doku mühendisliğinde kullanımı .....	26
Çizelge 2.2. Kemik doku mühendisliği uygulamaları için KNT katkı polimerik biyokompozit doku iskelelerinin özeti .....	29
Çizelge 3.1. Geliştirilen doku iskele numunelerinin isimlendirilmesi ve içerikleri .....	34
Çizelge 3.2. Doku iskelelerinin en uygun üretim koşulları .....	35
Çizelge 3.3. Doku iskelelerinin en uygun üretim koşulları .....	42



## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2. 1. Doku mühendisliği prensibinin şematik gösterimi .....	4
Şekil 2.2. İnsan iskeleti için farklı kemik tipi örnekleri.....	6
Şekil 2.3. Kemiğin makro-yapı ve alt nano-yapı arası hiyerarşik organizasyonu .....	7
Şekil 2.4. Doğal kemik dokusunun yenilenmesi.....	8
Şekil 2.5. PLA'nın kimyasal yapısı .....	11
Şekil 2.6. L ve D-laktik asitlerin üç boyutlu yapıları.....	12
Şekil 2.7. PVP' nin kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.8. KNT'lerin şematik gösterimi: (a) TKNT, (b) ÇKNT .....	14
Şekil 2.9. Çözücü döküm-partikül uzaklaştırma tekniğinin şematik diyagramı.....	17
Şekil 2.10. Taylor konisi .....	20
Şekil 2.11. Elektro-eğirme yönteminin şematik gösterimi .....	21
Şekil 2.12. Elektro-eğirme yöntemi sırasında oluşan Taylor konisi.....	22
Şekil 2.13. Rezervuar ve matris sistemlerinin şematik gösterimi.....	23

## RESİMLERİN LİSTESİ

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
Resim 3.1. Taramalı elektron mikroskobu.....	36
Resim 3.2. Digimizer programı ile liflerin ortalama çaplarının bulunması.....	37
Resim 3.3. Digimizer programı ile lif çap ölçümü .....	37
Resim 3.4. Atomik kuvvet mikroskobu cihazı.....	38
Resim 3.5. Temas açısı ölçüm cihazı.....	39
Resim 4.1. ÇKNT <sub>COOH</sub> içeren iskelelerin SEM görüntüleri .....	44
Resim 4.2. ÇKNT <sub>OH</sub> içeren iskelelerin SEM görüntüleri .....	45
Resim 4.3. PLA/PVP ve ÇKNT içeren iskelelerin ortalama fiber çapı histogramları....	47
Resim 4.4. PLA/PVP ve ÇKNT içeren iskelelerin yüzey topografyaları .....	48
Resim 4.5. FTIR spektrumları: ÇKNT <sub>COOH</sub> ve ÇKNT <sub>OH</sub> .....	49
Resim 4.6. FT-IR spektrumları: PLA, PVP ve PLA/PVP .....	51
Resim 4.7. FT-IR spektrumları .....	52
Resim 4.8. XRD kırınım desenleri.....	53
Resim 4.9. Doku iskelelerinin temas açısı değerleri .....	54
Resim 4.10. Doku iskelelerinin hidrolitik bozunma süresince kütle kaybı .....	57
Resim 4.11. Doku iskelelerinin çekme dayanımları .....	59
Resim 4.12. Preosteoblastik MC3T3-E1 hücrelerinin MTT sonuçları.. .....	61

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

### Simgeler

### Açıklamalar

$\mu\text{g}$	Mikrogram
$\mu\text{m}$	Mikrometre
dak	Dakika
mg	Miligram
mL	Mililitre
nm	Nanometre
sa	Saat
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
atm	Atmosfer

### Kısaltmalar

### Açıklamalar

AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
ÇKNT	Çok katmanlı karbon nanotüp
ÇKNT <sub>COOH</sub>	Karboksil fonksiyonelli çok katmanlı karbon nanotüp
ÇKNT <sub>OH</sub>	Hidroksil fonksiyonelli çok katmanlı karbon nanotüp
DMEM	Dulbecco's Modify Eagle Medium
DMF	N,N-Dimetilformamid
FBS	Fetal Bovine Serum
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GA	Glikolit
KNT	Karbon nanotüp
LA	Laktit
MC3T3-E1	Fare Osteoblastik Hücre Hattı
MTT	3-(4,5-dimetiltriazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid

**Kısaltmalar****Açıklamalar****MPa**

Megapaskal

**PBS**

Fosfat tampon çözeltisi

**PCL**

Polikaprolakton

**PEO**

Polietilen oksit

**PLA**

Poli (laktik asit)

**PLGA**

Poli-laktik-ko-glikolik asit

**PGA**

Poliglikolik asit

**PVP**

Polivinilpirolidon

**Ra**

Ortalama yüzey pürüzlülüğü

**SEM**

Taramalı elektron mikroskobu

**UV**

Ultraviyole



## 1. GİRİŞ

Doku mühendisliği, hasarlı doku onarımı hedefiyle dokuya fonksiyonelliğini yeniden kazandırmak için mühendislik, kimya ve biyoloji prensiplerini birleştiren disiplinler arası bir alandır. Doku mühendisliğinin temel bileşenleri, onarımın gerçekleşmesi beklenen dokuya özgü hücreler, hücrelerin üzerinde büyüyeceği yapay bir hücre dışı matris olan doku iskelesi, hücrelerin doğal ortamlarındaki mekanik kuvveti taklit eden biyo-reaktörler ve biyo-sinyal molekülleridir. Bu bileşenlerin en önemlisi doku iskelesidir. Doku iskelesinin doku bütünleşmesine izin verebilmesi için birbiriyle bağlantılı gözenek yapısına, implantasyon amaçlanan bölgeye uygun mekanik özelliklere, istenen hücrelerin adezyonu, çoğalması, büyümesi ve farklılaşması için uygun yüzey kimyasına, doku oluşumu ile eş zamanlı bozunabilme ve kolay üretilebilme gibi özelliklere sahip olması beklenmektedir. Bu gereksinimler düşünüldüğünde elektro-eğirme yöntemiyle elde edilen nano/mikro-fiberler yüksek yüzey alan/hacim oranına ve birbirleri ile bağlantılı, uygun bir gözenek yapısına sahiptir. Ayrıca bu özellikler kullanılan malzemenin yüzey kimyasını ve fonksiyonelliğini olumlu yönde değiştirerek, hücre adezyonu, canlılığı ve farklılaşması açısından fiberleri doku mühendisliği uygulamaları için ayrıcalıklı hale getirmektedir.

Doku iskelesi materyali olarak doğal ve sentetik polimerler, seramikler, metaller ve bu materyallerin kombinasyonları kullanılmaktadır. Bunlar arasında poli (laktik asit) (PLA) biyoyumluluğu ve biyobozunma özellikleriyle doku iskelesi materyali olarak *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir. Fakat kemik doku mühendisliği uygulamaları için diğer doğal ve sentetik polimerler gibi PLA'nın da işlem gördükten sonra (nihai ürüne dönüşüm) mekanik özelliği yeterli olmamaktadır. Son zamanlarda kemik gelişiminin ve büyümesinin desteklenmesinde karbon nanotüplerin (KNT) önemini vurgulayan yayınlar dikkat çekmektedir. Nanoteknolojideki son gelişmelerle birlikte KNT'lerin, hücre kültürü, ilaç salım sistemleri ve tıbbi implant materyalleri için substratlar olarak kullanıldığı bilinmektedir. KNT'lerin hücre çoğalmasını destekleyen inert matris gibi davrandığı, diğer doğal ya da sentetik malzemelerle birlikte biyokompozit olarak etkilerinin kemik doku mühendisliği uygulamalarında daha da etkili olduğu gösterilmiştir. Geçtiğimiz birkaç yılda yapılan çalışmalar ise polietilen oksit (PEO), polivivilpirolidon (PVP) gibi hidrofilik, biyoyumlu ve/veya biyo-inert polimerlerle ve/veya fonksiyonelleştirilmiş KNT kullanılarak elde edilen biyokompozit doku iskelelerinin kemiğin ekstraselüler matrisine çok benzer yapıda olduğunu ve hücre adezyonunun daha fazla olduğunu göstermektedir.

Bununla birlikte, KNT'lerin sahip olduğu fonksiyonel grupların adezyon, canlılık ve farklılaşma gibi hücrel süreçler üzerindeki etkisinin detaylı olarak incelenmediği görülmektedir.

Bu bilgiler doğrultusunda, tez çalışması kapsamında hidroksil (-OH) veya karboksil (-COOH) ile fonksiyonelleştirilmiş çok katmanlı karbon nanotüp (ÇKNT) katkılı biyokompozit fiberlerin üretilmesi ve kemik doku iskelesi olarak kullanılabilirliğinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu hedef doğrultusunda biyobozunur ve biyouyumlu PLA/PVP polimer karışımı matris malzemesi olarak seçilmiştir. İskelenin yeterli doku oluşumuna olanak verecek kadar mekanik bütünlüğünü koruyabilmesi ve kemik hücrelerinin adezyonunun ve çoğalmasının artışı için PLA/PVP matris içerisine farklı derişimlerde (toplam polimer kütlesince %0,25, %0,5 ve %1,0) ÇKNT<sub>OH</sub> veya ÇKNT<sub>COOH</sub> eklenmiştir. Belirlenen bu amaca ulaşmak için yapılan çalışmaların basamakları şöyledir;

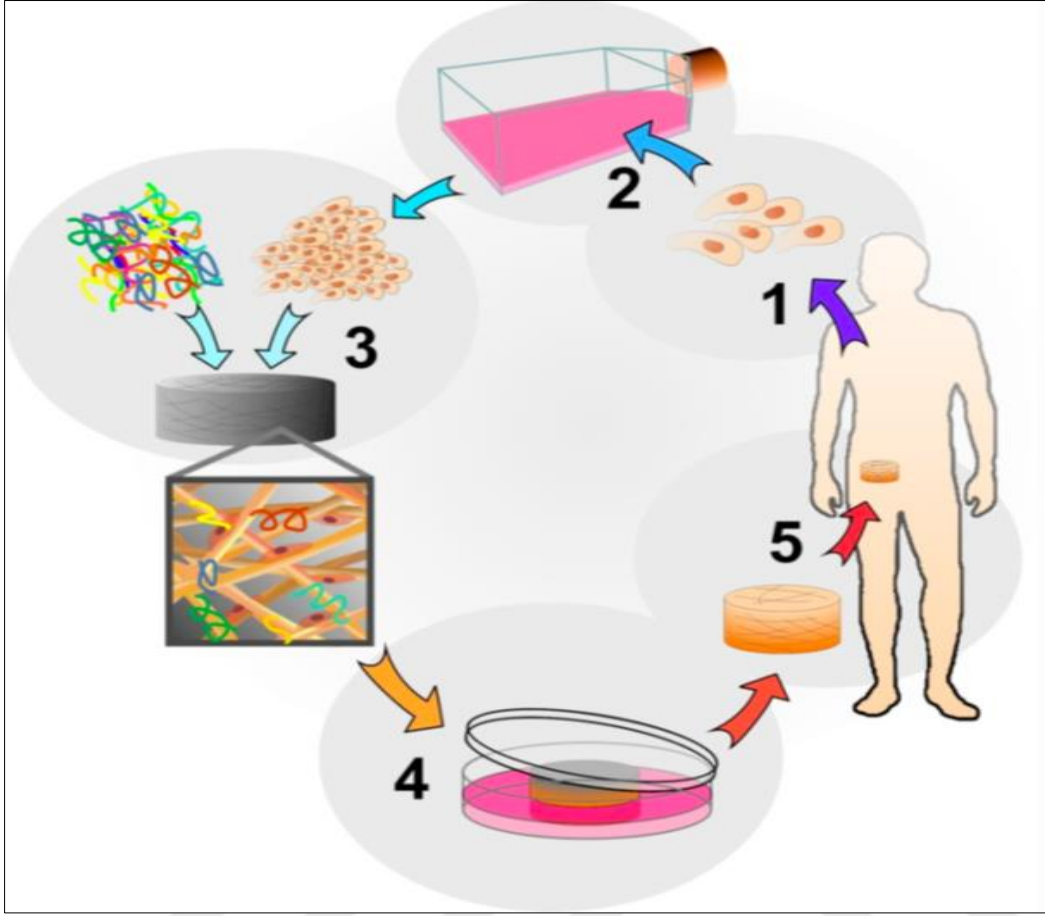
- Elektro-eğirme yöntemi ile PLA/PVP-ÇKNT kompozit fibröz doku iskelelerinin üretilmesi,
- Üretilen doku iskelelerinin morfolojik, fizikokimyasal ve mekanik özelliklerinin belirlenmesi,
- Kemik öncül hücreleri olan preosteoblastik MC3T3-E1 hücreleri kullanılarak *in vitro* sitotoksosite analiziyle hücre proliferasyonuna etkisinin belirlenmesidir.

Elde edilen veriler dâhilinde doku iskelelerinin yapı-özellik-hücre açısından ilişkilendirilerek, fonksiyonel grupların kompozit fibröz doku iskelesi ve MC3T3-E1 hücreleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Doku Mühendisliği

Doku mühendisliği, Langer ve Vacanti tarafından tanımlandığı gibi, “doku işlevini eski haline getiren, koruyan veya geliştiren biyolojik olarak benzerlerinin geliştirilmesine yönelik mühendislik ve yaşam bilimleri ilkelerini uygulayan disiplinler arası bir alandır” (Langer ve Vacanti, 1993). Tanımlamadan da anlaşılacağı üzere doku mühendisliği temel olarak doku ve organların hasar görmesinden ve/veya yetersizliğinden kaynaklanan sağlık problemlerini ele almaktadır. Doku mühendisliği için farklı disiplinlerin ortak stratejisi, hücre ömrünü destekleyen iskele yapılarının üretimi etrafında toplanmıştır. Biyolojik dokuların karmaşık fonksiyonlarını ve olağanüstü özelliklerini doğrudan değiştirmeye çalışmanın aksine, bu iskeleler, doku fonksiyonunu geri kazandıran hücre popülasyonlarının sağlıklı büyümesini kolaylaştırmak için tasarlanmaktadır. Doku mühendisliği, onarılan dokudan sağlıklı hücreler kullanarak doğal dokunun yenileyici yeteneklerini kullanır (O’Brien, 2011). Bu hücreler, yapay (Sakai, Yamada, Yamaguchi ve Kawakami, 2006; Teo, He ve Ramakrishna, 2006; J. Zhang ve diğerleri, 2006) veya doğal malzemelerden (Li, Vepari, Jin, Kim ve Kaplan, 2006; Matthews, Wnek, Simpson ve Bowlin, 2002) veya her ikisinden (Basu ve diğerleri, 2017; Borjigin ve diğerleri, 2013; Fadaie, Mirzaei, Geramizadeh ve Asvar, 2018) oluşan özel olarak tasarlanmış iskelelere ekilir. Doku daha sonra *in vitro* olarak kültürlenir ve yeterli doku gelişimi sağlandıktan sonra hastaya implante edilir. Şekil 2.1’de doku mühendisliği prensibi şematik olarak verilmiştir.



Şekil 2. 1. Doku mühendisliği prensibinin şematik gösterimi (George, 2004)

Doku mühendisliği prensibinin işlem basamakları şöyledir (Bkz. Şekil 2.1.):

- Hedef dokudan bir örnek hastadan ekstrakte edilir (1),
- Bir biyoreaktör içinde çoğaltılır ve fenotip için taranır (2),
- Hücreler daha sonra çoğalmayı arttırmak için büyüme faktörleriyle birlikte gözenekli bir iskele üzerinde kültürlenir (3).
- Hücre kültürü yapılan iskele hücre sayısı arttırmak için biyoreaktörlere yerleştirilir (4),
- Son adımda, yeniden büyüyen doku tıbbi olarak hastaya geri yerleştirilir (5).

Bununla birlikte, doku iskelelerinin tasarımında dikkat edilmesi gereken çok sayıda faktör bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi, iskelenin biyouyumlu olması gerekliliğidir. Genel olarak bu, iskelenin konakçı tarafından reddedilmemesini veya mevcut hücrelerde ve çevre dokularda toksisiteyi indüklememesini gerektirir. Buna göre, iskele, hücrelerin iskele yüzeyi ile doğrudan etkileşime girmesine izin vermeli ve hem hücre tutunmasını hem de hücre göçünü desteklemelidir (Ma ve Zhang, 1999; Polo-Corrales, Latorre-Estevés ve Ramirez-

Vick, 2014). Bazı doku iskeleleri, hücre tutunmasının ardından hücre olgunlaşmasını, biyokimyasal salgıları ve çoğalan kök hücrelerin birçok farklı doku tipinden birine farklılaşmasını indükleyen biyolojik davranışları daha da ileriye yönlendiren özellikler ile tasarlanmıştır. İskeleler ayrıca, *in vivo* olarak mevcut dinamik, mekanik ve reolojik kuvvetleri desteklerken, besinlerin, atıkların ve diğer gerekli proteinlerin hücrelere taşınmasına izin vermelidir (X. Liu ve Ma, 2004). Son olarak, iskeleler hedeflenen dokuya benzer bir mimariye sahip olmalıdır. Bu zorlu ölçütler, ilgilenilen dokunun hücre dışı matrisinin özelliklerini yansıtması için doku iskeleleri üzerine yapılacak araştırmaların gerekliliğini yansıtmaktadır.

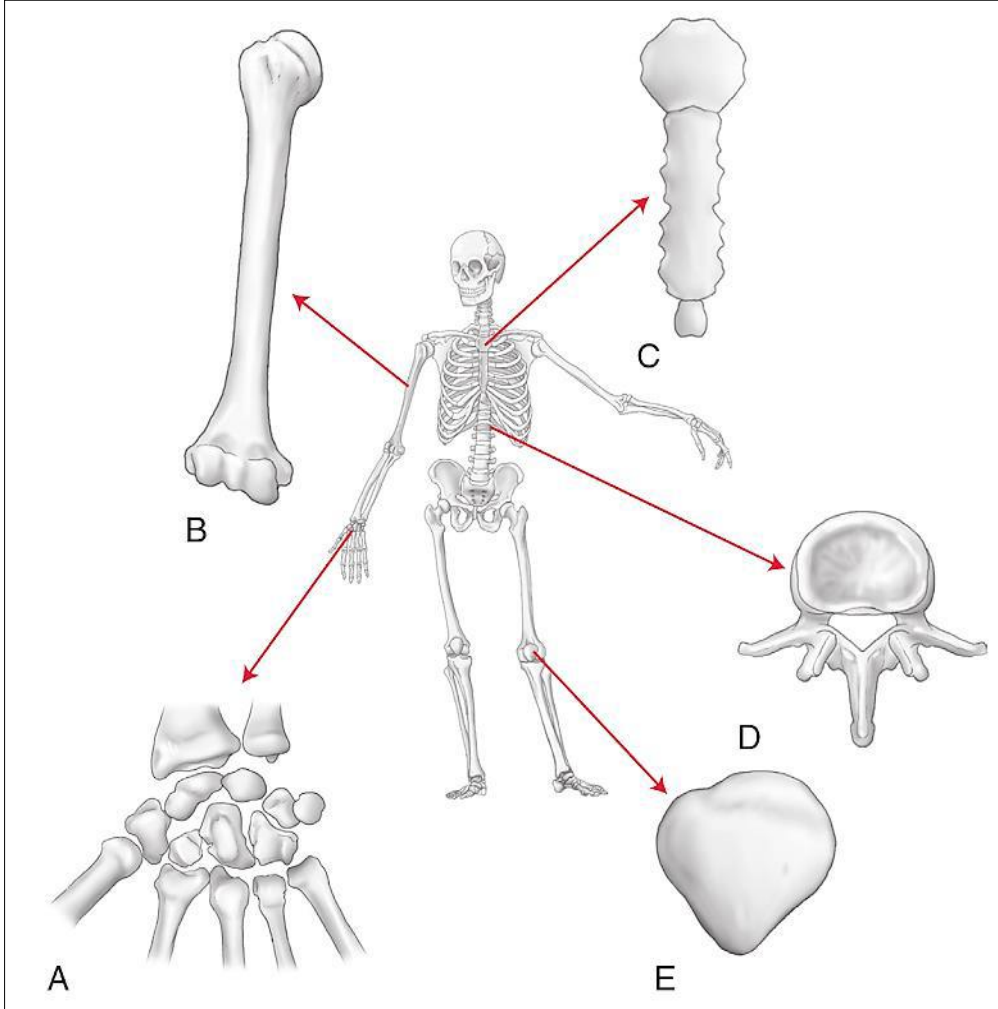
## 2.2. Kemik Doku Mühendisliği

Travma, enfeksiyon, tümör rezeksiyonu ve iskelet anormalliklerinin yanı sıra avasküler nekroz, atrofik birliktelik ve rejeneratif sürecin tehlikeye girdiği osteoporoz gibi durumların neden olduğu kemik hasarlarıyla ilgili birçok klinik durum vardır. Dünya çapında, yılda yaklaşık 2,2 milyon kemik grefti işlemi yapılmaktadır. Her ne kadar otogreftler histouyumlu olmaları, immünojenik olmamaları ve kemik büyümesini indükleyebilmeleri nedeniyle “altın standart” olarak değerlendirilmiş olsa da, donör bölgesi morbiditesi ve sınırlı tedarik gibi önemli kısıtlamaları vardır. Öte yandan, canlı donörlerden veya kadavralardan elde edilebilecek allogreftler, otogreftler ile miktar probleminin üstesinden gelinir, ancak bu pahalı bir çözüm olmakla birlikte donörden alıcıya hastalık taşıma ihtimaline ek olarak alıcı hastada immün tepkiye neden olabilir. Kemik doku mühendisliği, geleneksel kemik hastalığı tedavilerine uygun bir alternatif sağlamaya ve sınırlamalarını elimine etmeye çalışan yeni bir alandır (Akter ve Ibanez, 2016; Romagnoli, D’Asta ve Brandi, 2013). Kemik doku mühendisliği, kemik yapısı, oluşumu ve mekaniğinin anlaşılmasına dayanır ve biyomalzemelerin (doku iskelelerinin), hücrelerin ve büyüme faktörlerinin sinerjistik birleşimini kullanarak doku fonksiyonunu geri kazandıran, koruyan veya iyileştiren yapay olarak tasarlanmış biyolojik taklitler geliştirmeyi amaçlar (Amini, Laurencin ve Nukavarapu, 2012; Langer ve Vacanti, 1993).

İskeletin bir parçası olarak, kemik vücutta birçok kritik işlevi yerine getirir: yapısal desteğe katılır, hareket için temeldir, iç organların korunmasını sağlar (göğüs, kranyum, omurga), kan hücrelerinin üretimi için doku tabanı sağlar (hematopoez), immün hücrelerdir ve vücutta

elektrolit homeostazını korumak için bir mineral rezervuarı oluştururlar (Harada ve Rodan, 2003; Stevens, 2008).

Yetişkin insan iskelet sistemi, çok çeşitli geometrik ve yapısal mimarilere sahip iki yüzün üzerinde kemik içermektedir (Şekil 2.2). Bunlar; iskelet bölgesine, fizyolojik fonksiyona, deneklerin yaşı ve cinsiyeti gibi birçok faktöre bağlıdır (Bonucci, 2010).



Şekil 2.2. İnsan iskeleti için farklı kemik tipi örnekleri (Mansfield ve Neumann, 2018)

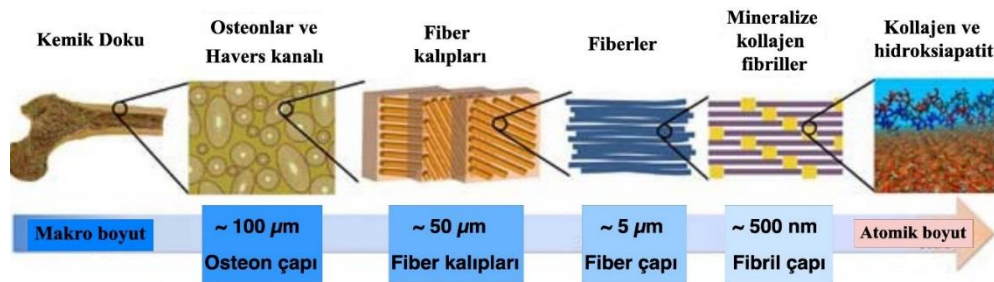
İnsan iskeleti için farklı kemik tipleri şunlardır (Bkz. Şekil 2.2.): (A) kısa kemik (carpals), (B) uzun kemik (humerus), (C) yassı kemik (sternum), (D) düzensiz kemik (omur) ve (E) sesamoid kemik (patella).

Kemikler iki farklı yoldan oluşur: endokondral kemikleşme, aplike iskelet, yüz kemikleri, omurga ve lateral klavikülleri içeren uzun kemikleri oluşturur; intramembranöz ossifikasyon kranyum ve medial klavikülleri içeren düz kemikleri oluşturur (Meyer ve Wiesmann, 2006).

Her iki ossifikasyon türü, hücrelerin birbirine bitişik konumlandırıldığı bir mezenkim ilk yoğunlaşmasını ve art arda kalsifiye kemik oluşumunu içerir (Miclau, Schneider, Frank Eames ve Helms, 2005). Bununla birlikte intramembranöz ossifikasyon bunu doğrudan gerçekleştirir, endokondral ossifikasyon, mineralize edilmeden ve kemik dokusuna dönüştürülmeden önce bir avasküler dokunun (kıkırdak) olduğu bir ara aşamaya sahiptir (Mistry ve Mikos, 2005; Uebersax ve diğerleri, 2006).

Kemik dokusu, vücudun destek ve hareketindeki mekanik rolüne katkıda bulunan hiyerarşik bir şekilde düzenlenir (Burr ve Akkus, 2013). Dokunun malzeme özellikleri farklı hiyerarşi seviyelerine göre değişir. Bu nedenle, kemik doku materyali, kompozit malzeme değişimleri için uygun tasarım parametrelerinin belirlenmesi için çeşitli ölçeklerde çalışılmalıdır (Purbrick, Ambrosio, Ventre ve Netti, 2009). Ölçeğe bağlı olarak, kemiğin hiyerarşik yapısı aşağıdaki gibi beş seviyeye ayrılabilir (Şekil 2.3):

1. Makroskopik: süngerimsi ve kortikal kemik (> 0.5 mm).
2. Mikroskopik: osteonlar veya Havers sistemleri ve trabeküller (10-500  $\mu\text{m}$ ).
3. Submikroskopik: lameller ve mineralize kollajen lifleri (1-10  $\mu\text{m}$ ).
4. Nanoyapı: mineralize kollajen fibrilleri (yaklaşık 100 nm – 1  $\mu\text{m}$ ).
5. Altyapı: ana bileşenlerin moleküler ve atomik yapısı (<100 nm) (Mellon ve Tanner, 2012).

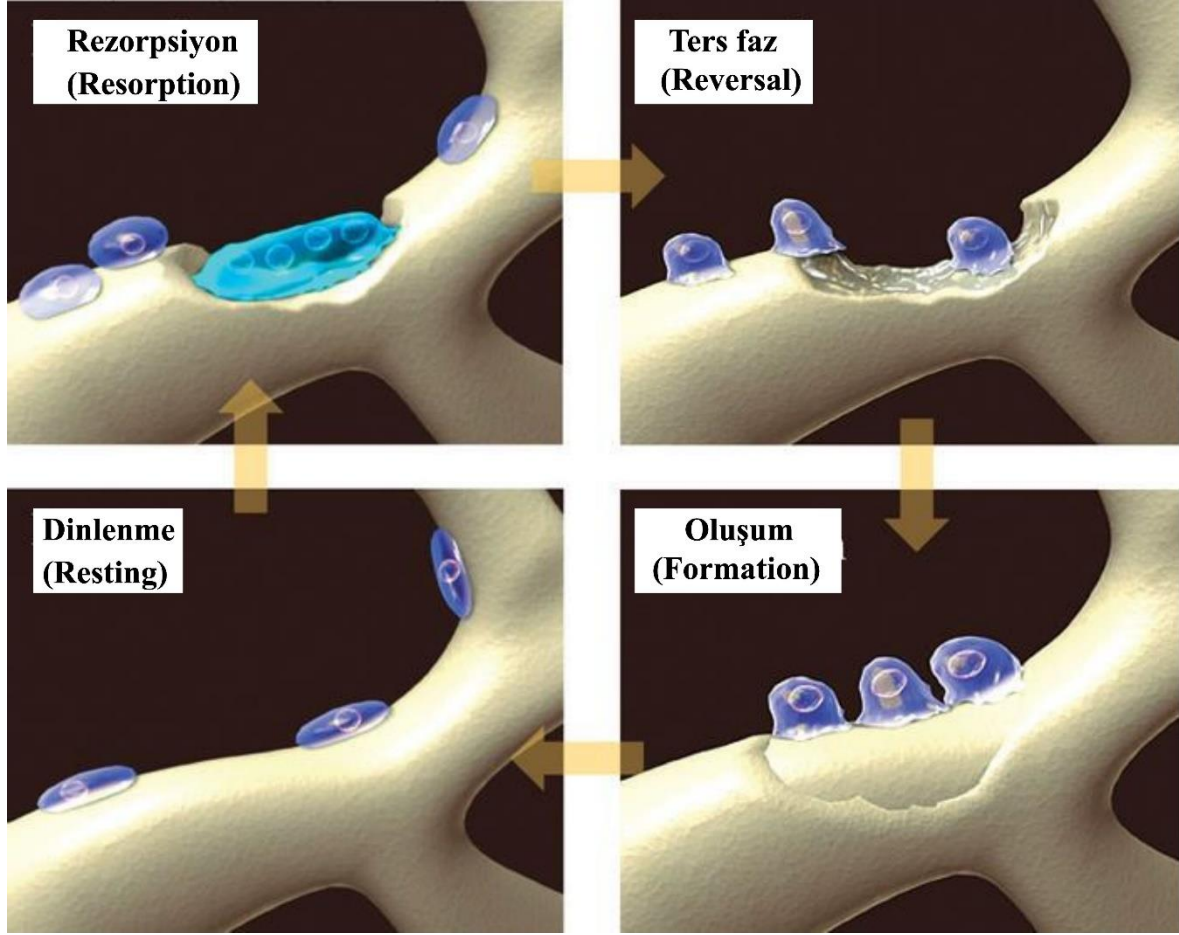


Şekil 2.3. Kemiğin makro-yapı ve alt nano-yapı arası hiyerarşik organizasyonu (Vieira, Vial, Reis ve Oliveira, 2017)

### 2.2.1. Kemik doku hasarları

Diğer bağ dokularından farklı olarak kemik matrisi mineralize bir matristir ve ömür boyu dinamik olarak yeniden düzenlenir (Bilezikian ve diğerleri, 2018). Bu işlem kemiğe özgüdür ve antagonistik olarak işleyen iki tip kemik hücresinin, kemik dokusunu tahrip eden osteoklastların ve onu oluşturan osteoblastların işbirliği ile gerçekleşir (Şekil 2.4.) (Coxon,

Oades, Colston ve Kirby, 2004). Kemik oluşumu sırasında, bazı osteoblastlar mineralize edilmiş bir matrise gömülür ve osteositlere dönüşür (Kerschnitzki ve diğerleri, 2011).



Şekil 2.4. Doğal kemik dokusunun yenilenmesi (Coxon ve diğerleri, 2004)

Günümüzde birçok insan travmadan, tümörden veya başka bir kemiğe bağlı hastalıklardan kaynaklanan kemik defektleri nedeniyle bir şekilde kemik rejenerasyonuna ihtiyaç duymakta ve bazıları yetersiz tedavi nedeniyle ölmektedir (Lin, Sohn, Shen, Langhans ve Tuan, 2018; Swetha ve diğerleri, 2010). Travmatik kemik defektleri, farklı hücre tipleri tarafından üretilen karmaşık ve koordine edilmiş sinyallerle doğal bir şekilde tamir edilir. Kemiğin kendi kendine iyileşmesi yaş, yetersiz beslenme, iltihaplanma, önceden var olan hastalıklar, ilaç kullanımı, anemi, sigara, vb. gibi durumlarda sağlanamayabilir (Horner ve diğerleri, 2009). Ayrıca, kusur bölgesinin yeri, kırığın şekli, kemik yüzeyleri arasındaki aşırı boşluk ve günlük biyomekanik kuvvetlere yetersiz maruz kalma gibi faktörler, çevre doku hasarını, tercih edilen tedavinin türünü ve kalıcılığını etkiler (Horner ve diğerleri, 2009; Polo-Corrales ve diğerleri, 2014). Kemik kusurlarını tedavi etmek için farklı seçenekler vardır (Swetha ve diğerleri, 2010). Otoplastlar ve allogreftler bazı durumlarda tedavilerde



kullanılmasına rağmen, sınırlı sayıda donör, bulaşıcı hastalık riski ve immün reaksiyonlar başlıca dezavantajlar arasındadır (Swetha ve diğerleri, 2010; Wei ve Ma, 2004). Bu nedenle araştırmacılar tarafından alternatif yaklaşımlar aranmaktadır.

### **2.3. Doku Mühendisliğinde Kullanılan Polimerler**

Doku mühendisliği, polimerlerin hidrolitik ve enzimatik olarak *in vitro/in vivo* ortamda parçalanmasını ve ayrıca hedef kusur bölgelerdeki dokularla temas halinde biyolojik olarak uyumlu olmalarını gerektirir. Biyopolimerler doğal kaynaklı olabilecekleri gibi laboratuvarında sentezlenebilir. Buna göre doğal biyopolimerler veya sentetik biyopolimerler olarak adlandırılır.

#### **2.3.1. Doğal kaynaklı polimerler**

Doğal polimerler proteinler (ipek, kollajen, jelatin, fibrinojen, elastin, keratin, aktin ve miyosin), polisakkaritler (selüloz, amiloz, dekstran, kitin ve glikozaminoglikanlar) veya polinükleotitler (DNA, RNA) olarak sınıflandırılabilir (Yannas, 2004). Doğal polimerlerin canlı dokularla makro moleküler benzerlikleri genellikle biyoyuumluluğu artırır ve immünolojik tepkileri azaltır. Doğal biyopolimerler, bitkilerden veya canlılardan elde edilir ve bu nedenle *in vivo* ortamda enzimatik bir bozunmaya uğrar. Doğal polimerlerin, enzimatik bozunma hızını kimyasal çapraz bağlama veya diğer kimyasal modifikasyonlarla kontrol etmek mümkündür. Sentetik polimerlere kıyasla, bu sınıfın genellikle yük taşıma uygulamaları için yetersiz mekanik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Gautam, Dinda ve Mishra, 2013). Ayrıca karmaşık yapıları nedeniyle uygun üretim ve işleme tekniklerinin tanımlanması zordur (Nair ve Laurencin, 2007).

Kitosan (poli[ $\beta$ -(1,4)-2-amino-2-deoksi-D-glukoz]); biyoyumlu, biyobozunur ve toksik olmayan özelliklere ve biyomedikal alanda kimyasal ve mekaniksel modifikasyonlar için çok geniş yapısal uygunluğa sahip doğal polimerler arasındadır. Kitinin kısmi deasetilasyonu sonucu elde edilen lineer bir polisakkarit olan kitosan, iki monomer birimden oluşur. Kitosan, kitinden hidrasyonla asetatın ayrılmasıyla veya kitin deasetilaz enziminin varlığında enzimatik hidroliz ile üretilmektedir (Vroman ve Tighzert, 2009).

Kollajen; biyouyumlu, biyobozunur ve kemik iletken yapıda bir doğal kaynaklı polimerdir. Deri ve kemiklerde en çok bulunan protein ve dokudaki hücre-dışı matrisin temel bileşenidir. Kollajenin doğal yapısının lif şeklinde olması sayesinde elektro-eğirme yöntemi kullanılarak üretilen membranlar, vücuttaki hücre-dışı matrisi taklit edebilir (Matthews ve diğerleri, 2002). Kollajenin enzimatik bozunması, fiziko-kimyasal, mekaniksel ve biyolojik özellikleri bakımından biyomedikal uygulamalarda çok önemli bir yere sahiptir. Asidik ortamlarda çok iyi çözünür ve ayrıca tüp, sünger, köpük, tabaka, nanolifli matris, toz gibi çeşitli formlarda elde edilebilir. Kollajenin bozunma hızı, enzimatik ön işlemlerle veya çapraz bağlanmayla belirgin ölçüde değişmektedir (Jacob, Ozeif, Haponiuk, Thomas ve Gopi, 2018).

Jelatin, kollajenden hidroliz ile elde edilir. Kollajenin bir türevi olmasının yanı sıra, suda ve birçok polar çözücüde çözünür, bu nedenle biyolojik uygulama için çekici bir biyopolimerdir. Jelatin ayrıca hemostatik özellik gösterir; kanla temas ettiğinde pıhtılaşma kademesini aktive eder ve yara iyileşmesini kolaylaştırır (Vroman ve Tighzert, 2009). Kollajen türevli jelatin nano lifleri genellikle kemik dokusu yenilenmesi için iskeleler hazırlamakta kullanılır. Sınırlamalarından bazıları oda sıcaklığında jelleşme özelliği ve çok hızlı bozunma oranlarıdır. Bu nedenle jelatin, yapısal stabilitesini ve parçalanabilirliğini arttırmak için çapraz bağlanır. Çapraz bağlama sırasında, minimum sitotoksositeye sahip kimyasal bir çapraz bağlayıcı seçmek çok önemlidir.

### **2.3.2. Sentetik kaynaklı polimerler**

Sentetik kaynaklı polimerler, fiziksel ve kimyasal özellikleri kolaylıkla kontrol edilebilen ve laboratuvar ortamında üretildikleri için dışarıdan gelebilecek kirliliklere kapalı malzemelerdir. Farklı yöntemlerle kontrollü bir şekilde üretilir ve işlenebilirler. Ayrıca istenilen miktarlarda tedarik edilebilirler (Vroman ve Tighzert, 2009).

Diğer yandan sentetik biyopolimerler, biyolojik olarak inert yapıdadır. Böylece doğal polimerlerin sahip olduğu çoğu dezavantajı bertaraf etmiş olurlar. Enzimatik bozunabilen polimerlere kıyasla hastadan hastaya veya bölgeden bölgeye daha az çeşitlilik gösterdiklerinden implant olarak hidrolitik bozunmaya uğrayan polimerler tercih edilmektedir (Sheikh ve diğerleri, 2015)

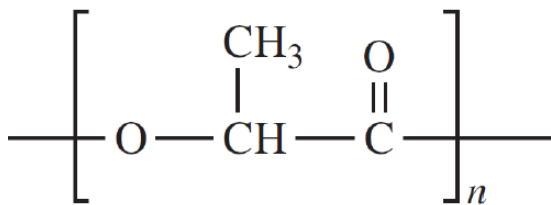
Biyobozunur sentetik polimerlerden ilaç taşıyıcı sistemler ve doku iskeleleri için tercih edilen polimerler, biyobozunur alifatik poliesterlerdir. Bu bozunabilir poliesterler; laktid, glikolid ve kaprolakton monomerlerinden türetilir (Nair ve Laurencin, 2007). Bunlara, poliglikolit (PGA), polilaktik asit (PLA) ve kopolimeri polilaktik-ko-glikolit (PLGA), polifosfazen, polianhidrit, poli(propilen fumarat), polisiyanoakrilat, polikaprolakton (PCL) ve biyobozunur poliüretanlar örnek olarak verilebilir. Polimer bozunması, içindeki ester bağının hidrolitik olarak parçalanması ile gerçekleşmektedir.

#### 2.4. Biyomedikal Uygulamalarda Poli (laktik asit) ve Polivinilpirolidon

Bu bölümde tez çalışmasında kullanılan polimerlerin (PLA ve PVP) ayrıntılı özellikleri ve biyomedikal uygulamalardaki kullanımları detaylandırılmıştır.

##### 2.3.1. Poli (laktik asit) (PLA)

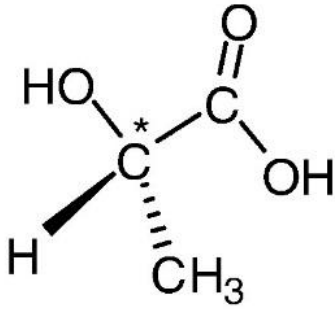
PLA ilk olarak 1700'lerde İsveçli bir kimyager tarafından keşfedilmiştir. PLA hidrofobik bir alifatik poliesterdir ve mısır, şeker kamışı ve buğday gibi yenilenebilir ve bitkisel bir kaynağa sahiptir. Bu özelliğinden ötürü biyomedikal uygulamalar için uygun ve ekonomik bir seçenektir. İki optik PLA formu mevcuttur: D-laktit ve L-laktit (Şekil 2.6.). Poli-L-laktitin (PLLA) yarı kristalin polimeri, L-laktitten elde edilir ve 45-70 MPa'lık bir gerilme mukavemetine sahip sert ve şeffaf bir polimerdir (Sheikh ve diğerleri, 2015). Poli (DL-laktid) (PDLLA) ise erime noktası olmayan ve çok düşük gerilme mukavemeti olan amorf bir polimerdir (Vroman ve Tighzert, 2009).



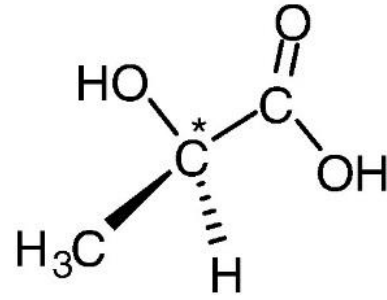
Şekil 2.5. PLA'nın kimyasal yapısı

PLA'nın bozunma hızı, kristallik derecesine bağlıdır. Bununla birlikte hidroliz yoluyla bozunur. Bozunma iki aşamada gerçekleşir. İlk olarak, ester gruplarının rastgele enzimatik olmayan zincir kesimleri moleküler ağırlıkta bir azalmaya neden olur. İkinci aşamada, laktik

asit ve düşük molekül ağırlıklı oligomerler doğal olarak karbondioksit ve su elde etmek için mikroorganizmalar tarafından metabolize olana kadar molekül ağırlığını azaltır (Oyama, Tanaka ve Kadosaka, 2009). Laktik asidin polimerleşmesiyle oluşan PLA, çoğunlukla uzun süre mukavemet gerektiren uygulamalar olan bağ dokusu, tendon yapıları, vasküler ve ürolojik cerrahi için kullanılan stentlerde sıklıkla yer almaktadır (Auras, Lim, Selke ve Tsuji, 2010).



**L - lactic acid**



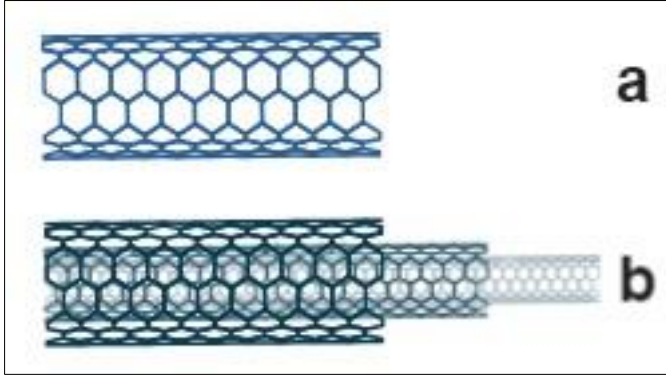
**D - lactic acid**

Şekil 2.6. L ve D-laktik asitlerin üç boyutlu yapıları (Pretula, Slomkowski ve Penczek, 2016)

### 2.3.2. Polivinilpirolidon (PVP)

Genellikle polividon veya povidon olarak bilinen polivinilpirolidon (PVP), monomer N vinilpirolidondan yapılan suda çözünür bir polimerdir. PVP suda çözünür, toksik olmayan, biyoyumlu polimerdir (Raimi-Abraham, Mahalingam, Edirisinghe ve Craig, 2014), kimyasal olarak inert, sıcaklığa dayanıklı, pH stabil, noniyonik ve renksizdir (Foltmann ve Quadir, 1939; Halake ve diğerleri, 2014). Semi-kristalin yapıda olup düşük toksikliğe sahip, hidrofilik, yüksek viskoziteli hidrojen bağları oluşturabilen ve diğer biyoaktif maddelerle biyoyumluluğa sahiptir. PVP'nin çözünürlüğü, geniş uygulama alanını belirleyen en önemli özelliklerinden biridir. PVP'nin hidrofilik ve hidrofobik fonksiyonel gruplara sahip olması nedeniyle, çeşitli çözücülerle etkileşime girer. Suda kolayca çözünür, ayrıca alkoller, kloroform, metilen klorür ve etilen diklorür, nitroparafinler ve aminler gibi bazı klorlanmış bileşikler dahil olmak üzere birçok organik çözücü içinde çözünür (Teodorescu ve Bercea, 2015).





Şekil 2.8. KNT'lerin şematik gösterimi: (a) TKNT, (b) ÇKNT

### 2.4.1. Karbon nanotüplerin özellikleri

#### Mekanik özellikleri

Karbon nanotüplerin üstün mekanik özellikleri, karbon atomları arasındaki  $\sigma$  bağlarından kaynaklanmaktadır. Teorik hesaplamalar ile birlikte yapılan deneysel ölçümler nanotüplerin bilinen malzemeler arasında en yüksek elastik modülü ve çekme dayanımına sahip olduğunu göstermektedir. Bu kapsamda, Krishnan ve diğ. (Yao ve Lordi, 1998), deneysel çalışmalar sonucunda TKNT'lerin elastik modülünün 2.4 TPa olduğunu bildirmişlerdir. Yu ve diğ. (Yu ve diğerleri, 2000) ise AFM ile ÇKNT'lerin maksimum mukavemetini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada ÇKNT mukavemetinin 20-63 GPa arasında değiştiğini raporlamışlardır. Bu değerler, çelik ve sentetik lifler gibi yüksek çekme mukavemetiyle bilinen diğer malzemelerden daha iyidir. KNT'lerin üstün mekanik özellikleri, doku mühendisliği gibi yüksek gerilme mukavemeti, esneklik ve hafif malzemelerin talep edildiği nanotüplerin uygulanmasına olan ilgiyi arttırmıştır (Zomer Volpato, Fernandes Ramos, Motta ve Migliaresi, 2011).

#### Elektriksel özellikleri

Karbon nanotüplerin nanometre boyutları ile birlikte bir grafen tabakasının benzersiz elektronik yapısı, bu yapıların elektronik özelliklerini oldukça üstün hale getirir. KNT'lerin elektriksel özellikleri, elektronik endüstrisi üzerindeki olası uygulamaları nedeniyle en çok incelenen özelliklerindedir. KNT'ler olağanüstü kuantum efektlerine ve elektronik, manyetik ve kafes özelliklerine izin veren yüksek simetri ve son derece küçük boyutlar sunmaktadır. Çalışmalar, nanotüplerin metalik ve yarı iletken özellikleri gibi birkaç önemli

elektronik özelliğini doğrulamıştır (Frank, Poncharal, Wang ve De Heer, 1998; Hamada, Sawada ve Oshiyama, 1992; Mintmire, Dunlap ve White, 1992).

#### **2.4.2. Doku mühendisliğinde karbon nanotüp kullanımı**

KNT'ler, doku mühendisliğinde çok amaçlı kullanım potansiyeli olan umut verici bir nanomalzemedir. KNT'lere olan ilginin nedeni, doğal biyolojik yapıların nano ölçeğini (yani kolajen) taklit etmek için uyarlanabilecek benzersiz yapılarından kaynaklanmakla birlikte aynı zamanda düşük yoğunluklu olmaları, gelişmiş elektriksel ve mekanik özelliklere sahip olmalarıdır. Son yirmi yılda, KNT'lerin biyomedikal alanında uygulanması üzerine birçok çalışma yayınlanmış, birçok araştırmacı nöronal rejenerasyonda (Cellot ve diğerleri, 2009; Galvan-Garcia ve diğerleri, 2007; Pancrazio, 2008) ve kırık doku mühendisliğinde (Khang, Park ve Webster, 2008) KNT uygulamışlardır. Bununla birlikte, kemik doku rejenerasyonunun, KNT'lerin uygulanması için en ilginç alan olduğunu göstermiştir (Boccaccini ve diğerleri, 2007; Saito ve diğerleri, 2008; Webster ve Khang, 2010).

KNT'ler ve hücreler arasındaki etkileşimi anlamak için yapılan birçok çalışma görülmektedir (Bhattacharya ve diğerleri, 2011; Boccaccini ve diğerleri, 2007; Galvan-Garcia ve diğerleri, 2007; Lahiri ve diğerleri, 2009; Mattioli-Belmonte ve diğerleri, 2012). Bu çalışmalar arasında en çok dikkat çeken Zanello ve diğerlerinin, beş farklı şekilde fonksiyonelleştirilmiş KNT üzerine ekilen osteoblast hücrelerinin çoğalmasını inceledikleri çalışmadır. Bu çalışma, kemik hücrelerinin osteoblast büyümesini ve kemik oluşturma fonksiyonlarını sürdüren elektriksel olarak nötr KNT'leri tercih ettiğini gösterdi. Webster ve diğerleri osteoblastların, fibroblastların, nöronların ve astrositlerin polikarbonat üretilen/karbon nanofiber/ nanotüp kompozitler üzerindeki hücre yapışma özelliklerini araştırmıştır. Sonuçlar, nöral ve osteoblast hücrelerinin hücre fonksiyonlarının arttığını, glial skar dokusu oluşumunun (astrositler) ve fibröz doku kapsüllemelerinin (fibroblast) azaldığını ortaya koymuştur.

KNT'ler daha önce hücrelere kontrollü elektrik uyarımı sağlamak ve dokulara mekanik desteği arttırmak için polimerik matrislerin elektrik iletkenliğini ve mekanik özelliklerini arttırmak için kullanılmıştır. Supronowicz ve diğerleri, osteoblastların KNT katkılı bir polilaktik asit üzerinde alternatif bir akım altında kültürlendiği zaman proliferasyonda %46, kalsiyum birikiminde %307 artış olduğunu göstermiştir. Schmidt ve diğerleri, uyarılmayan

substrat ile karşılaştırıldığında elektriksel uyarım altında oksitlenmiş bir poliprol substratında kültürlendiklerinde nörit büyümesinde ve P12 hücre hattının yayılmasında önemli bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, Wang ve diğerleri, kitosan matrisine kütlece %0,8 KNT ilave edilmesinin, elastik modül ve gerilme mukavemeti için kompozitlerin mekanik davranışlarını sırasıyla %93 ve %99 oranında iyileştirdiğini bildirmiştir.

## **2.5. Doku Mühendisliği İçin İskele Üretim Yöntemleri**

İnsan vücudundaki hücreler ve dokular üç boyutlu bir mimaride düzenlenir. Bu nedenle, bu fonksiyonel doku ve organları yapılandırmak için, iskelelerin hücre dağılımını kolaylaştırmak ve dokuların yenilenmesi için hücrelerin büyümelerini yönlendirmek üzere doğal hücre dışı matrisin mimarisini taklit eden üç boyutlu bir şekilde üretilmesi gerekir. Yıllar içerisinde, doku mühendisliği ve rejeneratif tıp için 3D biyomimetik iskeleleri tasarlamak ve üretmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir ve uygun tekniğin seçilmesi çeşitli faktöre bağlıdır. Bunlardan bazıları şunlardır:

- iskelenin gerekli morfoloji ve yüzey özelliklerine sahip olması,
- iskelede kullanılan malzeme tipleri,
- gözeneklerin şekli, büyüklükleri ve bunların birbirine bağlanabilirliği ve
- iskelelerin içindeki malzemelerin dağılımı (Cardon, Ragaert ve Koster, 2009; Subia, Kundu ve C., 2012).

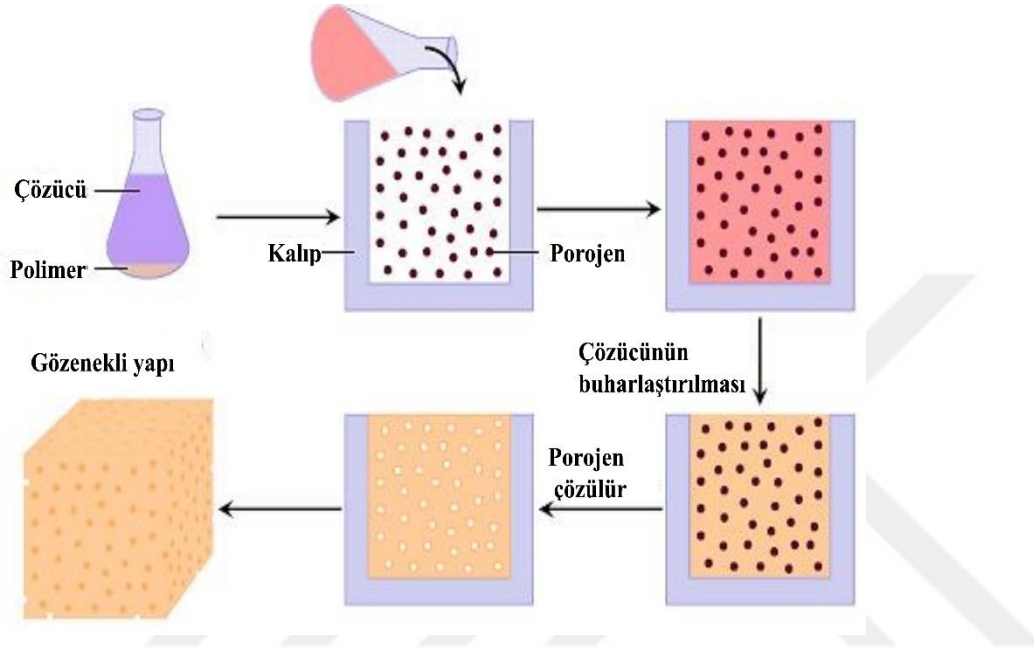
Yaygın olarak tercih edilen doku iskelesi üretim yöntemlerinden bazıları şunlardır:

### **2.5.1. Çözücü döküm-partikül uzaklaştırma yöntemi**

3D gözenekli polimerik iskeleler elde etmek için kolay bir yöntemdir, çünkü herhangi bir özel ekipman veya yüksek sıcaklıklar gerektirmez. Polimer çözücü içinde eritilir ve bir cam veya Teflon kabın içine dökülür, ardından çözücünün buharlaşmasına izin verilir. Polimer-çözücü çözeltisinin kullanılan derişimi, filmin istenen özelliklerine bağlıdır. Çözücünün buharlaşması vakumlu kurutma kullanılarak artırılabilir. Çözücü buharlaştıktan sonra, film kaptan çıkarılır ve kullanıma hazırdır. Çözücü içerisinde çözünmeyen partiküller polimer-çözücü karışımına eklenebilir. Genelde porojen olarak tuz veya şeker eklenir ve daha sonra çözücü buharlaştırıldıktan sonra tuzu veya şekeri yapıdan çıkarmak için malzeme suya



batırılır (tuz veya partikül özütleme). Gözenek çapı kullanılan partiküllerin büyüklüğü ve şekli ile kontrol edilirken, iskelenin toplam gözenekliliği porojen/polimer kompozit oranı ile kontrol edilebilir (Loh ve Choong, 2013; Rezwan, Chen, Blaker ve Boccaccini, 2006; Webster, Liu ve Webster, 2010). Şekil 2.9, çözücü dökme işleminin adımlarını göstermektedir.



Şekil 2.9. Çözücü döküm-partikül uzaklaştırma tekniğinin şematik diyagramı (Revati, Majid ve Normahira, 2016)

### 2.5.2. Gaz köpükleştirme

Bu yöntem sitotoksik organik çözücüler kullanmaktan kaçınmak için geliştirilmiştir. Organik çözücü yerine, belirli bir süre boyunca izole bir haznedeki polimeri doyurmak için yüksek basınçlı CO<sub>2</sub> (genellikle 800 psi, 5.52 MPa) kullanılır. Polimer CO<sub>2</sub> ile doyurulduktan sonra, CO<sub>2</sub> ile polimer molekülleri arasındaki etkileşimler yükselir ve bu da polimerin camsı geçiş sıcaklığının düşmesine yol açar. CO<sub>2</sub> basıncını tekrar atmosferik seviyeye getirerek, gazın polimer içindeki çözünürlüğü hızla azalır ve CO<sub>2</sub> polimerden kaçmaya çalışırken, kabarcıkların çekirdeklenmesine ve büyümesine neden olarak gözenekli bir mikro yapıya neden olur. Karbon dioksit yerine azot gazı da kullanılabilir. Gaz köpükleştirme yöntemi tipik olarak, ortalama 30-700 µm aralığında gözenek büyüklüğüne ve %85'e kadar gözenekliliğe sahip sünger benzeri yapılar oluşturur. Bununla birlikte, bu tekniğin temel dezavantajı, çoğunlukla gözeneksiz bir dış tabaka, yani kapalı bir tabaka oluşturmaktır. Bu sorunun üstesinden gelmek için, çözücü-döküm

yöntemindeki gibi gaz köpürmeden önce polimer çözeltisine tuz partikülleri gibi ilave bir çözülebilir projen eklenebilir, böylece bu partikülleri uzaklaştırarak polimer matrisi içinde birbirine bağlanan açık gözenek yapıları oluşturulur (Sampath, Ching, Chuah, Sabariah ve Lin, 2016; Subia ve diğerleri, 2012).

### **2.5.3. Dondurarak kurutma (Liyofilizasyon)**

Dondurularak kurutma tekniği, gözenekli doku iskelelerinin üretiminde kullanılır ve süblimleşme prensibine dayanır. Üretim prosedürü şöyledir: çözelti düşük bir sıcaklıkta dondurulur ( $-80^{\circ}\text{C}$  ila  $-70^{\circ}\text{C}$ ) ve sonra çok düşük bir basınçta (kısmi vakumla gerçekleştirilir) bir hazneye yerleştirilir ve malzemedeki buz doğrudan süblimleşme yoluyla uzaklaştırılır (birincil kurutma işlemi) ve daha sonra malzemedeki donmuş suyun çoğunun desorpsiyon yoluyla uzaklaştırılmasını içeren ikincil kurutma işlemi gerçekleştirilir. Gözenek büyüklüğü, donma hızı ve pH ile kontrol edilebilir; hızlı donma hızı daha küçük gözenekler oluşturur. En önemli avantajı, ne yüksek sıcaklık ne de ayrı bir uzaklaştırma (leaching) aşaması gerektirmesidir, ancak uzun işlem süresi gerektirmektedir (Brougham ve diğerleri, 2017; Gaidhani, Harwalkar, Bhambere ve Nirgude, 2015).

### **2.5.4. Hızlı prototipleme**

Katı serbest formlu üretim olarak da bilinen bu yöntem,% 100 birbirine bağlı gözenekler ve yüksek gözenekli 3D iskeleler tasarlamak ve üretmek için daha gelişmiş bir tekniktir. Bu teknikte, iskele modelinin tasarımı, bilgisayar destekli tasarım (CAD) yazılımı ile üretilir ve daha sonra bir dizi kesit olarak ifade edilir. Bu enine kesitlere dayanarak, hızlı prototipleme cihazı alttan başlayarak bir malzeme katmanı bırakmaya başlar ve iskeleleri oluşturmak için her bir seferde bir kat yukarı doğru hareket eder. Bu yöntemin temel avantajı, iskelenin tasarımını ve malzeme kompozisyonunu değiştirerek iskelenin yapısını boyut, şekil, bağlantı, dallanma, geometri ve oryantasyon açısından kontrol etme yeteneğidir. Özel uygulamalar veya bireysel hastalar için özelleştirilmiş iskeleler üretmek amacıyla görüntüleme tekniği ile de entegre edilebilir. Bununla birlikte, bu yöntem, yüksek cihaz maliyeti, sıcaklığa duyarlı polimerlerin işlenmesini sınırlayan yüksek işleme sıcaklıkları ve mevcut sistemler tarafından elde edilen düşük çözünürlükler gibi çeşitli dezavantajlara sahiptir. Son yıllarda çeşitli hızlı prototipleme teknolojileri geliştirilmiştir: Stereo litografi, Birleştirmeli Yığılma ile Modelleme (Fused Deposition Modeling), Seçici Lazer Sinterleme

(Selective Laser Sintering), 3D Baskı ve Biyo-yazıcı (Bioprinting) (Loh ve Choong, 2013; Roseti ve diğerleri, 2017; Subia ve diğerleri, 2012).

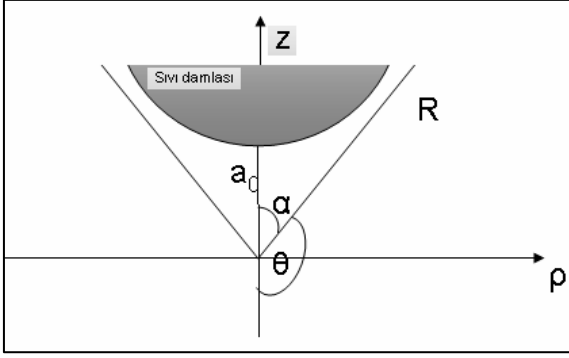
## 2.6. Elektro-eğirme Tekniği

Tez çalışmasında doku iskelerinin üretimi elektro-eğirme tekniğiyle gerçekleştirilmiştir. Bu yüzden yöntem ayrıntılarıyla verilmiştir.

### Elektro-eğirme yönteminin tarihçesi

Elektro-eğirme, sıvı bir polimer çözeltisinin bir iğnenin içinden elektro-hidrokinamik atomizasyon (püskürtme) ile çekildiği ve nanometre ve/veya mikrometre boyutunda polimer fiberlerin oluşmasına olanak sağlayan bir fiber oluşturma tekniğidir (Frenot and Chronakis, 2003). Bilim insanları yüzyıllardır sıvıları deforme etmek için elektrostatik kuvvetler kullanıyor olsa da elektro-eğirme işleminin ilk tanımları patentler aracılığıyla 1902 yılına kadar uzanmaktadır (Cooley, 1902; Lukáš ve diğerleri, 2009) 1500'lerin sonunda William Gilbert, manyetik ve elektrostatik olayların davranışını tanımlamak üzere yaptığı çalışmalarda bir su damlasının, bir amber parçası yakınına konik bir şekilde çekildiğini keşfetmiştir (Gilbert, 1660). Daha sonra, Jean-Antoine Nollet (1700 - 1770) ise bir su jetinin elektriksel bir yük uygulandığında parçalanacağını göstermiştir (Nollet, 1747). Bu çalışmalar elektro-eğirme ve elektro-spreylemeye dair literatürdeki ilk gözlemler olarak kabul edilmektedir. Ancak elektro-eğirme için gerekli olan yüksek voltajı sağlamak için uygun bir yol olmadığından elektro-eğirme işleminin bilimsel bir yöntem olarak tanımlanması yukarıda belirtilen patente kadar bir 300 yıl sürmüştür. Bununla birlikte, 1990'lara kadar elektro-eğirme yönteminin ticari olarak kullanımı sadece filtrasyon uygulamaları sınırlı kalmıştır.

İlerleyen yıllarda yapılan çalışmalarla, elektrik yüklenmiş olan sıvı damlalarının temel teorik prensipleri üzerine çalışılmıştır. Bunlardan en önemlisi, Taylor (1964) tarafından gerçekleştirilen çalışmadır. Bu çalışmada, elektriksel alan altındaki sıvılar yüklendikten sonra yüklerin birbirini itmesiyle bir kuvvet meydana gelmekte ve bu kuvvet eşik değeri geçerek sıvı damlacığının koni şeklinde bir jete dönüştürmesini sağlamaktadır (Bkz. Şekil 2.10). Bu koniye "Taylor konisi" adı verilmektedir .

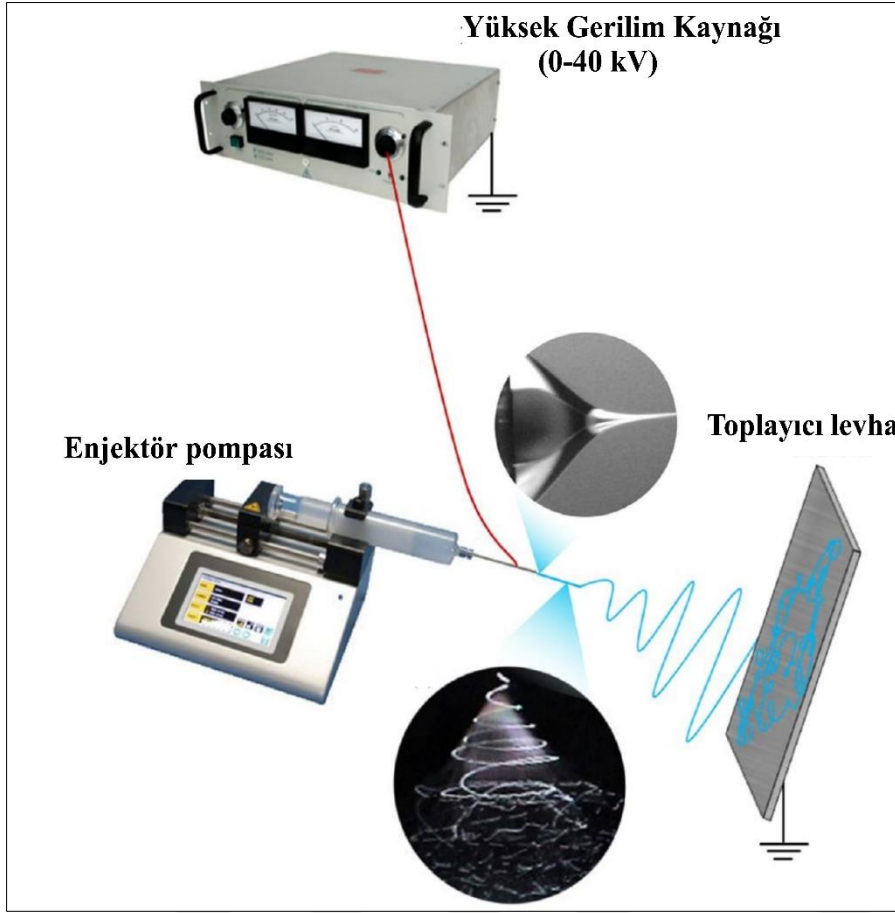


Şekil 2.10. Taylor konisi

### Elektro-eğirme yönteminin çalışma prensibi

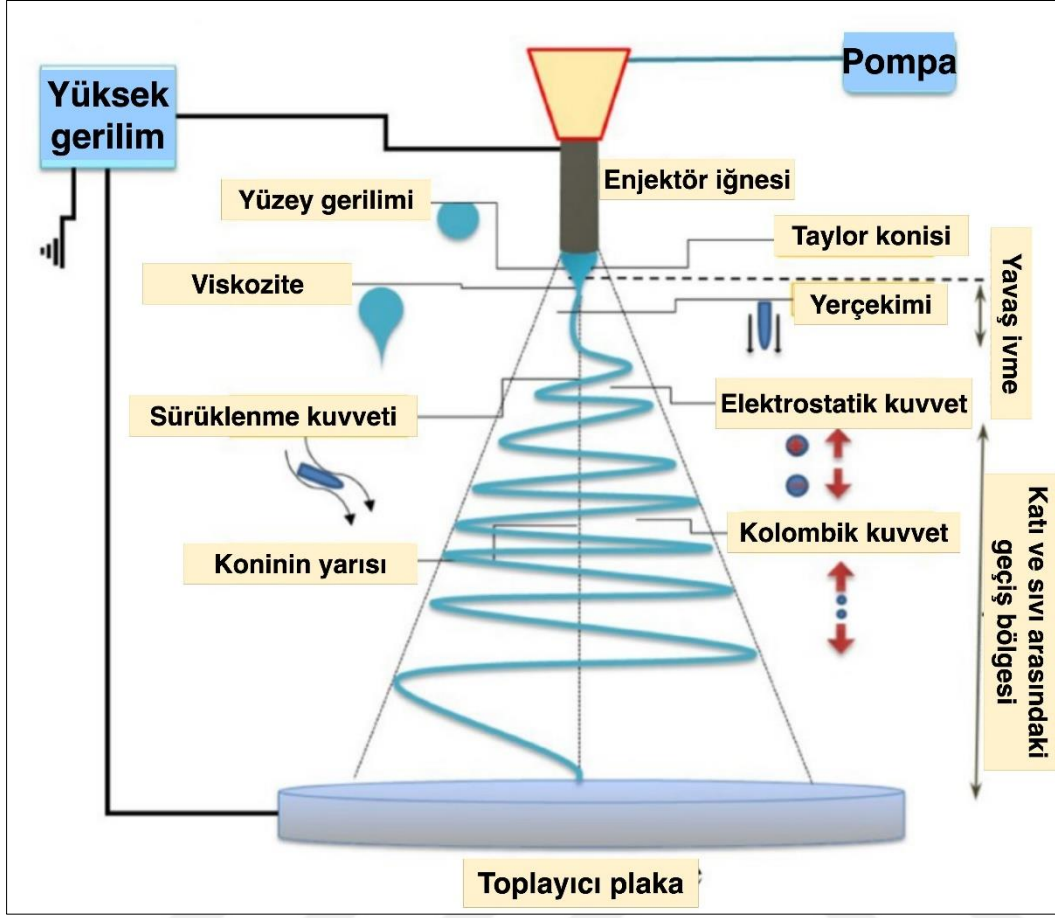
Elektro-eğirme (Elektro lif çekim) yöntemi, multidisipliner bir yöntem olup birçok disiplinin bir arada barındırır. Bu yöntemin tipik düzeneği, pozitif yüklü polimer çözeltisinin bir elektrik alanının etkisi ile yüksek bir elektrik voltajına bağlı toplayıcı plakaya doğru çekildiği bir püskürtme başlığından (iğnesinden) oluşur (Khalf ve Madihally, 2017). Bu yöntem için gerekli deney sisteminin temel parçaları şunlardır (Bkz. Şekil 2.11):

- (i) yüksek gerilim kaynağı,
- (ii) çözelti besleme ünitesi (şırınga, metal iğne vb.) ve
- (iii) toplayıcı levha (iletken plaka, döner silindir, paralel iki plaka vb.) (Ramakrishna, 2005).



Şekil 2.11. Elektro-eğirme yönteminin şematik gösterimi

Bu yöntemde, öncelikle polimer veya polimer karışımları, uygun bir çözücünde çözülerek veya ısı yardımıyla eritilerek besleme şırıngasına yerleştirilir. Ardından besleme şırıngası, uç kısmına doğru polimer çözeltisini itebilmesi için sürekli basınç uygulayacak bir pompaya yerleştirilir. Daha sonra polimer çözeltisinin bulunduğu şırınganın iğnesi ile karşısındaki bir toplayıcı levha arasına voltaj uygulanır. Pompaya bağlı şırınganın ucundan gelen polimer çözeltisine uygulanan voltaj, kritik bir değere ulaşana kadar, yüzey geriliminin uyguladığı kuvvetlerden dolayı, küresel bir biçimde bulunur. Uygulanan voltaj bir eşik değerine ulaştığı anda, elektrostatik kuvvetler yüzey gerilimi kuvvetlerine eşitlenir. Polimer çözeltisinin bulunduğu şırıngadaki yük birikimi, çözelti damlacığının şeklinin Taylor konisi olarak adlandırılan konik bir yapıya dönüşmesini sağlar (Bkz. Şekil 2.12).

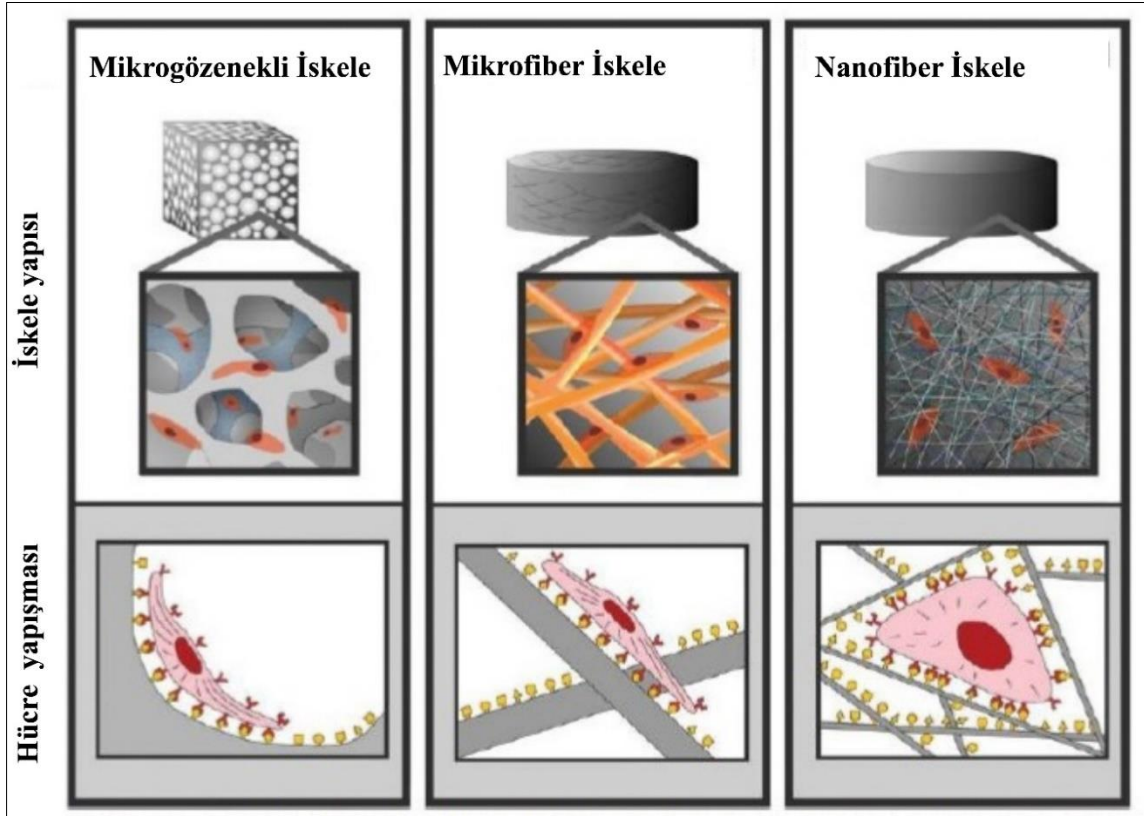


Şekil 2.12. Elektro-eğirme yöntemi sırasında oluşan Taylor konisi

Polimer çözeltisinden oluşan jet, toplayıcıya doğru havada yol aldıkça yapıdaki çözücü uzaklaşır ve fiber halini alır.

### 2.6.1. Elektro-eğrilmiş doku iskelelerinin avantajları

Hücre dışı matris benzeri bir yapı oluşturmak için seçilen herhangi bir tekniğin gözenekli, ideal olarak ağsı bir yapı ile üretilmesi gerektiği açıktır. Yaygın olarak kullanılan iskele yapılarına genel bir bakış Şekil 2.13'te gösterilmektedir.



Şekil 2.13. Rezervuar ve matris sistemlerinin şematik gösterimi (George, 2004)

Şekil 4'ten görülebileceği gibi, mikro gözenekli ve mikro-fiber iskeleler doğru yüzey kimyası ve mekanik özelliklere sahip olsalar da 2 boyutlu alt-tabakaya benzer hücre-matris etkileşimleri için sadece sınırlı bir yüzey alanı sağlar. Hücre dışı matris, karmaşık bir yüzey yapısına sahip olan 10 nm ila 300 nm aralığında nano-fiberlerden oluşur (Curtis ve Wilkinson, 1999). Mikro-topolojik özelliklere hücrel cevaplar tanımlanmış olsa da, iskele yüzeyindeki basamaklar, oluklar, sütunlar ve çukurlar gibi nano özelliklere ilişkin sınırlı bir anlayış vardır (Webster, Schadler, Siegel ve Bizios, 2002; Yim, Darling, Kulangara, Guilak ve Leong, 2010). Dolayısıyla daha karmaşık bir doku oluşturmak için, iskelelerin bu ölçeklerde manipüle edilebilmesi gerekmektedir. Bir nanofiber iskele hücre dışı matrise çok daha yakın benzerlik gösterir ve hücrelerin yapışabileceği çok daha büyük bir yüzey alanı sunar.

## 2.7. Kemik Doku Mühendisliğiyle İlgili Literatür Çalışmaları

Doku mühendisliği, günümüzün üzerinde en çok çalışılan biyomedikal alanlarından birisini oluşturmaktadır. Kemik dokusu, vücudun en önemli yapısal ve destekleyici bölümünü oluşturan, osteoblastlar tarafından oluşturulan mineralize bir bağ dokusudur. Osteoblastlar,

bir kolajen matrisini biriktirir ve kolajen matris içinde kimyasal olarak birleşerek kalsiyum, magnezyum ve fosfat iyonlarını açığa çıkarır. Bu nedenle, kemik dokusu, kollajenöz bir matris ve bir mineral fazdan oluşan doğal bir kompozittir. Son yıllarda, karbon nanotüplerin (KNT) biyomedikal alanda kullanımını yoğun ilgi görmeye birlikte doku mühendisliği uygulamalarında özellikle kemik doku mühendisliği ve yapay kas üretimi konularında mekanik özellikleri ve rejeneratif etkisi nedeniyle kullanımının araştırılması daha da yoğunlaşmıştır. Kemiklerin yenilenmesi üzerine yoğunlaşan çalışmaların temel fikri, kemiklerin inorganik kısmını oluşturan kalsiyum kristallerini saran organik yapıdaki kollojen proteinlerinin yerine karbon nanotüplerin kullanılması ve kırılan ya da osteoporoz (kemik erimesi) gibi hastalıklarla hasar gören kemiklerin yenilenmesini sağlamaktır (Yoon ve diğerleri, 2014). Bu kapsamda, KNT'lerin hidroksiapatitin mukavemetini, sertliğini arttırmak ve sonuç olarak kırılma dayanıklılığını azaltmak için kullanıldığı bir araştırma sonucunda; biyokompozit doku iskelesinin mekanik özelliklerinin belirgin bir şekilde iyileştiği belirtilmiştir (Li Chen, Hu, Shen ve Tong, 2013). Osteoblastlar, yani kemik oluşturan hücreler, kemik yüzeyinde çoğalır ve kemik matris proteinlerini üretir ve salgırlar. Osteoblastlar hormonal kontrol altındaki hücrelerin farklılaşma aşamalarında ilerledikçe, hidroksiapatit kristali üretimi aracılığıyla matrisi mineralize ederler (Warowicka, Maciejewska ve Litowczenko, 2016). Farklı doku iskelesi malzemeleri, in vitro kemik oluşumunu sağlamak ve osteoblast büyümesi için substrat oluşturmak üzere kullanılmaktadırlar. Sentetik doku iskelesi ya da ekstraselüler matris içinde hücreler tarafından gerçekleştirilen kemik rejenerasyonu biyomühendislikteki yeni bir yaklaşımdır ve kemik transplantasyonunda allograft ve otograftların kullanımının yerini alması amaçlanmaktadır (Gajendiran ve diğerleri, 2017). Bu kapsamda, Zanello ve diğerleri (Zanello, Zhao, Hu ve Haddon, 2006) yaptıkları çalışmada karbon nanotüplerin osteoblastların büyümesi, çoğalması ve sonrasında kemik oluşumu için doku iskelesi malzemesi olarak kullanımının yeterli olduğunu raporlamıştır. KNT'ler kendine özgü kimyasal, fiziksel ve mekanik özellikleri nedeniyle biyolojik uygulamalarda kullanımı açısından yüksek potansiyele sahiptir. KNT'lerin yoğunluğu grafit benzerdir, titanyum ve çeliği de kapsayan kemik doku iskelesi malzemesi olarak kullanılan diğer metallere göre çok daha hafiftir (Sajid ve diğerleri, 2016). Ayrıca, karbon nanotüpler bilinen en dayanıklı malzemelerdir ve kemiğe implante edilmeleri hasar görmüş kemiğin mekanik özelliklerini iyileştirebilmektedir (Venkatesan, Ryu, Sudha ve Kim, 2012). Bu bakış açısından yola çıkarak, KNT'ler sadece kemik rejenerasyonunu uyarmak için değil aynı zamanda kalıcı bir mekanik işlev sergilemek için de kullanılmaktadır.



Tümörlerin, travmanın ve normal olmayan kemik gelişiminin uzaklaştırılması ile ilgili olarak, insanlarda oluşan kemik hasarlarının tedavisinde önemli kısıtlamalarla karşılaşmaktadır. Otograft, allograft ve metal protezleri gibi son zamanlarda yaygın olarak uygulanan tedaviler genelde doğal kemik rejenerasyonunu desteklemezler (Rodrigues ve diğerleri, 2016). Aksine, kayıp kemik yerine sentetik bir malzeme yerleştirilerek tedavi amaçlanmaktadır. Literatürdeki bilgiler, KNT ile osteoblast çoğalması ve kemik oluşturma işlevlerinin sürdürülebildiğini; hücre şeklinin ve hücre farklılaşmasının çok katmanlı KNT ya da tek katmanlı KNT kullanımı ile kontrol edilebileceğini göstermektedir (Abarrategi ve diğerleri, 2008; Hirata ve diğerleri, 2011). Ayrıca, elektriksel olarak nötr KNT üzerinde osteoblastlar kültürlendiğinde mineralize kemiğin oluştuğu ve osteoblastların büyüdüğü; kemik malzemelerinin yeterli derecede salgılanması için elektriksel özelliklerinin korunması gerektiğini de gösteren araştırmalar mevcuttur (Bhattacharya ve diğerleri, 2011; Tonelli ve diğerleri, 2012). Bu araştırmalar, elektriksel olarak nötr KNT'lerin zarar görmüş kemiklerin tedavisi/iyileştirilmesi için potansiyel dolgu malzemesi olarak düşünülebileceğini öne sürmektedir. Dolayısıyla KNT'lerin kemik kaybına neden olan kemik kusurlarının tedavisi ve normal kemiğin yeniden büyütülmesi ve geliştirilmesi için alternatif malzeme olarak kullanılabilirliğini kanıtlamaktadır.

Literatürde farklı tür ve fonksiyonel gruplu KNT'lerin kemik doku mühendisliğinde kullanımının listesi Çizelge 2.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Farklı tür ve fonksiyonel gruplu KNT'lerin kemik doku mühendisliğinde kullanımı

Çalışma ( <i>in vitro</i> / <i>in vivo</i> )	KNT Türü	Test sistemi	Referans
Biyoyumluluk ( <i>in vivo</i> )	Saf TKNT	Tavşan kemik defekti modeli	(Sitharaman ve diğerleri, 2008)
Sitotoksosite ( <i>in vitro</i> )	TKNT ve 4-tert-butilfenilen fonksiyonelli TKNT	Sıçan fibroblast hücre hattı (3T3-benzeri)	(Shi ve diğerleri, 2008)
Osteoklast farklılaşması ( <i>in vitro</i> ve <i>in vivo</i> )	ÇKNT (80nm ve 150 nm)	Fare primer osteoblast hücre hattı	(Saito ve diğerleri, 2009)
Uyumluluk ( <i>in vivo</i> ) ve ektopik kemik oluşumu	Yüksek saflıkta ÇKNT	Fare	(Usui ve diğerleri, 2008)

Çizelge 2.1. (devam) Farklı tür ve fonksiyonel gruplu KNT'lerin kemik doku mühendisliğinde kullanımı

Doku iskelesi ( <i>in vitro</i> )	ÇKNT (-COOH fonksiyonelli)	MC3T3-E1 hücre hattı	(Hirata ve diğerleri, 2010)
MSC'lerin inhibisyonu, proliferasyonu ve farklılaşması ( <i>in vitro</i> )	TKNT ve ÇKNT (-COOH fonksiyonelli)	Mezenkimal kök hücreler (MSC'ler)	(D. Liu, Yi, Zhang, Zhang ve Yang, 2010)
In vitro, kemik rejenerasyon biyomateryali	TKNT ve ÇKNT	Sıçan Osteosarkom hücre hattı	(Zanello ve diğerleri, 2006)
Kemik hücresi çoğalması ( <i>in vitro</i> )	Dikey olarak hizalanmış KNT	İnsan Osteosarkom hücre hattı	(S., I. ve J., 2007)

KNT'ler osteoblastların çoğalmasını, farklılaşmasını ve yüzeye tutunmalarını arttırmaktadırlar (Swetha ve diğerleri, 2010). Uygun matrislere KNT'lerin eklenmesiyle, sonuçta oluşacak kompozitlere güçlendirilmiş özellikler kazandırılmaktadır (Cheng, Rutledge ve Jabbarzadeh, 2013a; Saito ve diğerleri, 2009). Kemik doku mühendisliği uygulamaları için birçok doğal ve sentetik polimerler kullanılabilir fakat bunlar mekanik olarak yetersiz kalmaktadır (Ikeda ve diğerleri, 2009). KNT'ler, malzemelerin özelliklerini iyileştirebilmek için çok çeşitli malzemelere güçlendirici ya da katılma ürünü olarak kullanımına olanak tanıyan üstün mekanik, termal ve elektriksel özelliklere sahiptir (W. Wang, Ciselli, Kuznetsov, Peijs ve Barber, 2008; W. Wang, Meyer ve Wang, 2009). Polimer içeren biyomalzemeler genellikle kemiğe bitişik yerleştirilirler. KNT'lerin kullanımının kemiğe uygulanan bu malzemelerde esas olarak mekanik özellikleri bütünüyle iyileştireceği öngörülmekte ve yönlendirilmiş kemik doku rejenerasyonunu arttıran doku iskelesi gibi davranması beklenmektedir (Dalton ve Woodfi, 2008; Rezwan ve diğerleri, 2006). KNT'lerin hücre çoğalmasını destekleyen inert matriks gibi davrandığı bilinmesine rağmen, diğer doğal ya da sentetik malzemelerle birlikte biyokompozit olarak etkilerinin kemik doku mühendisliği uygulamalarında daha etkili olacağı düşünülmektedir (Jiang ve diğerleri, 2010; Liao ve diğerleri, 2012; Wong ve diğerleri, 2013). Bu kapsamda Sitharaman ve arkadaşları (Shi ve diğerleri, 2008) ÇKNT'lerin *in vivo* osteoklastik kemik resorpsiyonunu inhibe ettiğini ve biyomalzeme olarak kullanıldığında kemik üzerinde yararlı etkileri olacağını önermişlerdir. Kitin, kitosan ve jelatin gibi doğal polimerler kemik hücrelerinin artışı benzer şekilde desteklemektedir; kemik hücrelerinin büyümesi/çoğalması için doğal ve sentetik polimerler ve KNT içeren biyokompozit üzerine

yapılan çalışmalar kemik doku mühendisliği alanındaki bilgilerimizi daha ileri seviyeye taşıyacaktır (Sahithi, Swetha, Ramasamy, Srinivasan ve Selvamurugan, 2010; Swetha ve diğerleri, 2010).

Cheng ve diğerlerinin (Cheng ve diğerleri, 2013a) yaptıkları bir çalışmada poli(lactide-co-glycolide) (PLGA)/ KNT içeren bir doku iskelesi geliştirmiştir. Bu çalışma sonucunda PLGA/KNT doku iskelelerinin sadece PLGA içeren doku iskelelerinden mekanik olarak daha güçlü bulunduğu; KNT'ün, PLGA yapısı içine katılmasıyla yüzey pürüzlülüğünün arttığı ve bu da MC3T3-E1 preosteoblastlarının tutunmasını ve proliferasyonunu arttırdığı görülmüştür. Venkatesan ve arkadaşlarının (Venkatesan ve diğerleri, 2012) yaptıkları çalışmada ise -COOH ile fonksiyonelleştirilmiş ÇKNT ve karbonatlaştırılmış doğal hidroksiapatit ile kitosan matrisli kompozit doku iskelesi geliştirmişlerdir. Bu araştırmanın sonucunda dondurarak kurutma yöntemi ile elde ettikleri -COOH fonksiyonelli KNT-kitosan/HA kompoziti ile kemiğin ekstraselüler matrisinin istenilen özelliklerine benzer özelliklere sahip kompozit malzeme elde etmeyi başarmışlardır. Ayrıca, bu kompozit yapının daha iyi termal kararlılık, gözenekler arası bağlantı, kontrol edilebilen in vitro bozunma hızı ve hücre artışı gibi özellikleri sebebiyle kemik doku mühendisliği uygulamalarında potansiyel olarak kullanılabileceğini raporlamıştır.

Elektro-eğirme yöntemi ile hazırlanan kompozit doku iskelelerin doku mühendisliği uygulamalarında özellikle de kemik doku rejenerasyonunda kullanımının yararlı olabileceğini öne süren birçok çalışma mevcuttur (Bosworth ve Downes, 2011; Prabhakaran, Venugopal ve Ramakrishna, 2009). Örneğin, Zhang (H. Zhang, 2011) PLGA/ çok katmanlı KNT biyokompozit doku iskelelerini elektro-eğirme yöntemi ile doku mühendisliği uygulamaları için hazırlamıştır. Biyokompozitlerin fiziksel ve mekanik özelliklerinin iyileşmesinin yanı sıra kemik iliğinden elde edilen mezenkimal kök hücreleri (BMSC) ile yapılan hücre çalışmaları sonucunda; biyokompozit doku iskelesi üzerinde kullanılan kök hücrelerin çoğalma ve tutunma düzeylerinde belirgin bir artış sağlandığı görülmüştür.

Günümüze kadar, metaller üstün mekanik özelliklerine bağlı olarak kemiği değiştirmek veya güçlendirmek için tercihen yapısal implantlar olarak kullanılmıştır. Bununla birlikte, malzemelerin çoğu, implante edilen bölgenin çözünme ürünlerinin zayıf toleransı nedeniyle implantasyon için uygun değildir. Şu anda kabul edilebilir malzemeler titanyum, kobalt, demir, nikel, zirkonyum, tantal, altın ve gümüş esaslı alaşımlardır. Alaşımlar, nihai

mukavemet, elastik modül, kolay üretilebilirlik, sünek davranış ve korozyon direnci gibi özelliklerini geliştirmeyi amaçlayan bu metallere yapılmıştır. Yine de, bu metalik implantların, kemikte atrofi ve osteoporoz, açıklık (palpability), enfeksiyon, ekstrüzyon riski ve parçacık süzme (particulate leaching) ile sonuçlanabilen birçok dezavantajı vardır (Q. Chen ve Thouas, 2015; Malladi, Mahapatro ve Gomes, 2018; Nogués, Blanquer, Barrios ve Ibañez, 2017). Bu nedenle son zamanlarda, polimerik malzemelerin geliştirilmesine yoğunlaşarak hem sentetik hem de doğal polimerler kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Doku iskelesi uygulamalarında aljinat, jelatin, nişasta, kollajen ve kitosan gibi biyobozunur doğal polimerler ve polikaprolakton, polilaktik-ko-glikolik asit, polietilenglikol, polivinilalkol ve poliüretan gibi biyobozunur sentetik polimerler kullanılmaktadır. Doğal polimerler biyoaktif/biyofonksiyonel olmaları, biyolojik ve kimyasal olarak doğal dokulara benzerlikleri nedeniyle tercih edilirler. Fakat, kollajen ve kitosan gibi doğal polimerlerden yapılan biyomalzemelerin mekanik dayanımı zayıftır ve genellikle ısıyla eritilemezler ve özel bir çözücüye ihtiyaç duyarlar (Sabir, Xu ve Li, 2009). Öte yandan doku mühendisliği alanında kullanılan sentetik polimerler doğal kaynaklardan elde edilememesi dezavantajlarına karşılık, kolay proses edilebilmeleri ve doğal polimerlerden farklı olarak kimyasal hidroliz yoluyla bozunabildikleri ve enzimatik proseslerden etkilenmedikleri için bozunma hızlarının hastadan hastaya değişmemesi gibi avantajlara sahiptirler (Bose, Roy ve Bandyopadhyay, 2012). Doğal polimerlerden doku iskelesi üretimi için sınırlı sayıda üretim tekniği kullanılırken sentetik polimerlerden doku iskelesi üretimi için pek çok metot kullanılmaktadır (O'Brien, 2011; Shin, Jo ve Mikos, 2003). Kemik rejenerasyonu için kullanılanlar arasında Polikaprolakton (PCL), polivinil alkol (PVA) ve polilaktitler (PLA, PLLA, PLDA), polyorthoester (POE), polianhidritler, poliglikolid (PGA) ve özellikle poli (laktit-ko-glikolid) (PLGA) gibi sentetik bozunabilir polimerler bilinmektedir. Bu kapsamda biyokompozit doku iskelesi uygulamalarında kullanılan farklı nitelikteki KNT'lerin polimerik malzeme özelliklerine katkısı Çizelge 2.2.'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2. Kemik doku mühendisliği uygulamaları için KNT katkı polimerik biyokompozit doku iskelelerinin özeti

Çalışmada kullanılan polimer	KNT özelliği	Kullanılan hücre kültürü	Üretim yöntemi	Geliştirdiği özellikler	Referans
PHB	ÇKNT-COOH	MG-63	Elektro-eğirme	Mekanik özellik Yüzey alanı ve gözeneklilik Hücre çoğalması	(Zhijiang, Cong, Jie, Qing ve Kongyin, 2018)
PLGA	ÇKNT	Sıçan kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler	Elektro-eğirme	Hücre yapışması ve çoğalma	(H. Zhang, 2011)
PLLA	TKNT	İnsan fetal osteoblast hücreleri	Liyofilizasyon	Hücre uyumluluğu Elastik modül	(D. Zhang, Kandadai, Cech, Roth ve Curran, 2006)
PCL	ÇKNT	Kemik iliği kaynaklı stroma hücreleri	Çözücü buharlaştırma tekniği	Mekanik özellik, Hücre çoğalması, Osteojenik farklılaşma	(Pan, Pei, He, Wan ve Wang, 2012)
PLGA	KNT	MC3T3-E1	Çözelti dökme	Mekanik özellik Hücre çoğalması ve osteojenik farklılaşma	(Cheng, Rutledge ve Jabbarzadeh, 2013b)
PU	ÇKNT-COOH	MC3T3-E1	Elektro-eğirme	Mekanik özellik Hücre farklılaşması Hücre adhezyonu	(Shrestha ve diğerleri, 2017)
PBAT	ÇKNT	MG-63	Elektro-eğirme	Mekanik özellik, Mineralizasyon, Hücre adhezyonu, Osteojenik farklılaşma	(Rodrigues ve diğerleri, 2016)
PLA	ÇKNT	Osteoblast	Elektro-eğirme	Hücre yapışması ve çoğalması	(Shao ve diğerleri, 2011)
Kitosan	ÇKNT	MG-63	Liyofilizasyon	Mekanik özellik, hücre canlılık ve farklılaşması	(Gholizadeh ve diğerleri, 2017)
Kolajen	ÇKNT	MC3T3-E1	Liyofilizasyon	Hücre canlılığı, mineralizasyon, osteojenik farklılaşma	(Valverde ve diğerleri, 2016)

Biyolojik olarak parçalanabilen polimer doku iskelesi sentezinde kullanılan çeşitli biyopolimerler arasında, PLA biyoyumluluk ve biyobozunabilirlik, kontrol edilebilir bozunma hızı gibi özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Bu nedenle PLA'nın klinik kullanımını yaygınlaştırmakla birlikte son zamanlarda yumuşak doku mühendisliği (Valverde ve diğerleri, 2016), kemik doku mühendisliği (Montjovent ve diğerleri, 2008), sinir rejenerasyonu (Goulart ve diğerleri, 2016) ve ilaç taşıyıcı sistem uygulamaları (Tyler, Gullotti, Mangraviti, Utsuki ve Brem, 2016) için oldukça dikkat çekmekte olduğu görülmektedir. PLA'nın bozulması, polimer kompleksindeki ester bağlarının hidrolizi

yoluyla olmaktadır. Bozunma ürünü, normal olarak vücutta mevcut olan laktik asittir. Laktik asit yığın polimerden salındıktan sonra, son olarak su ve karbondioksit olarak atılan trikarboksilik asit döngüsüne girer (Serra, Mateos-Timoneda, Planell ve Navarro, 2013; Sin, Rahmat ve Rahman, 2013). PLA'nın ilaç salım sistemi olarak kullanıldığı bir çalışmada, bozunma süresince mekanik özelliklerinin kademeli olarak azaltıldığı gösterilmiştir (Tyler ve diğerleri, 2016). Bu bozulma özelliği, doku mühendisliği için faydalıdır, çünkü PLA, yüklerin, uzun bir süre boyunca yeni oluşan kemiğe kaydırılmasına izin verir, bu nedenle, stres korumasını azaltır (Dalton ve Woodfi, 2008; Uebersax ve diğerleri, 2006). Ayrıca diğer sentetik biyopolimerler gibi PLA'nın da, jelatin ve kollajen gibi doğal polimerler ile veya grafen, KNT, halloysit gibi nanoparçacıklarla birleştirilmesi, kontrol edilebilir bozunma süresi ile mekanik özelliklerini iyileştirmektedir (Antoniac, 2016; Lam, Savalani, Teoh ve Hutmacher, 2008).

### 3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Bu bölümde tezin deneysel bölümü detaylı olarak sunulmuştur. İlk önce kullanılan malzemeler ve cihazlar tanıtılmıştır. Tez kapsamında yapılan deneysel çalışmalar iki alt başlık altında toplanmış olup, bunlardan birincisi, hidroksil (-OH) ve karboksil (-COOH) olmak üzere iki farklı fonksiyonel gruba sahip ÇKNT katkılı PLA/PVP biyokompozit doku iskelelerinin hazırlanması ve morfolojik, fizikokimyasal ve mekanik karakterizasyonlarının yapılarak malzeme özelliklerinin belirlenmesidir. İkinci aşama ise hücre kültürü çalışmalarını kapsamaktadır. Hücre kültürü çalışmalarında doku iskelelerinin hücre proliferasyonuna etkisini değerlendirmek için preosteoblastik MC3T3-E1 hücreleri kullanılmıştır.

#### 3.1. Malzemeler ve Cihazlar

##### 3.1.1. Malzemeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan malzemelerin içeriği ve tedarik edildiği firmalar Çizelge 3.1' de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Kullanılan malzemeler

Malzeme	İçerik	Tedarik Edilen Firma
Poli (laktik asit) (PLA)	Mn~200,000	Nature Works LLC, ABD
Polivinilpirolidon	Mn~360,000	Sigma-Aldrich, ABD
N,N-Dimetilformamid (DMF)	$C_3H_7NO, \geq \%99$	Sigma-Aldrich, ABD
Tetrahidrofuran (THF)	$C_4H_8O, \geq \%99$	Sigma-Aldrich, ABD

Çizelge 3.1. (devam) Kullanılan malzemeler

Dimetilsülfoksit (DMSO)	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO, ≥ %99	Sigma-Aldrich, ABD
Fosfat tampon çözelti (PBS Tablet)	0.0027 M potasyum klorür 0.137 M sodyum klorür, pH 7.4	Sigma-Aldrich, ABD
Fetal Bovine Serum (FBS)		Biological Industries, ABD
Minimum Essential Medium Alpha Modification (α-MEM)		Biological Industries, ABD
Penisilin-streptomisin		Invitrogen, ABD
ÇKNT-OH ve ÇKNT-COOH	Çap: 10-20 nm Uzunluk: 30 µm Saflık: ≥ %95	Chengdu Organic, Çin

### 3.1.2. Cihazlar

Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazların bilgi ve listesi aşağıda verilmiştir.

- Elektro-eğirme cihazı (Teknotıp, Türkiye)
- Çalkalayıcı su banyosu (Nüve, Türkiye)
- Atomik kuvvet mikroskobu (XE-100E instrument, Park Systems, Güney Kore)
- Taramalı elektron mikroskobu (JEOL JSM 6060 LV, Japonya)
- Fourier transform infrared (kızılötesi) spektroskopisi (Thermo Nicolet Avatar 370, ABD)
- X-Işını difraktometresi (GNR, ABD)
- Yüzey ıslanabilirlik analizi (Krüss DSA 100, Almanya)
- Mikroskop (Meiji, Japonya)



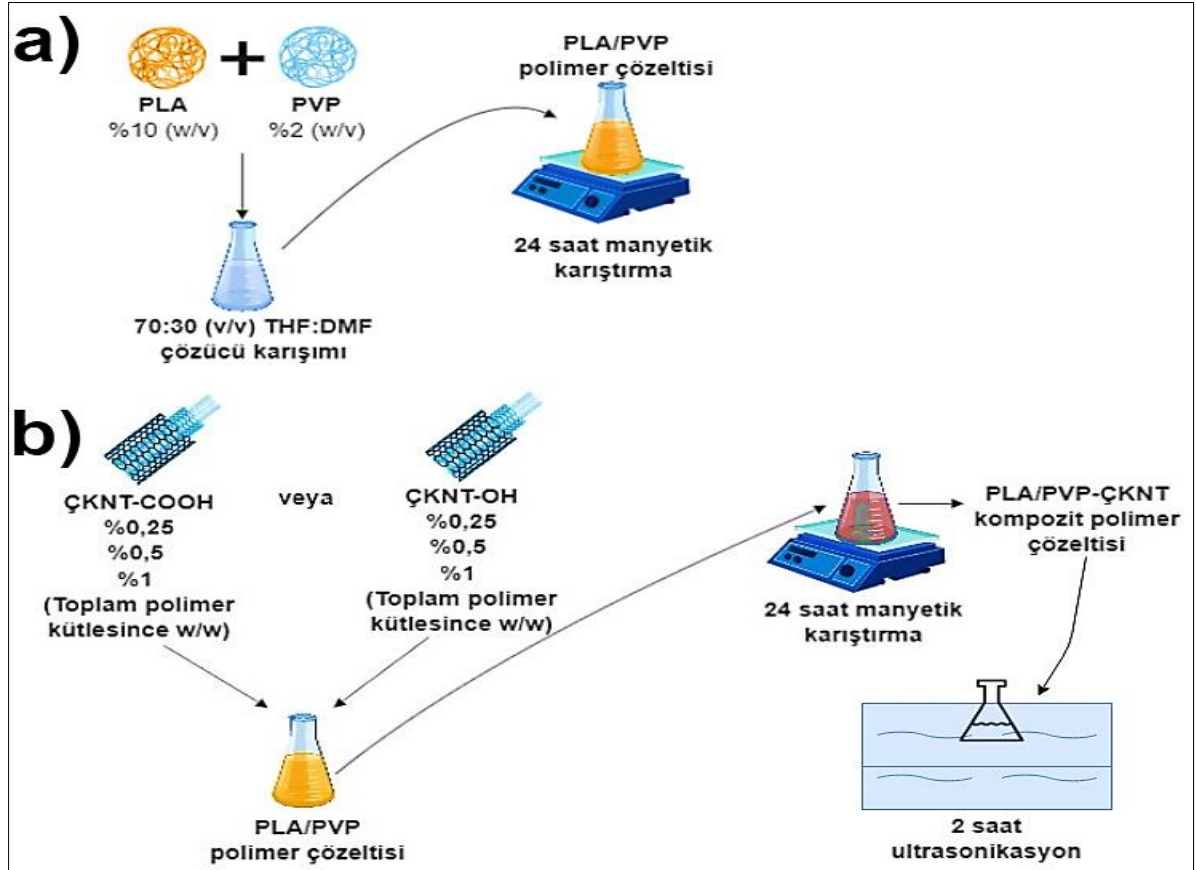
- UV lambası (253nm) (Euroflow, Hollanda)

### 3.2. Doku İskelesi Üretim Çalışmaları

Tez çalışması kapsamında (–OH) veya (–COOH) fonksiyonelli ÇKNT’ler sabit PLA/PVP polimer matrisine üç farklı derişimde ilave edilerek elektro-eğrilmiştir.

#### 3.2.1. Elektro-eğirme çözeltilerinin hazırlanması

Literatür taramasına göre yapılan ön çalışmalar sonucunda PLA/PVP iskelelerin üretimi için; kütlece %10 (w/v) PLA ile kütlece %2 (w/v) PVP polimerlerini içeren çözelti, hacimce 70:30 (v/v) oranında THF: DMF çözücü karışımında 24 saat manyetik olarak karıştırılarak hazırlanmıştır. Kompozit doku iskeleleri için ise PLA/PVP polimer çözeltisine %0,25, %0,5 ve %1 (w/w, toplam polimer kütleince) oranlarında ÇKNT<sub>OH</sub> veya ÇKNT<sub>COOH</sub> eklenerek hazırlanmıştır. Kompozit çözeltiler elektro-eğirme işleminden önce 2 saat ultrasonik banyoda muamele edilmiştir. Çözelti hazırlama işlemlerinin şematik görüntüsü Şekil 3.1’ de verilmiştir.



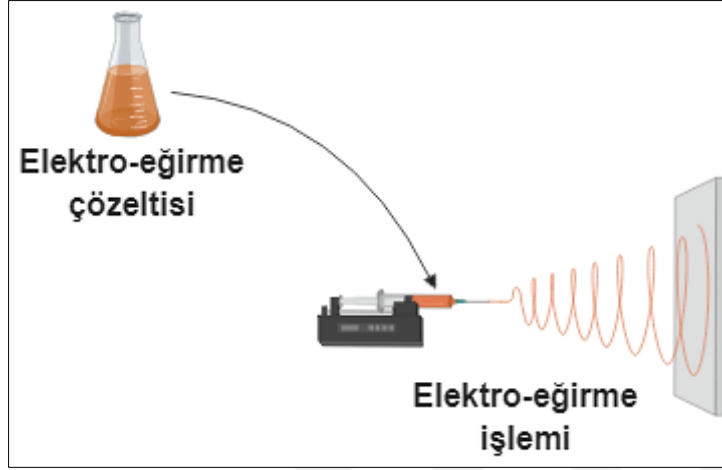
Şekil 3.1. Elektro-eğirme çözeltilerinin hazırlanması; a) PLA/PVP polimer çözeltisi, b) PLA/PVP-ÇKNT kompozit çözeltisi.

Hazırlanan çözeltilerden oluşturulan iskelelerin isimlendirilmeleri ve içerikleri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Geliştirilen doku iskele numunelerinin isimlendirilmesi ve içerikleri

Numune	PLA (% kütlece)	PVP (% kütlece)	ÇKNT <sub>COOH</sub> (% toplam polimer külesince)	ÇKNT <sub>OH</sub> (% toplam polimer külesince)
PLA/PVP	10	2	-	-
PLA/PVP-(0.25)ÇKNT <sub>COOH</sub>	10	2	0,25	-
PLA/PVP-(0.5)ÇKNT <sub>COOH</sub>	10	2	0,5	-
PLA/PVP-(1)ÇKNT <sub>COOH</sub>	10	2	1,0	-
PLA/PVP-(0.25)ÇKNT <sub>OH</sub>	10	2	-	0,25
PLA/PVP-(0.5)ÇKNT <sub>OH</sub>	10	2	-	0,5
PLA/PVP-(1)ÇKNT <sub>OH</sub>	10	2	-	1,0

Hazırlanan çözeltiler 5 mL'lik enjektörlere alınarak, enjektör ucundaki iletken iğneye 0-40 kV gücündeki DC yüksek voltaj dönüştürücü elektrotu bağlanmıştır (Bkz. Şekil 3.2.). Sisteme laboratuvar koşullarında 10 kV ile 25 kV arasında elektriksel potansiyel ve 0,1 ile 2,5 mL/sa arasında akış hızı uygulanmıştır. Topraklanmış karşıt elektrottaki; şırınga ucuna 10-30 cm arasındaki uzaklıkta bulunan alüminyum folyo ile kaplı toplayıcıda biriktirilmiştir.



Şekil 3.2. Elektro-egirme işlemi.

Yapılan ön çalışmalar sonucunda hazırlanan çözeltilerin en uygun elektro-egirme proses parametreleri (çözelti akış hızı, uygulanan gerilim ve iğne ucu ile toplayıcı plaka arasındaki mesafe) Çizelge 3.3' te verilmiştir.

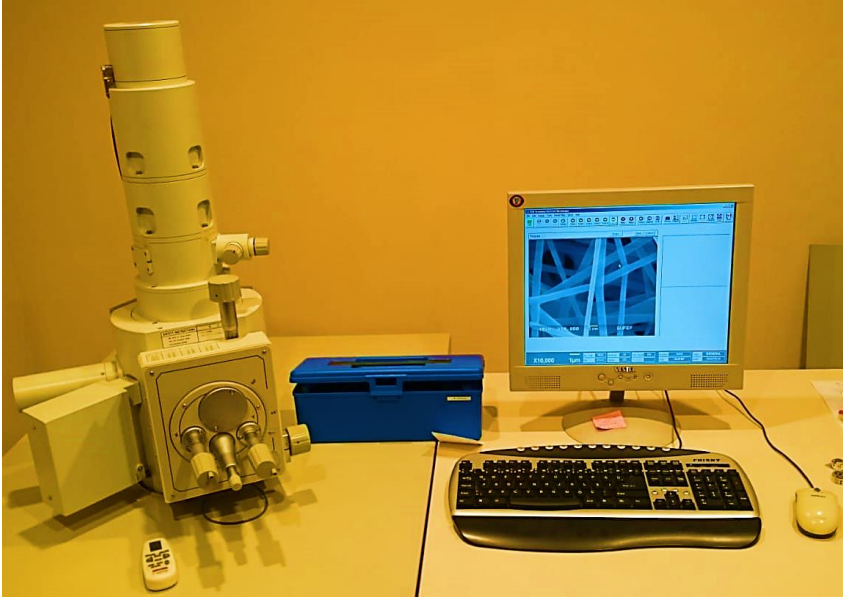
Çizelge 3.2. Doku iskelelerinin en uygun üretim koşulları

Numune	Çözelti akış hızı (mL sa <sup>-1</sup> )	Gerilim (kV)	Mesafe (cm)
PLA/PVP	100	12	10
PLA/PVP-(0.25)ÇKNT <sub>COOH</sub>	100	15	12,5
PLA/PVP-(0.5)ÇKNT <sub>COOH</sub>	100	15	12,5
PLA/PVP-(1)ÇKNT <sub>COOH</sub>	150	15	10
PLA/PVP-(0.25)ÇKNT <sub>OH</sub>	100	15	15
PLA/PVP-(0.5)ÇKNT <sub>OH</sub>	200	15	15
PLA/PVP-(1)ÇKNT <sub>OH</sub>	100	15	10

### 3.3. Karakterizasyon Çalışmaları

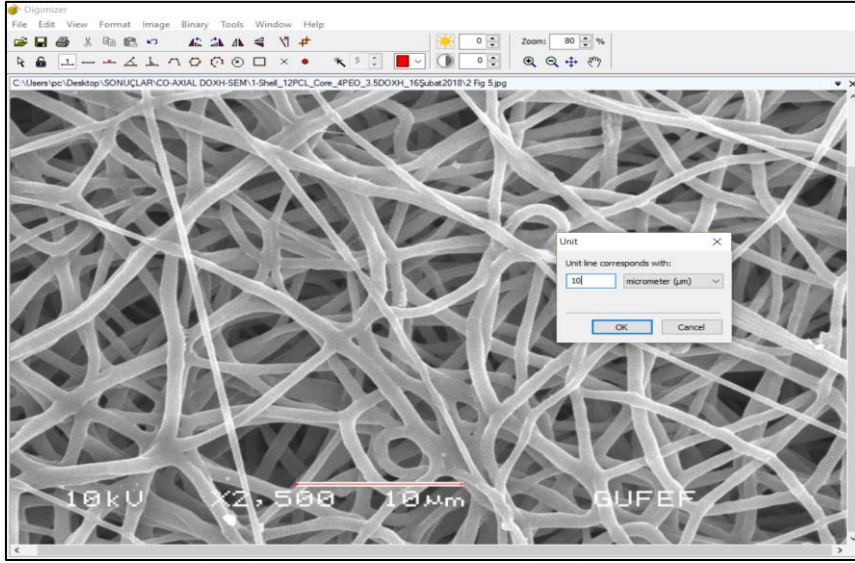
#### 3.3.1. SEM analizi

Geliştirilen doku iskelelerinin yüzey morfolojileri taramalı elektron mikroskopuyla 15 kV 'de ve 500 ve 5,000 büyütmede, yan kesitleri ise 500-1,500 büyüme aralığında incelenmiştir (Bkz. Resim 3.1). Numuneler inceleme öncesinde olası parlamaları önlemek için 90 saniye altınla kaplanmıştır (Polaron SC 502).



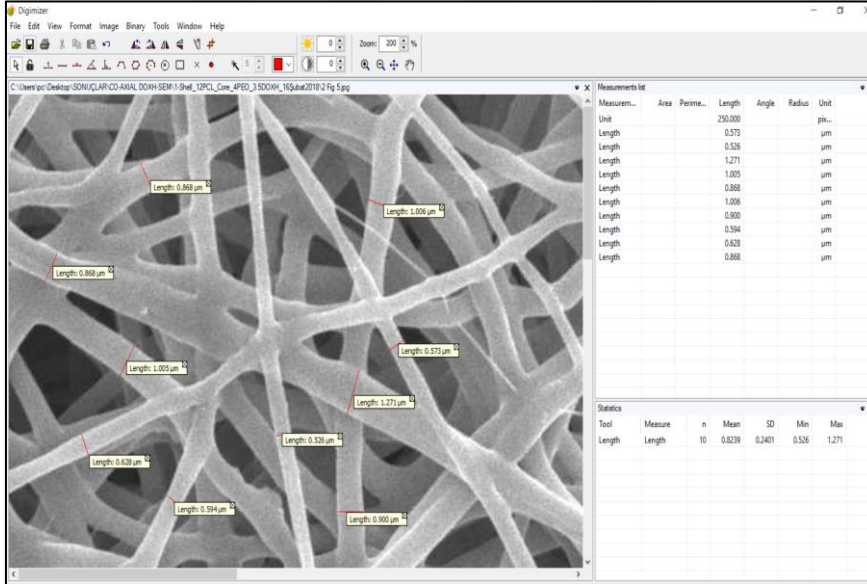
Resim 3.1. Taramalı elektron mikroskobu

Ortalama fiber çapları, Digimizer programıyla ((MedCalc Software; BVBA, Ostend, Belçika) SEM görüntüleri üzerinde rastgele seçilen 80 farklı fiber çapı ölçülerek hesaplanmıştır. Bu işlemde öncelikle SEM görüntüsünün ölçeği programa girilmiştir (Bkz. Resim 3.2).



Resim 3.2. Digimizer programı ile liflerin ortalama çaplarının bulunması

Daha sonra her numune için en az 80 farklı fiber ölçülerek ortalama fiber çap değerleri program ile hesaplanmıştır (Bkz. Resim 3.3). Hesaplanan ortalama çap değerleri Origin Pro programı yardımıyla histograms olarak verilmiştir.

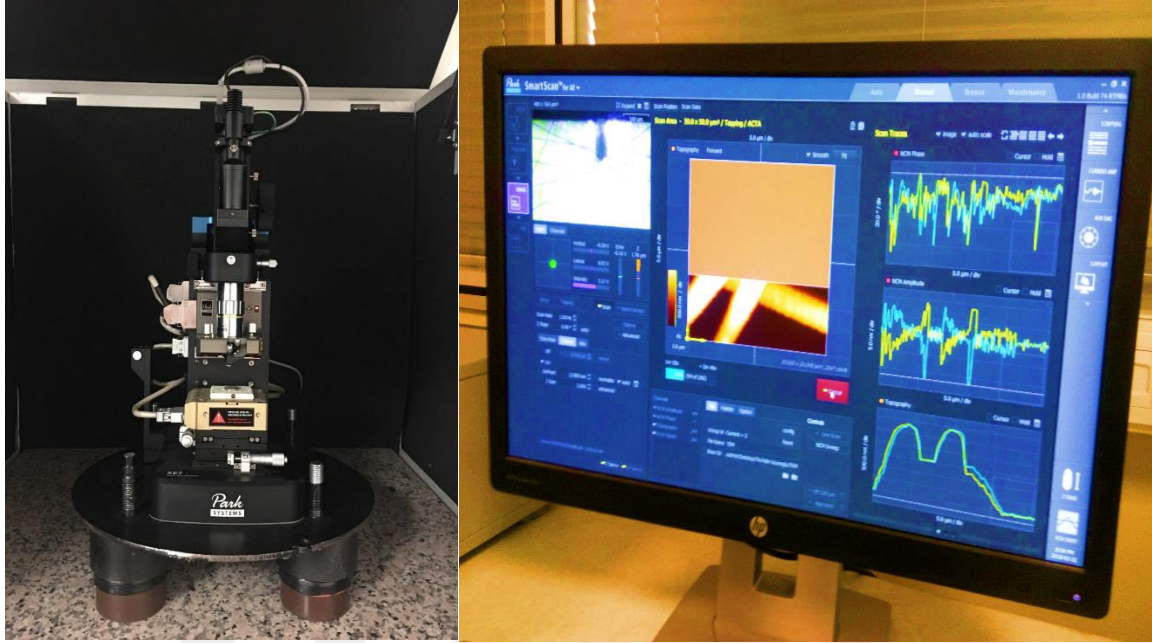


Resim 3.3. Digimizer programı ile lif çap ölçümü

### 3.3.2. AFM analizi

Atomik kuvvet mikroskobu çalışmaları XE-100 AFM model (Park Systems Corp., Suwon, Kore) AFM cihazı ile SmartScan™ programı kullanılarak yapılmıştır (Bkz. Resim 3.4). AFM analizi için fiberler elektro-eğirme işlemi sırasında bir-iki dakika lamel yüzeyine

toplanarak incelenmiştir. Numunelerin yüzey topografya görüntüleri, oda koşullarında, 0,5 Hz tarama hızında ve tapping modda yapılmıştır. Analizde NCM15 ‘non-contact ve tapping’ özellikli uç (tip) ile çalışılmıştır. Örneklerin 2D, 3D topografya görüntüleri ve yüzey pürüzlülüğü değerleri XE1-7 programı kullanılarak elde edilmiştir.



Resim 3.4. Atomik kuvvet mikroskobu cihazı

### 3.3.3. FTIR analizi

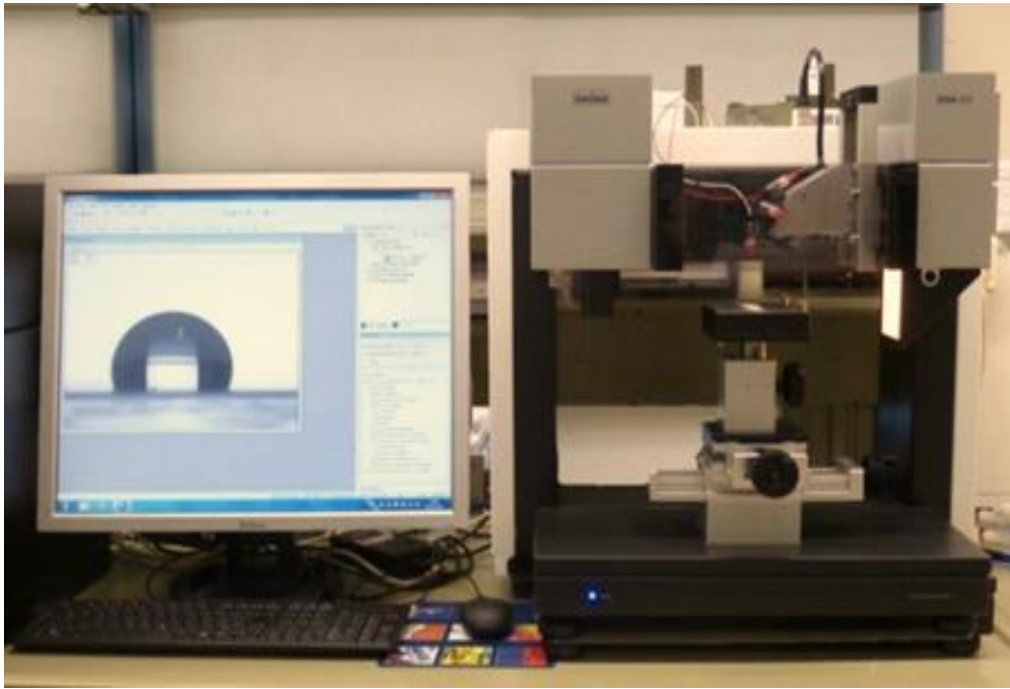
Malzeme yapısında bulunan fonksiyonel kimyasal bağları tespit etmek için geliştirilen tüm iskelelerin ve ayrı ayrı her bileşenin FTIR spektrumları, Nicolet FTIR Spektrometresi kullanılarak incelenmiştir. Cihazın inceleme yüzeyine numune yerleştirilmiş ve spektrumlar, 16 taramada  $4 \text{ cm}^{-1}$  çözünürlükte  $500-4000 \text{ cm}^{-1}$  arasında değişen bir dalga boyunda toplanmıştır. Spektrumları analiz etmek için Thermo Fisher Scientific'in OMNIC görüntüleme yazılımı kullanılmıştır.

### 3.3.4. XRD analizi

Yapısal özellik tayini için yapılan XRD analizleri, APD 2000 Pro diffractometer (GNR, USA) cihazı ile incelenmiştir. Kırınım desenleri, saf  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  ve  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  tozları da dahil her numune için  $1^\circ \text{ dak}^{-1}$  tarama hızında,  $(2\theta) = 5-80^\circ$  tarama aralığında, 40 kV'de ve 30 mA'de kaydedilmiştir.

### 3.3.5. Yüzey temas açısı analizi

Malzemenin ıslanabilirlik özelliğini (hidrofilisite veya hidrofobisite) belirlemek için yüzey temas açısı analizleri yapılmıştır. Analiz için numuneler cihaz (Krüss DSA 100, Almanya) haznesine yerleştirilerek ‘sessile drop’ yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Temas açısı değerleri mikro enjektör yardımıyla yüzeye yaklaşık 3 ml saf su yerleştirilerek ölçülmüştür. Her numunenin yüzeyinde farklı alanlardan en az üç ölçüm yapılarak ortalama temas açısı değerleri hesaplanmıştır (Bkz. Resim 3.5).



Resim 3.5. Temas açısı ölçüm cihazı

### 3.3.5. Hidrolitik bozunma davranışı ve pH değişimi

Geliştirilen doku iskelelerinin şişme kapasitesi ve hidrolitik bozunma davranışı, 37 °C sıcaklık ve 50 rpm çalkalama hızındaki su banyosunda fosfat tampon çözeltisine (pH 7.4) daldırılarak belirlenmiştir. Numuneler 1x1 cm<sup>2</sup> boyutlarında kesildi ve ilk ağırlıkları test edilmeden önce kaydedildi. Daha sonra, eppendorf tüplerinde PBS çözeltisine daldırıldılar. Her bir bozunma süresinden sonra (7, 14, 21 ve 63 gün), numuneler PBS çözeltisinden çıkarıldı ve yüzeydeki fazla suyu hemen almak için bir filtre kâğıdı parçası ile hafifçe kurutularak analitik teraziyle tartıldı.

Hidrolik bozunma davranışının belirlenmesi için ıslak ağırlıkların ölçülmesinden sonra, numuneler bir petri kutusunda 48 saat boyunca oda sıcaklığında kurutuldu ve tekrar tartıldı. Kütle kaybı yüzdesi daha sonra Eş 3.1 kullanılarak hesaplandı (Augustine, Thomas ve Kalarikkal, 2014; Huang, Xiong, Liu, Zhu ve Wang, 2013):

$$\text{Kütle kaybı (\%)} = \frac{W_0 - W_b}{W_0} \times 100 \quad (3.1)$$

$W_0$ , numunenin başlangıç kütlesi ve  $W_b$  ise, bozunmadan sonra numunenin kalan kütlesidir.

Her bir bozunma süresi sonunda, bozunma ortamındaki pH değişiminin takibi yapılmıştır.

### 3.3.6. Mekanik analiz

Doku iskelelerinin mekanik mukavemeti, AGS-J model gerilme test cihazı (Shimadzu, Japonya) ile çekme testleri ile belirlenmiştir (Bkz. Resim 3.6). Tüm numuneler  $6 \times 2 \text{ cm}^2$  boyutlarında dikdörtgenler şeklinde kesildi ve test cihazının iki mekanik kavrama ünitesi arasına dikey olarak yerleştirilmiştir. Çekme testleri mekanik yükleme için kavrama üniteleri arasında 2 cm'lik bir uzunluk bırakılarak, 1 mm/dak çapraz kafa hızında ve 500 N yük hücresi uygulanarak gerçekleştirildi. Örnek kalınlıkları  $\pm 0.1 \text{ }\mu\text{m}$  hassasiyete sahip elektronik bir mikrometre ile ölçülmüştür.



Resim 3.6. Mekanik ölçüm cihazı



### 3.4. Hücre kültürü çalışması

Hücre kültür çalışmalarında, fibroblast benzeri, osteoblasta farklılaşan MC3T3-E1 hücre hattı kullanılmıştır. Embriyonik fare kalvaryumundan elde edilen bu hücre hattı, yüzeye bağımlı olarak üremektedir. Minimum Essential Medium Alpha Modification ( $\alpha$ -MEM) ile flasklarda kültür edilmiştir. Hücreler, flasklarda konflüent tabaka oluşturduklarında, tripsinizasyon ile yüzeyden koparılarak FBS içeren  $\alpha$ -MEM eklenmesi ile tripsin inhibe edilerek elde edilen hücre süspansiyonu santrifüjlenmiştir. Daha sonra taze besi ortamı kullanılarak tekrar süspansiyon edilen hücreler, hücre yoğunluğu  $5 \times 10^5$  hücre/doku iskelesi olacak şekilde doku iskelelerine ekilmiştir. Hücre yapışmasının gerçekleşmesi için yaklaşık 3 saat bekledikten sonra her bir kültür kabı gözüne farklılaşma ortamı olan 50  $\mu$ g/ml askorbik asit, 5mM  $\beta$ -gliserofosfat içerecek şekilde besiyeri ortamı (% 89 DMEM, % 10 FBS ve % 1 penisilin-streptomisin) eklenmiştir. Her 3 günde bir besiyeri ortamı değiştirilmiştir. İnkübasyon 37°C'de, %95-98 nem, %5 CO<sub>2</sub> ve %95 hava içeriğine sahip CO<sub>2</sub> inkübatöründe (Sanyo, MCO-19AIC) gerçekleştirilmiştir. Steril ortam gerektiren tüm işlemler laminar akış kabininde (Telstar, BİOII Advance) yürütülmüştür.

#### 3.4.1. Sitotoksosite (MTT) analizi

Doku iskeleleri üzerinde üreyen MC3T3-E1 hücrelerinin mitokondriyal aktiviteleri, kültür süresince farklı zamanlarda (1, 4, ve 7. günlerde), 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-difeniltetrazolyum bromür (MTT) analizi ile kantitatif olarak tayin edilmiştir. MTT analizi, *in vitro* koşullarda, hücrelerin canlılığına dayanan ve sitotoksisiteyi ölçmeye yarayan kantitatif ve kalorimetrik bir yöntemdir. (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) canlı hücrelerin mitokondirilerindeki süksinat dehidrojenaz enzimine bağlanarak tetrazolyum bileşinini indirger ve böylece koyu mavi renkli formazan kristalleri oluşur. Bu kristaller DMSO ile çözülür ve ortaya çıkan mor renkli çözeltinin absorbans değeri belirlenir. Elde edilen bu absorbans değeri, canlı hücre miktarı ile doğru orantılıdır.

MTT analizi için öncelikle doku iskeleleri üzerindeki kültür ortamı uzaklaştırılacaktır. Ardından, her bir göze 500  $\mu$ L serumsuz besi ortamı ve 50  $\mu$ L MTT çözeltisi (2.5 mg.mL<sup>-1</sup> PBS) eklenmiştir. Hücreler bu şekilde 37°C'deki etüvde 3 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sürecinden sonra, doku iskeleleri üzerindeki ortam uzaklaştırılarak iskeleler başka bir 24 gözlü kültür kabına aktarılmıştır. Her bir göze 300  $\mu$ L DMSO eklenerek oluşan

formazan kristalleri çözünmüştür. Optik yoğunluk, elde edilen çözümden 200 µL alınarak, 690 nm referans olmak üzere 570 nm’de mikropilaka (eliza) okuyucu (Robonik, Readwell Touch) ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Her bir numune için üç tekrarlı çalışılmıştır.



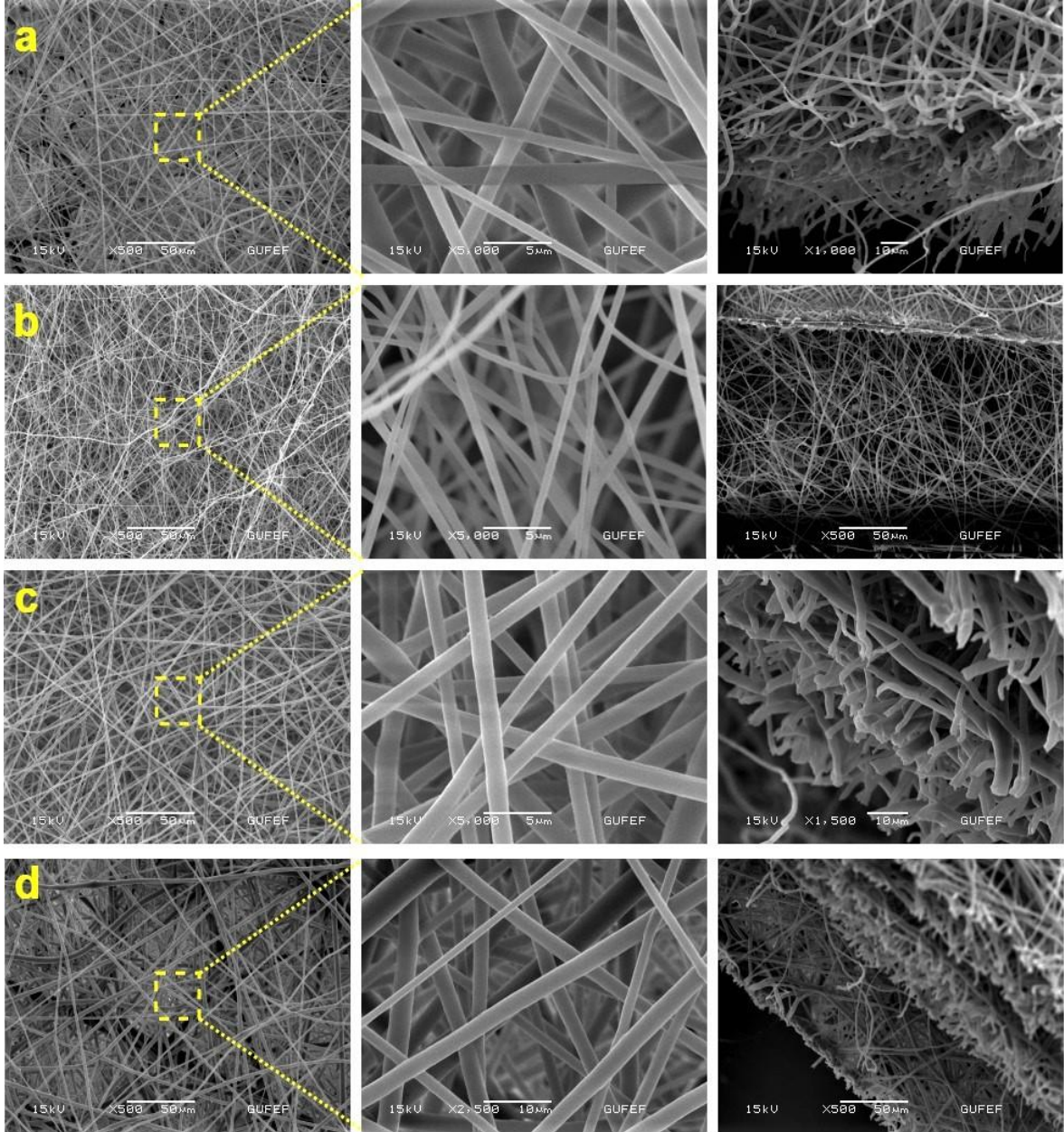
## 4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMALAR

### 4.1. Karakterizasyon Sonuçları

#### 4.1.1. Yüzey morfolojisi

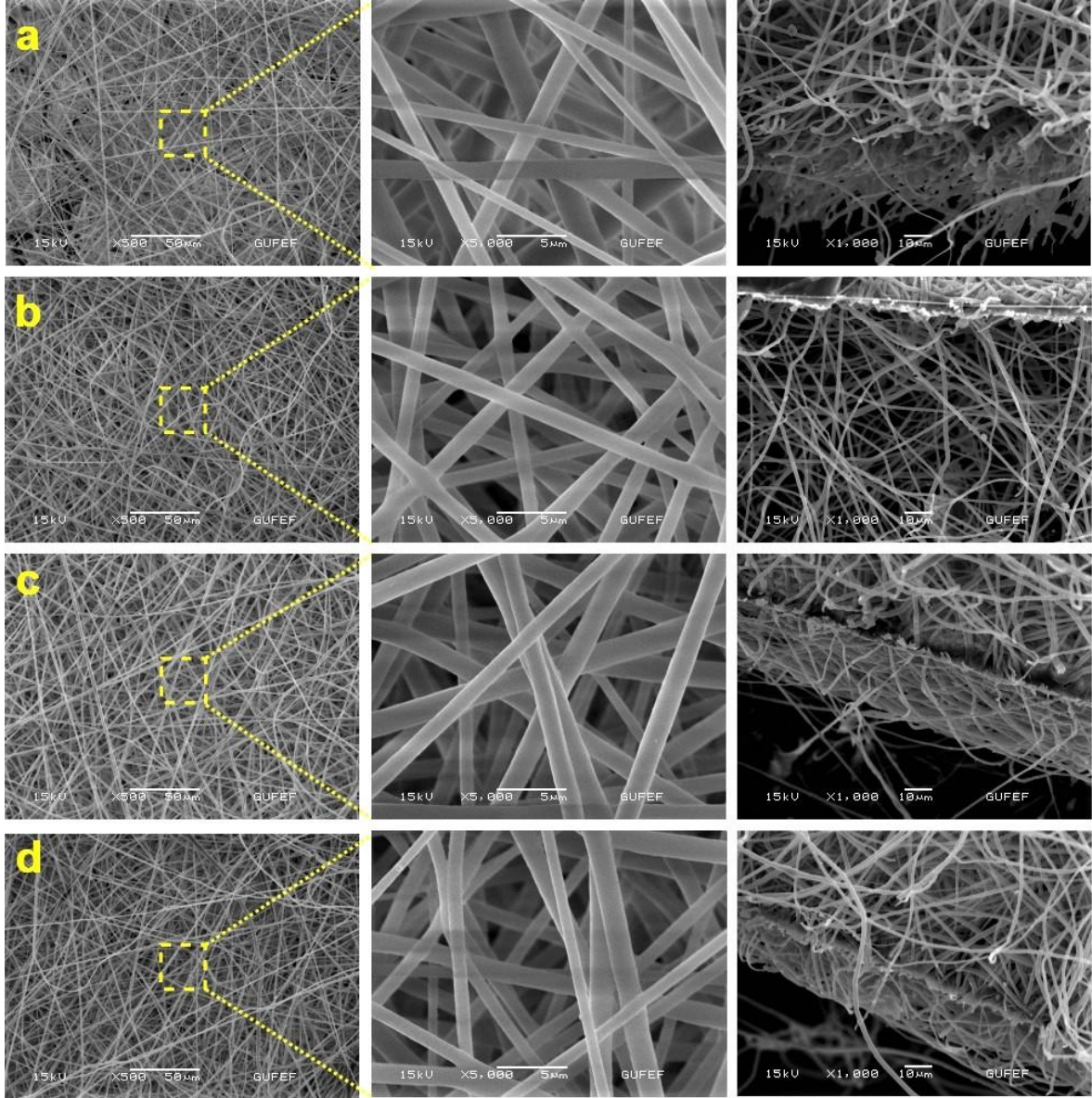
Elektro-eğirme yöntemiyle üretilen malzemelerin karakterize edilmesinde yüzey morfolojilerinin incelenmesi en önemli analizlerden birisidir. Elektro-eğirme işlemi en sık görülen sorun genellikle boncuk oluşumudur. Boncuk oluşumu esasen çözücünün buharlaşmaması ve iğne ile toplayıcı arasındaki kısa mesafe nedeniyle olmaktadır (Reda, Wen ve El-Kamel, 2017). Bu nedenle, işlem parametrelerini optimize ederek bu durumdan kaçınılmalıdır. Bu çalışmada, geliştirilen iskelelerin yüzey morfolojileri SEM analizi ile mikro düzeyde incelenmesinin yanında AFM analizi ile atomik olarak nano düzeyde de incelenmiştir.

Çizelge 3.2' de verilen parametreler ile üretilen iskelelerin SEM görüntüleri Resim 4.1 ve Resim 4.2' de verilmiştir. Saf PLA/PVP ve ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelelerin SEM görüntüleri, Resim 4.1 (a-d)'de verilmiştir. Resim 4.1 (a), saf PLA/PVP iskelesinin morfolojisini göstermektedir. PLA/PVP polimer karışımı ile elde edilen iskeleler herhangi bir boncuk kusuru olmadan düzgün morfolojide üretilmiştir. Resim 4.1 (c-d), sırasıyla PLA/PVP-(0.25)ÇKNT<sub>COOH</sub>, PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>COOH</sub> ve PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>COOH</sub> kompozit iskelelerin SEM görüntüleridir. Görüldüğü gibi, PLA/PVP polimer matrisine ÇKNT<sub>COOH</sub> eklenmesiyle boncuk kusurlarına neden olmadan düzgün yapıda fiberler üretilmiştir. Yan kesit görüntüleri incelendiğinde ise geliştirilen doku iskelelerinin hücreler arası iletişime ve hücre göçüne izin verebilecek ağı yapıda olduğu görülmektedir.



Resim 4.1.  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  içeren iskelelerin SEM görüntüleri (a) PLA/PVP, (b) PLA/PVP-(0.25) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ , (c) PLA/PVP-(0.5) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ , (d) PLA/PVP-(1) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$

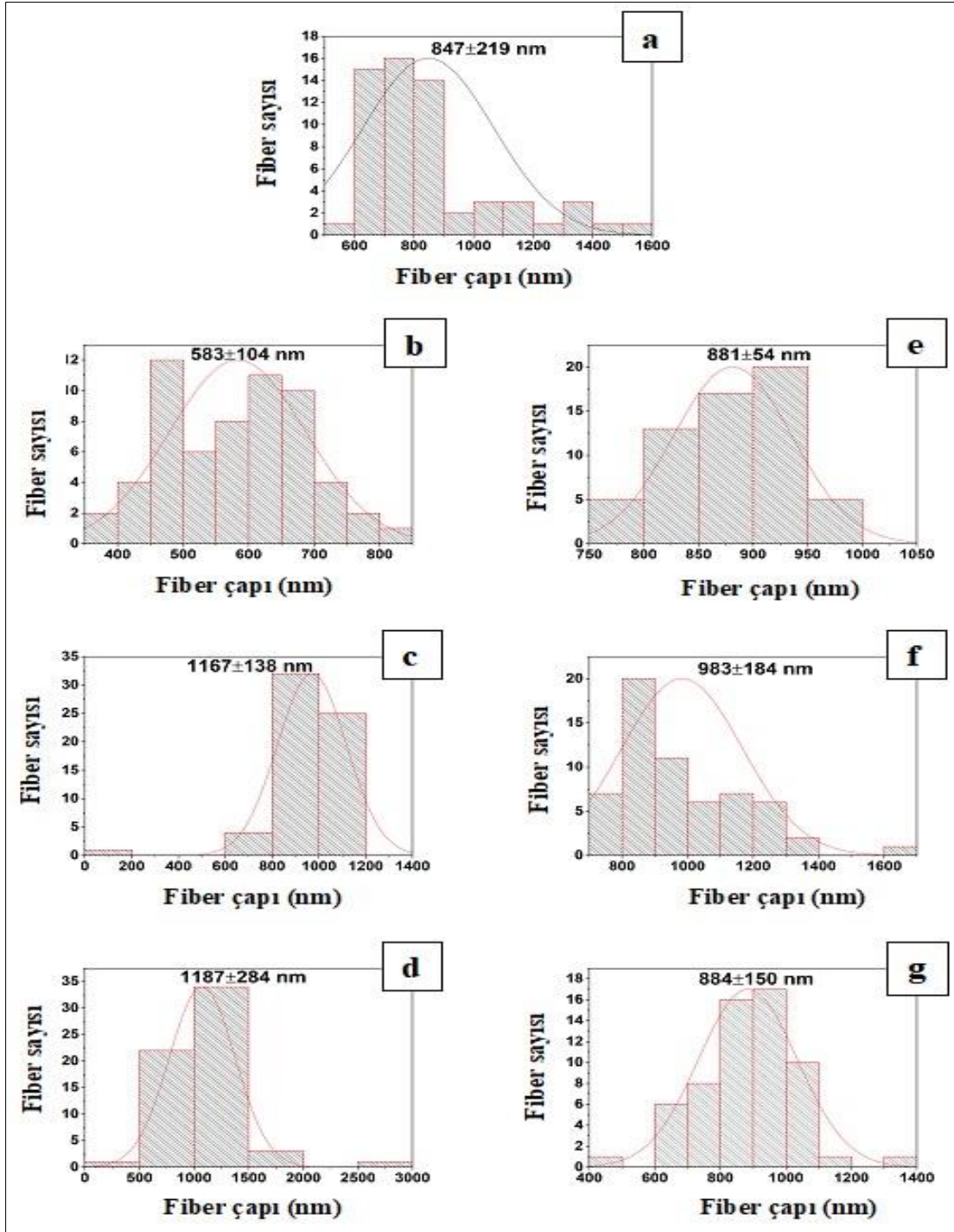
$\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  içeren iskelelerin SEM görüntüleri saf PLA/PVP iskelesinin görüntüsüyle birlikte Resim 4.2 (a-d)'de verilmiştir. Resim 4.2 (a-d), sırasıyla saf PLA/PVP, PLA/PVP-(0.25) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$ , PLA/PVP-(0.5) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  ve PLA/PVP-(1) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  kompozit iskelelerin SEM görüntüleridir.  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  eklenmesinde olduğu gibi  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  eklenmesiyle de boncuk kusurları olmadan düzgün yapıda fiberler üretilmiştir.



Resim 4.2. ÇKNT<sub>OH</sub> içeren iskelelerin SEM görüntüleri (a) PLA/PVP, (b) PLA/PVP-(0.25)ÇKNT<sub>OH</sub>, (c) PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>OH</sub>, (d) PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>OH</sub>

Sonuçlar, fiber morfolojisinin, hem ÇKNT<sub>COOH</sub> hem de ÇKNT<sub>OH</sub> dâhil edilmesinden etkilenmediğini göstermektedir. Bununla birlikte, geliştirilen tüm iskelelerin ortalama fiber çaplarındaki değişim, SEM görüntüleri üzerinde Digimizer yazılımı ile incelenmiş ve sonuçlar Resim 4.3 (a-g) 'de histogram olarak verilmiştir. Resim 4.3 (a) da görüldüğü gibi, PLA/PVP iskelesinin ortalama fiber çapı  $847 \pm 219$  nm'dir. ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskeleler incelendiğinde (Bkz. Resim 4.3 (b-d)) kütlece %0,25 ÇKNT<sub>COOH</sub> ilavesinden sonra  $847 \pm 219$  nm'den  $583 \pm 104$  nm'ye düşerken %0,5 ÇKNT<sub>COOH</sub> ve %1 ÇKNT<sub>COOH</sub> ilavesi ile sırasıyla  $1167 \pm 138$  nm ve  $1187 \pm 284$  nm'ye artmıştır. Diğer taraftan, kütlece %0,25, %0,5 ve % 1 ÇKNT<sub>OH</sub> içeren kompozit fiberlerin ortalama çapları  $881 \pm 54$  nm,  $983 \pm 184$  nm ve

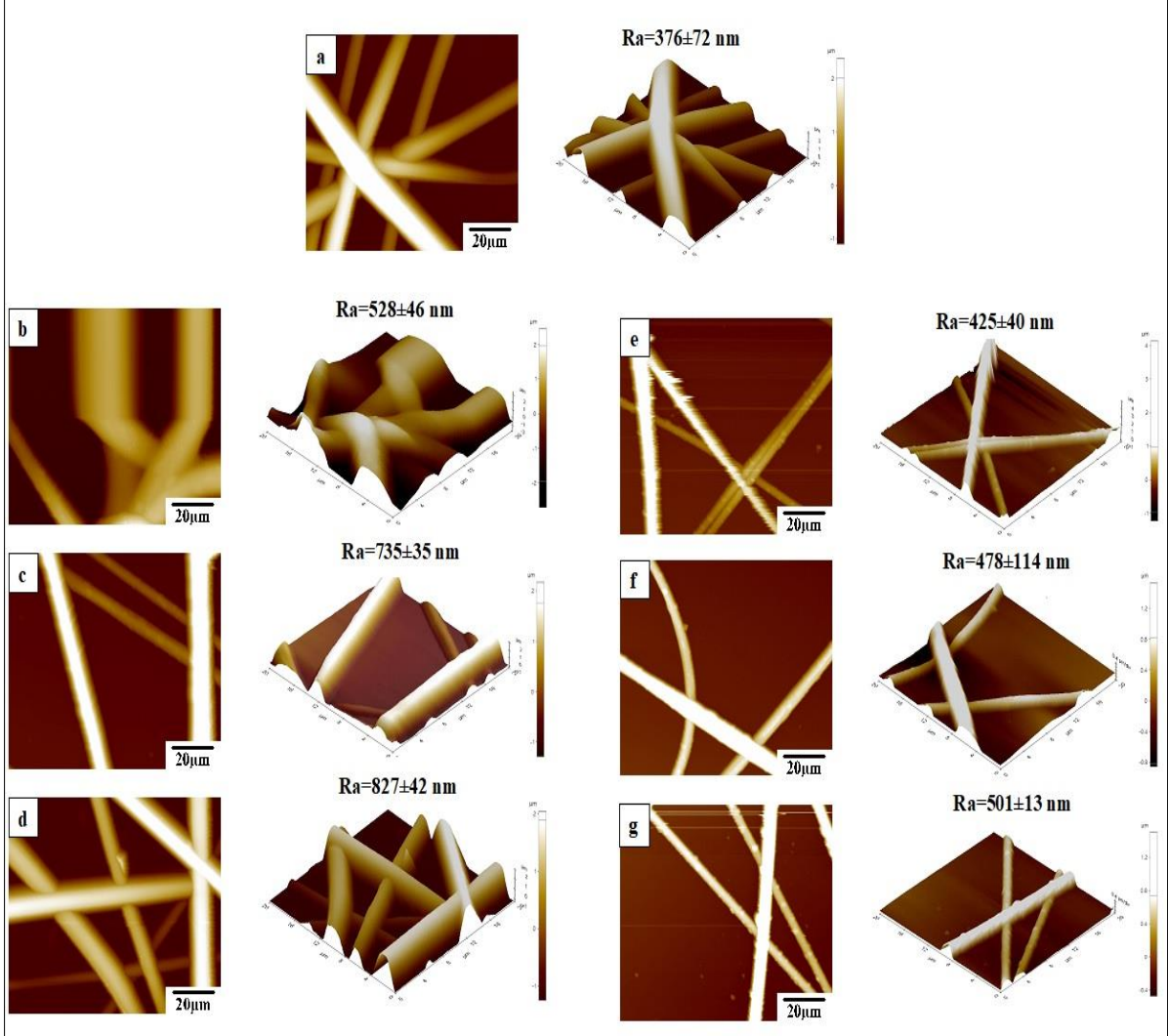
884 ± 150 nm olarak hesaplanmıştır. Benzer sonuçlar Meng ve diğerleri (Meng, Zheng, Li ve Zheng, 2010) tarafından da raporlanmıştır. PCL polimer matrisine kütlece % 0,1-%5 arasında ÇKNT eklenen çalışmada, düşük oranda ÇKNT eklenmesi (kütlece %0,1) saf PCL'den elde edilen fiberlere göre daha düşük fiber çapına sebep olurken; ÇKNT derişiminin artmasıyla birlikte fiber çapının da arttığı gözlenmiştir. Hem ÇKNT<sub>OH</sub> hem de ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskeleler için artan ÇKNT derişimiyle birlikte fiber çaplarının da arttığı görülmektedir. Bunun nedeni artan ÇKNT derişiminin yüklü fiber jetlerinin daha büyük gerilme kuvvetine dayanmasına izin vermesi olabilir (Meechaisue, Dubin, Supaphol, Hoven ve Kohn, 2006). Ayrıca, Ra ve diğerlerinin de (Ra, An, Kim, Jeong ve Lee, 2005) bildirdiği gibi ÇKNT derişiminin artmasıyla polimer matris yerine ÇKNT'ler üzerine elektrik kuvvetleri uygulanmış ve bunun sonucunda daha büyük çaplı fiberler elde edilmiş olabilir. İki fonksiyonel grup karşılaştırıldığında ÇKNT<sub>COOH</sub> türünün ÇKNT<sub>OH</sub>'ye göre fiber çapında daha fazla artmaya neden olduğu görülmektedir.



Resim 4.3. PLA/PVP ve ÇKNT içeren iskelelerin ortalama fiber çapı histogramları (a) PLA/PVP, (b) PLA/PVP-(0.25)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (c) PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (d) PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (e) PLA/PVP-(0.25)ÇKNT<sub>OH</sub>, (f) PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>OH</sub>, (g) PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>OH</sub>

Geliştirilen doku iskelelerinin yüzey topografyaları elektro-egirme işlemi sırasında lamel üzerinde toplanarak AFM ile incelenmiştir ve fiberlerin 2D ve 3D topografya görüntüleri yüzey pürüzlülük değerleriyle ( $R_a$ ) birlikte Resim 4.4'te verilmiştir. Resim 4.4 (a) saf

PLA/PVP fiberlerinin; Resim 4.4 (b-d)  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  içeren kompozit fiberlerinin; Resim 4.4 (e-g) ise  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  içeren kompozit fiberlerin AFM görüntüleridir.



Resim 4.4. PLA/PVP ve  $\text{ÇKNT}$  içeren iskelelerin yüzey topografyaları ve pürüzlülük değerleri (a) PLA/PVP, (b) PLA/PVP-(0.25) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ , (c) PLA/PVP-(0.5) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ , (d) PLA/PVP-(1) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ , (e) PLA/PVP-(0.25) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$ , (f) PLA/PVP-(0.5) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$ , (g) PLA/PVP-(1) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$

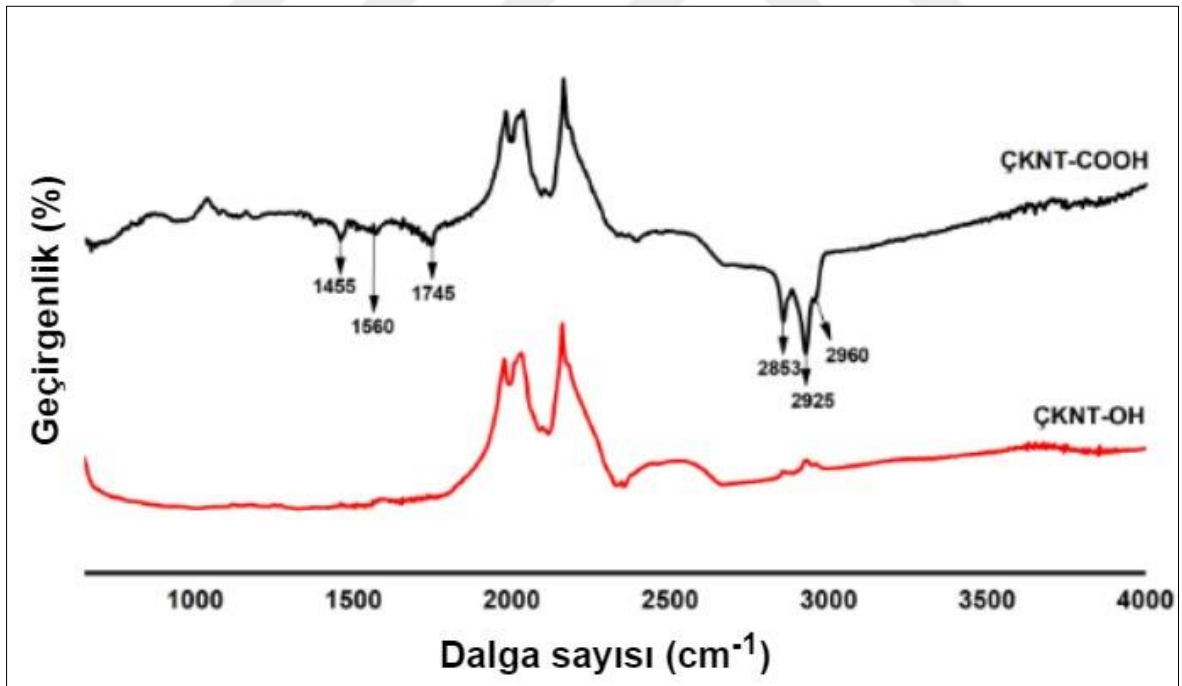
PLA/PVP fiberleriyle birlikte  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  ve  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  içeren kompozit fiberlerin AFM görüntüleri incelendiğinde, boncuksuz ve düzgün yapıda oldukları görülmektedir. Bu sonuç, SEM görüntülerini desteklemektedir. PLA/PVP polimer matrisine  $\text{ÇKNT}$  eklenmesinin yüzey pürüzlülüğüne etkisini değerlendirmek için AFM görüntüleri üzerinde XEI yazılımı ile her örneğin yirmi beş farklı noktası ayrı ayrı incelenmiş ve ortalama yüzey pürüzlülük değerleri (Ra) hesaplanmıştır. Resim 4.4'te gösterildiği gibi, saf PLA/PVP fiberlerin Ra değeri  $376 \pm 72$  nm'dir. PLA/PVP polimer matrisinde  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  ve  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  miktarı



kütlece %0'dan %1'e arttırıldığında Ra değeri  $376 \pm 72$  nm'den sırasıyla  $827 \pm 42$  ve  $501 \pm 13$  nm'ye yükselmiştir. Ayrıca, sonuçlar Ra değerlerinin hem  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  hem de  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  derişiminin artmasıyla lineer olarak arttığını göstermiştir.

#### 4.1.2. FTIR analizi

FTIR spektroskopisi, malzemelerdeki, özellikle kompozitlerdeki kimyasal bağları ve moleküler etkileşimleri araştırmak için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Polimer matrisi ile katkı malzemeleri arasında hidrojen bağı veya dipolar etkileşimi gibi farklı bir kimyasal etkileşim varsa, kompozitlerin FTIR spektrumlarında bant kayması ve genişlemesi gözlemlenir (Cai ve diğerleri, 2014). PLA/PVP matrisi ile  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  ve  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  arasındaki moleküler etkileşimleri incelemek için öncelikle her bir malzemenin (saf  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ , saf  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$ , saf PLA, saf PVP ve PLA/PVP) FTIR spektrumları ayrı ayrı incelenmiştir. Daha sonra PLA/PVP ve tüm kompozitlerin FTIR spektrumları analiz edilmiştir.  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  ve  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$ 'e ait FTIR spektrumları Şekil 4.5'te verilmiştir.

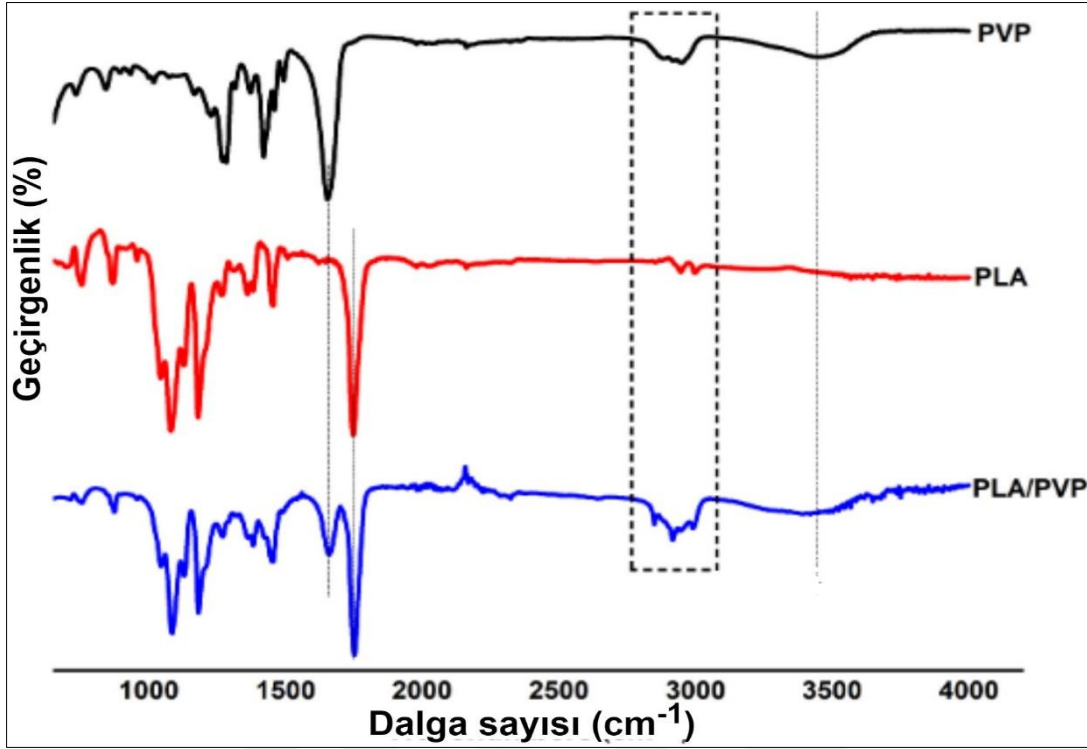


Resim 4.5. FTIR spektrumları:  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  ve  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$

Şekil 4.5'te gösterildiği gibi, saf  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ 'nin FTIR spektrumu için  $2960 \text{ cm}^{-1}$ 'de asimetrik metil gerilme bandı ve  $2925 \text{ cm}^{-1}$  ve  $2853 \text{ cm}^{-1}$ 'de asimetrik/simetrik metilen gerilme bantları gözlenmiştir. Genellikle bu grupların nanotüplerin yan duvar yüzeyindeki kusur bölgelerinde yer aldığı varsayılmaktadır (Scheibe, Borowiak-Palen ve Kalenczuk, 2010).

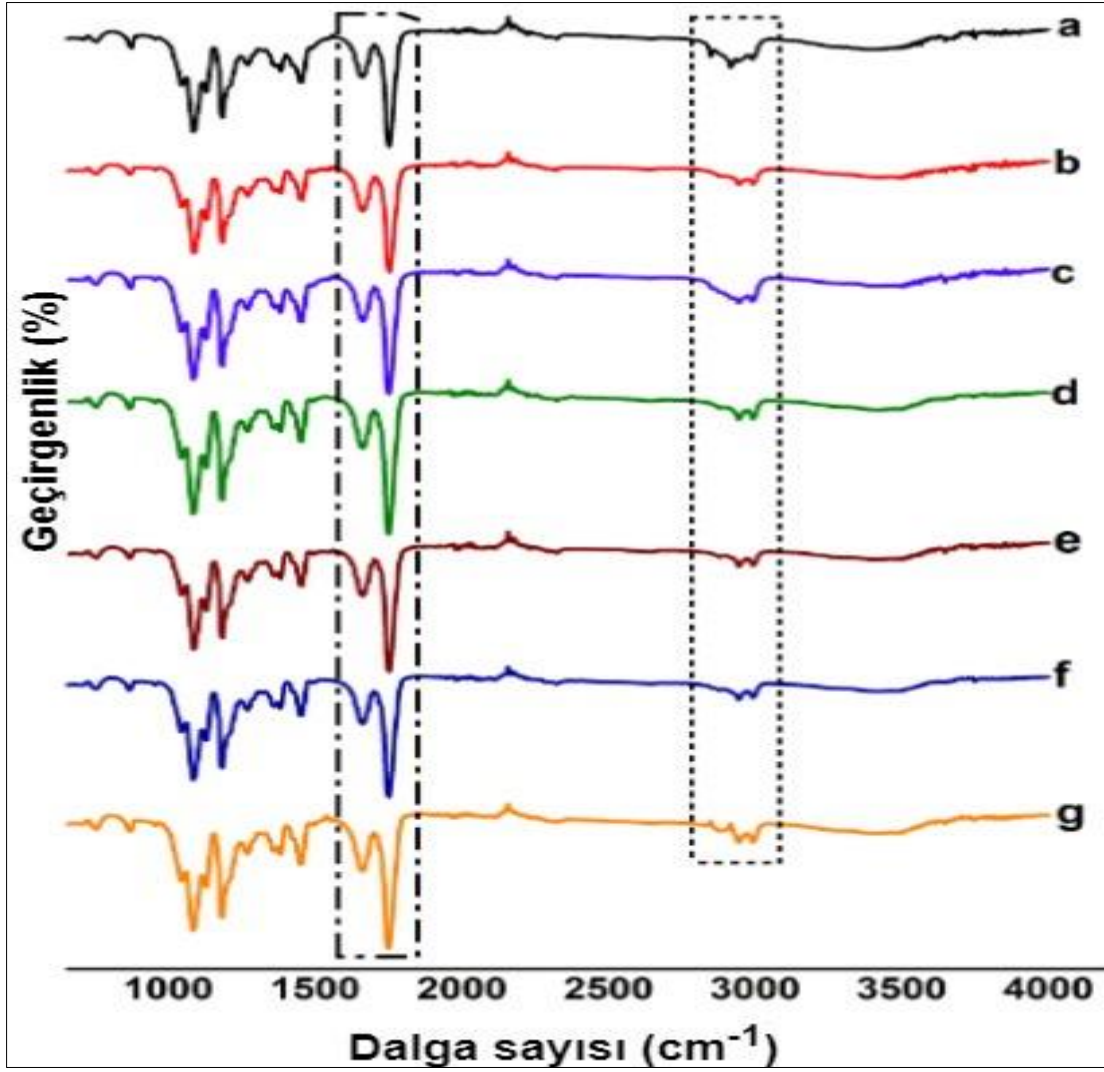
ÇKNT<sub>OH</sub> için, 2925 cm<sup>-1</sup> ve 2853 cm<sup>-1</sup>'deki spektrum bantları büyük ölçüde azalmıştır, bu da ÇKNT<sub>COOH</sub> yüzeyindeki alkil zincirlerinin ÇKNT<sub>OH</sub> nanotüplerin yüzeyinde olmadığını göstermektedir (Montanheiro ve diğerleri, 2014). ÇKNT<sub>COOH</sub> yüzeyindeki karboksil fonksiyonel gruplarının karakteristik bantları 1745 cm<sup>-1</sup>, 1560 cm<sup>-1</sup> ve 1455 cm<sup>-1</sup>'de gözlenmiştir. 1560 cm<sup>-1</sup>'deki pik, karboksilat anyon gerilmesi ile ilgilidir (Atieh ve diğerleri, 2010). Bu bantlar ÇKNT<sub>OH</sub> spektrumu üzerinde görülmemiştir.

Şekil 4.6 saf PLA, saf PVP ve PLA/PVP karışımının FTIR spektrumlarını göstermektedir. Saf PVP'nin FTIR spektrumunda, 3550-3200 cm<sup>-1</sup> arasındaki geniş bant, hidroksil grubunun O-H gerilmesini göstermektedir. PVP pirolidon halkasında heteroatomik moleküllerin ve karbonil gruplarının varlığı, C=O gerilmesi olarak 1656 cm<sup>-1</sup>'deki keskin pik ile görülmektedir ve 1291 cm<sup>-1</sup>'deki pik, amid grubunun C-N gerilmesi ile ilgilidir (Reksamunandar, Edikresnha, Munir, Damayanti ve Khairurrijal, 2017; Saroj, Singh ve Chandra, 2013). 1440 cm<sup>-1</sup>'deki pik ise CH<sub>2</sub> grubunun C-H deformasyonunu göstermektedir (Someswararao, Dubey, Subbarao ve Singh, 2018). 2800–3000 cm<sup>-1</sup> bölgesinde görülen pikler ise PVP'de bulunan metilen gruplarındaki asimetric/simetric C-H gerilme titreşimlerine aittir (Someswararao ve diğerleri, 2018). Saf PLA'nın FTIR spektrumu incelendiğinde ise karakteristik gerilme bantları 1753 cm<sup>-1</sup> (C=O), 2995 cm<sup>-1</sup> (-CH<sub>3</sub> asimetric), 2946 cm<sup>-1</sup> (-CH<sub>3</sub> simetric) ve 1083 cm<sup>-1</sup> (C-O)'de görülmektedir (Y. Liu, Liang, Wang, Qin ve Zhang, 2018; Ye, Zhang ve Yu, 2017). Bununla birlikte karakteristik eğilme bantları ise 1452 cm<sup>-1</sup> (-CH<sub>3</sub> asimetric) ve 1361 cm<sup>-1</sup>'de (-CH<sub>3</sub> simetric) gözlenmiştir (Torres-Huerta, Palma-Ramírez, Domínguez-Crespo, Del Angel-López ve De La Fuente, 2014). PLA/PVP karışımının FTIR spektrumunda PLA ve PVP polimerlerinin karakteristik pikleri açıkça görülmektedir. Benzer olarak Yongtang ve diğerleri (Jia, Huang, Dong, Liu ve Nie, 2016) PCL ve PVP ile hazırladıkları nanofiber kompozitlerde her bileşenin karakteristik piklerini gösterdiğini ve pik noktalarının pozisyonlarında hemen hemen hiçbir değişiklik olmadığını belirtmiştir.



Resim 4.6. FT-IR spektrumları: PLA, PVP ve PLA/PVP

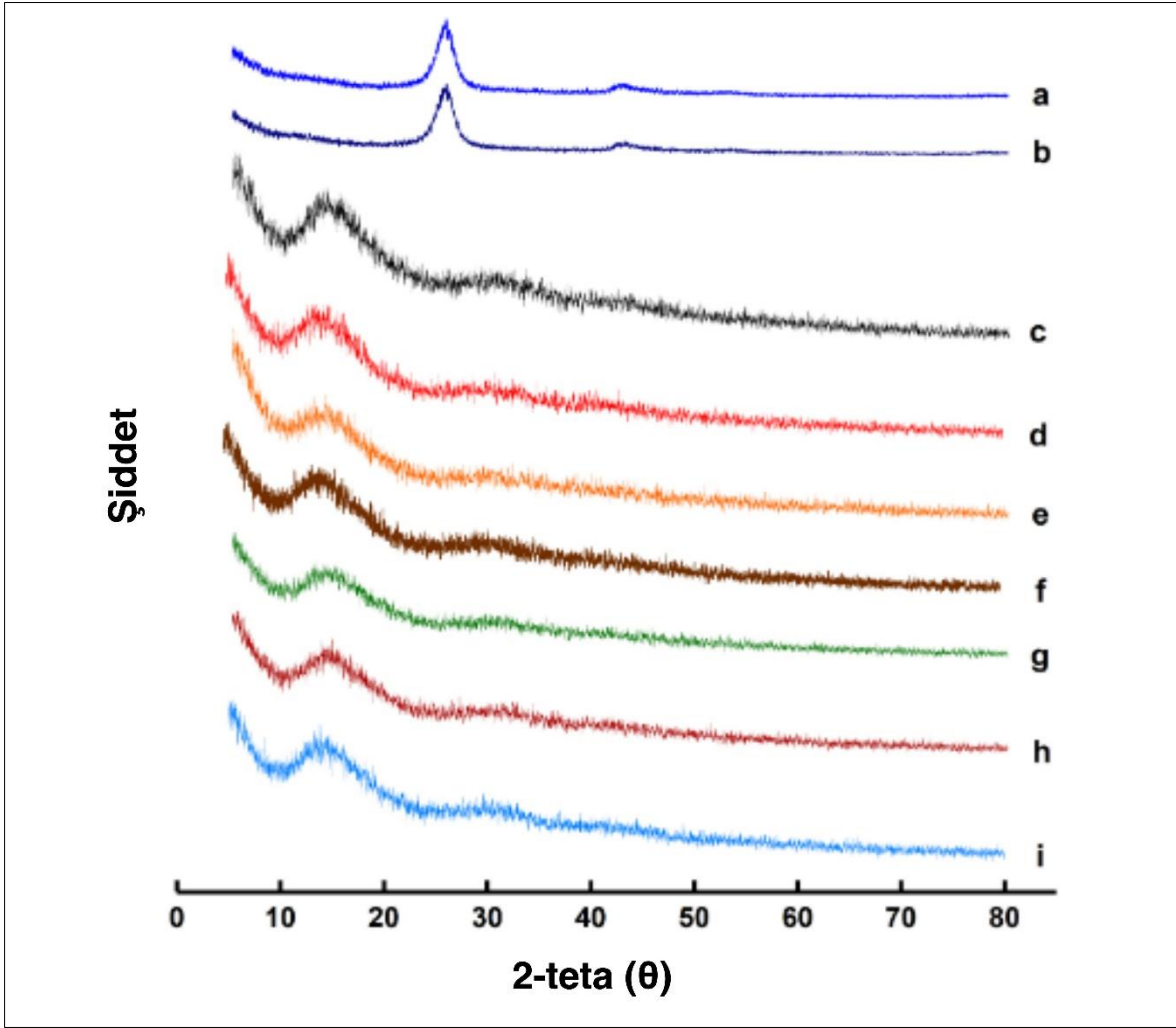
PLA/PVP fiberleri, PLA/PVP-ÇKNT<sub>COOH</sub> ve PLA/PVP-ÇKNT<sub>OH</sub> kompozit fiberlerinin FTIR spektrumları Şekil 4.7'de sunulmuştur. Görüldüğü gibi, PLA/PVP ile ilgili bölgeler tüm spektrumlarda net bir şekilde gözlenmiştir. Başka bir deyişle, ÇKNT<sub>COOH</sub> veya ÇKNT<sub>OH</sub> eklenmesi ile ÇKNT'ler ile PLA/PVP arasında kimyasal yapı bakımından önemli bir fark yoktur ve çözelti hazırlama ve elektro-eğirme işlemleri sırasında herhangi bir kimyasal reaksiyon oluşmadığını göstermektedir. PLA/PVP fiberleri ile kompozit fiberler karşılaştırıldığında, hemen hemen tüm piklerin yoğunluklarında bir artış gösterdiği açıkça görülmektedir. PLA/PVP-ÇKNT zirvelerinde gözlenen yoğunluk ve genişlemedeki artış muhtemelen birbirine yakın piklerin üst üste gelmesi ile ilişkilidir (Liqin Chen ve diğerleri, 2009).



Resim 4.7. FT-IR spektrumları: (a) PLA/PVP, (b) PLA/PVP-(0.25)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (c) PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (d) PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (e) PLA/PVP- (0.25) ÇKNT<sub>OH</sub>, (f) PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>OH</sub>, (g) PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>OH</sub>

#### 4.1.3. XRD analizi

Geliştirilen iskelelerin kristalin-amorf yapısı ve ÇKNT ile polimer matrisin uyumluluğu, XRD analizi ile araştırılmıştır. Saf ÇKNT<sub>OH</sub>, saf ÇKNT<sub>COOH</sub>, PLA/PVP ve kompozit iskelelerin XRD kırınım desenleri Şekil 4.8' de verilmiştir.



Resim 4.8. XRD kırınım desenleri: (a) Saf  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ , (b) Saf  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$ , (c) PLA/PVP, (d) PLA/PVP-(0.25) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ , (e) PLA/PVP-(0.5) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ , (f) PLA/PVP-(1) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ , (g) PLA/PVP-(0.25) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$ , (h) PLA/PVP-(0.5) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$ , (i) PLA/PVP-(1) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$

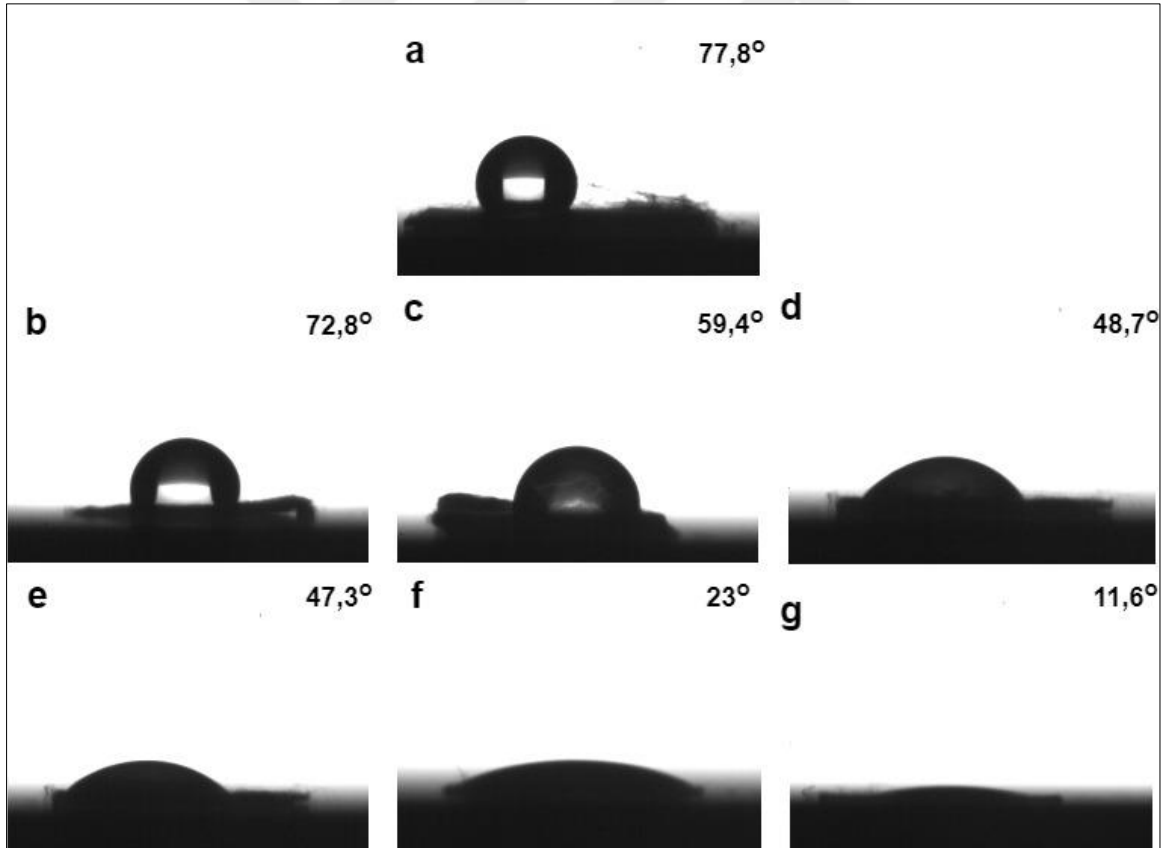
Amorf bir yapısı olan PLA polimerine ait karakteristik kırınım piki geniş bir açı aralığında yaklaşık  $2\theta = 17^\circ$  de görülmektedir (Haroosh, Chaudhary ve Dong, 2011). XRD spektrumları, önceki literatüre uygun olarak saf  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  ve saf  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  tozları için  $25,60^\circ$  ve  $42,7^\circ$  de iki pik göstermiştir (Vinod Gupta and Tawfik A. Saleh, 2011).  $\text{ÇKNT}$ 'lerin karakteristik pikleri, PLA/PVP matrisindeki düşük derişimleri nedeniyle baskılanmıştır.

Amorf ve kristalin iskeleler karşılaştırıldığında, amorf yapı, hücresel süreçlerde daha çok hücre yapışması ve çoğalmasına izin vermektedir (Perumal ve diğerleri, 2017). Bu nedenle, amorf biyomalzemeler biyomedikal uygulamalar için daha caziptir (Atala, Lanza, Thomson

ve Nerem, 2008; Perumal ve diğeri, 2017). Sonuç olarak, geliştirilen iskelelerin yapısal özellikleri uygundur.

#### 4.1.4. Yüzey temas açısı analizi

Bir malzemenin hidrofilik/hidrofobik özelliklerinin karakterizasyonu, potansiyel uygulamalarının belirlenmesi için esastır. Biyomedikal uygulamalarda, örneğin doku mühendisliğinde ilk hücre yapışmasını etkileyebileceği için iyi ıslanabilirlik/hidrofiliğe sahip bir malzemenin kullanımı beklenir (Rodrigues ve diğeri, 2016; J. Wang, Chen, Ramakrishna, Tian ve Mo, 2017). Geliştirilen doku iskelelerinin ıslanabilirlik özelliklerini (hidrofiliklik-hidrofobiklik) analiz etmeyi sağlayan temas açısı değerleri Şekil 4.3' te verilmiştir. Temas açısı değeri  $0^\circ$ 'ye yaklaştıkça yüzeyin ıslanabilirliği, başka bir deyişle hidrofiliği artmaktadır (Oliveira, Mattoso, Orts ve Medeiros, 2013).



Resim 4.9. Doku iskelelerinin temas açısı değerleri (a) PLA/PVP, (b) PLA/PVP-(0.25)ÇKNT<sub>OH</sub>, (c) PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>OH</sub>, (d) PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>OH</sub>, (e) PLA/PVP-(0.25)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (f) PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (g) PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>COOH</sub>

PLA/PVP iskelesinin temas açısı değeri  $77,8^\circ$ 'dir.  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  içeren kompozit iskelelerin temas açısı değerleri incelendiğinde; PLA/PVP-(0,25) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$   $72,8^\circ$ , PLA/PVP-(0,5) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$   $59,4^\circ$ , PLA/PVP-(1) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$   $48,7^\circ$ 'dir.  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  içeren kompozit iskelelerininkisi ise; PLA/PVP-(0,25) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$   $47,3^\circ$ , PLA/PVP-(0,5) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$   $23^\circ$ , PLA/PVP-(1) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  iskelesinininkisi ise  $11,6^\circ$  olarak bulunmuştur.

Literatürde de bildirildiği gibi poliestерler ve polieterler (PCL;  $118^\circ$ , PLA;  $110^\circ$  ve PLGA;  $116^\circ$ ) düşük ıslanabilirlik özelliğine sahiptir ve yüksek temas açısı değerleri gösterir (Basu ve diğerleri, 2017). Bununla birlikte, PVP hidrofilik yapıdadır ve özellikle biyomedikal uygulamalarda malzemelerin yüzey ıslanabilirliğini arttırmak için hidrofobik yapı polimerlerle birlikte kullanılmaktadır (Archana, Singh, Dutta ve Dutta, 2013; Teodorescu ve Bercea, 2015; Tsekova, Spasova, Manolova, Markova ve Rashkov, 2017). Biyomedikal malzemelerin ıslanabilirlik özellikleri hem su, kan gibi vücut sıvılarının malzemelerce absorplanmasını arttırmak hem de hücrelerin yüzeye tutunmasını ve yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmeleri için önemlidir. Dolayısıyla çalışmanın temel polimer matrisini hidrofobik/hidrofilik polimer karışımı olan PLA/PVP oluşturmaktadır. PLA/PVP'nin temas açısı değeri  $77,8^\circ$ 'dir ve ortalama düzeyde bir ıslanabilirlik özelliğine sahiptir. FTIR analiziyle de gösterildiği gibi PVP'nin varlığı polar hidroksil gruplara ve dolayısıyla literatürde bildirilen saf PLA temas açısı değerlerine kıyasla daha hidrofilik özelliktedir.

PLA/PVP ile  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  içeren doku iskelelerinin temas açısı değerleri karşılaştırıldığında,  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  varlığında iskelenin hidrofilitesi  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  derişiminin artmasıyla paralel olarak artmaktadır ve maksimum  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  (%1 w/w) ilavesinde  $77,8^\circ$ 'den  $48,7^\circ$ 'ye düştüğü görülmektedir. Bununla birlikte,  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  eklenen iskelelerin de hidrofilitesinin  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  derişimiyle paralel arttığı ve %1 (w/w) oranında eklendiğinde  $77,8^\circ$ 'den  $11,6^\circ$ 'ya düşerek  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$ 'ye göre ıslanabilirlik özelliklerini daha fazla arttırdığı bulunmuştur. Her iki  $\text{ÇKNT}$  türü miktarının artmasıyla birlikte hidrofilite doğru orantılı olarak artmıştır. Ayrıca,  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  içeren doku iskelelerinin çalışma kapsamında üretilen iskeleler arasında en hidrofilik özelliktekiler olduğu görülmektedir. Bu durum Flores-Cedillo ve diğ. (Flores-Cedillo ve diğerleri, 2016) tarafından da açıklandığı gibi kompozitten çıkıntı yapan  $\text{ÇKNT}$  yüzeyinde hidroksil ve karboksilik grupları gibi oksijen içeren türlerin varlığıyla veya yüzey pürüzlülüğündeki değişikliklerle açıklanabilir.

#### 4.1.5. Hidrolitik bozunma davranışı

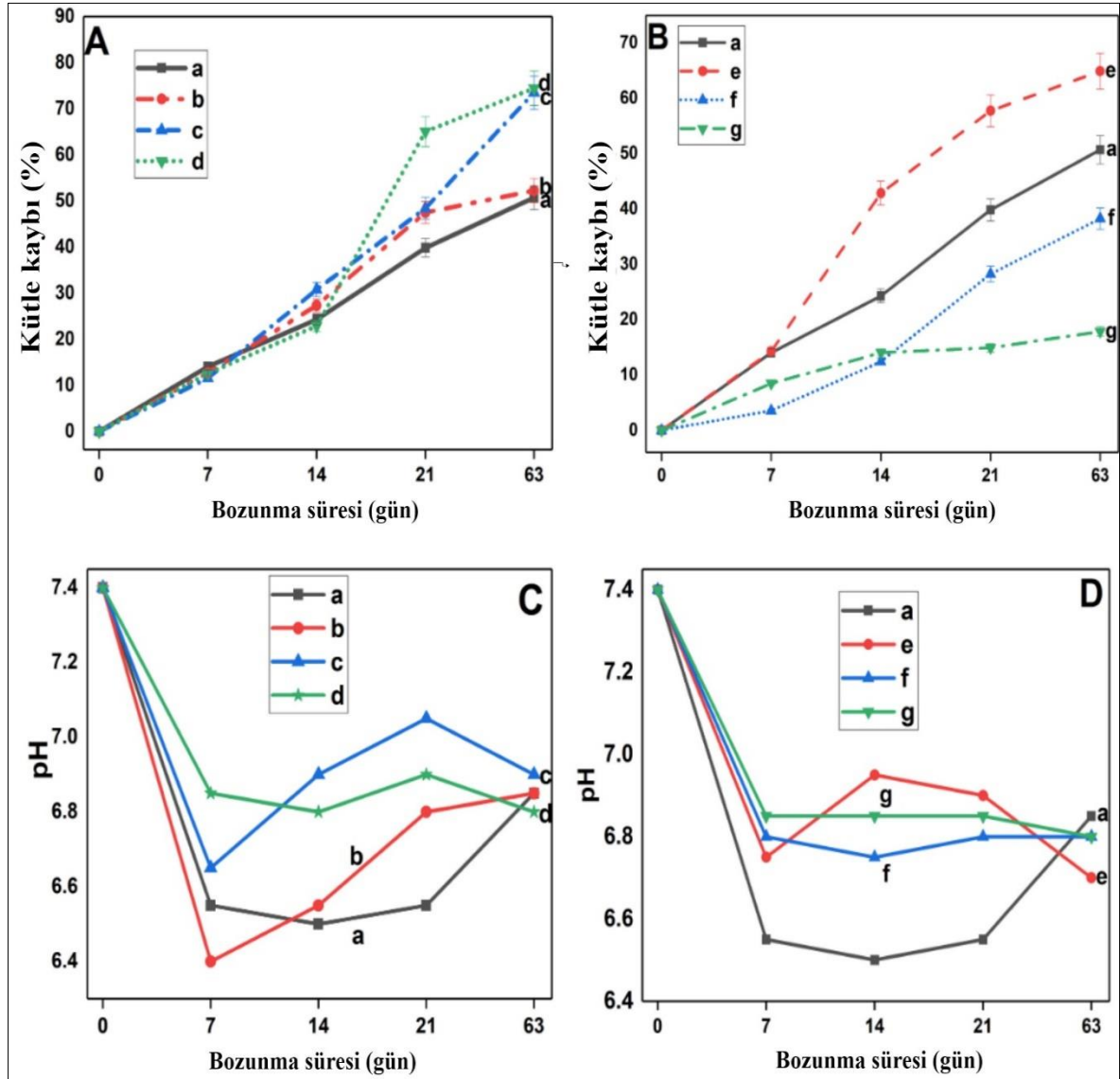
##### Hidrolitik bozunma

Doku mühendisliğinde, iskelelerin bozunma oranının dokunun yenilenmesi ve onarımı sürecinde kontrol edilebilir olması beklenir ve bozunma süreci polimer kompozitlerin kompozisyonunun değiştirilmesiyle kontrol edilebilmektedir (Revati ve diğerleri, 2017). Bozunma hızı, hasarlı bölgenin geri kazanılmasını etkileyen kritik bir faktördür (Augustine ve diğerleri, 2014; Lam ve diğerleri, 2008). Bu nedenle, ÇKNT katkısının doku iskelelerinin *in vitro* bozunma davranışı üzerindeki etkisi pH 7,4'te, 37 °C'de, 50 rpm çalkalama hızındaki PBS çözeltisi içerisinde değerlendirilmiştir. Resim 4.10 (A ve B)'de, PLA/PVP ve farklı oranlarda ÇKNT<sub>COOH</sub> veya ÇKNT<sub>OH</sub> içeren kompozit doku iskelelerinin *in vitro* bozunma sürecindeki kütle kaybı verilmiştir. Resim 4.10 (A) ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren kompozitlerin bozunmasını göstermektedir. 63 gün bozunma süresinden sonra saf PLA/PVP, PLA/PVP-(0.25)ÇKNT<sub>COOH</sub>, PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>COOH</sub>, PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>COOH</sub> kütle kayıpları, sırasıyla %50,6, %52,2, %73,4 ve %74,4'tür. Bununla birlikte, Resim 4.10 (B)'de gösterilen ÇKNT<sub>OH</sub> katkılı iskelelerin kütle kayıpları ise PLA/PVP-(0.25)ÇKNT<sub>OH</sub>, PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>OH</sub>, PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>OH</sub> iskeleleri için kütle kaybı oranları sırasıyla %64,8, %38,2, %17,8'dir. ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelelerin kütle kaybı artan derişimle birlikte artarken ÇKNT<sub>OH</sub> içeren iskeleler zıt özellik göstermektedir. Bu durum ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelelerin yüksek hidrofilitesiyle açıklanabilir. Diğer örneklere göre daha fazla suyun matrise girmesi bozunma sürecini hızlandırmış olmalıdır. Benzer olarak, Luo ve diğerleri de hidrofilik titanyum nanoparçacıkları ekledikleri PLA filmlerin hidrolitik bozunmasının hidrofilitenin artmasıyla matrise absorplanan suyun polimer-parçacık arayüzeyinde bozunmayı hızlandırdığı ve derişim arttıkça bozunmanın da arttığını belirtmişlerdir.

Literatürde tampon çözeltilerinde polimer bozunması ile ilişkili kütle kaybının üç aşamada gerçekleştiği bildirilmiştir (Llop ve diğerleri, 2015; Zhu ve diğerleri, 2017). İlk aşamada moleküler ağırlıkta hızlı bir düşüş ile düşük kütle kaybı olduğu bildirilmektedir. İkinci aşamada, yüksek kütle kaybı, moleküler ağırlık kaybının yavaşlaması ve monomerlerin oluşumu ile birlikte başlar. Son aşamada ise kütle kaybı tamamlanır. Alifatik poliesterlerin bozunması, hidrolitik reaksiyona dayanır. Dolayısıyla bozunma sürecinin ilk adımı su alımı, ardından ana zincirdeki ester bağlarının kırılmasına neden olan hidrolizdir (Choi, Choi, Han, Park ve Ha, 2013). Su molekülleri polimer zincirlerindeki ester bağlarını kırıdığında, polimer



zincirlerinin ortalama uzunluğu daha küçük hale gelir. PLA/PVP iskelelerinde görülen kütle kaybında ester bağlarının kırılmasının yanında PVP'nin su içerisinde çözünmesi de etkili olmuştur (Peng ve diğerleri, 2013). Özetle, PLAPVP-ÇKNT kompozit iskelelerinin hidrolitik bozunma hızı, ÇKNT'nin yüzey özelliklerinden ve derişiminden etkilenmiştir.



Resim 4.10. Doku iskelelerinin hidrolitik bozunma süresince kütle kaybı (A ve B) ve pH değişimi (C ve D); (a) PLA/PVP, (b) PLA/PVP-(0.25)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (c) PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (d) PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (e) PLA/PVP-(0.25)ÇKNT<sub>OH</sub>, (f) PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>OH</sub>, (g) PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>OH</sub>

#### pH değişimi

Bozunma ortamındaki pH değişimi, Şekil 4.10 (C ve D)'de gösterilmektedir. PLA/PVP iskelesinin pH'ı, ilk iki haftada azalmıştır ve sonraki bozunma sürecinde tekrar yükselme

eğilimi göstermiştir. Kompozit iskelelerin pH'ları ilk haftada düşmüştür ve bozunma ilerledikçe dalgalanmıştır. 63 günlük bozunma sürecinin sonunda, kütlece % 0, %0,25, %0,5 ve %1,0 ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelelerin bulunduğu ortamın pH değerleri sırasıyla 6,8, 6,8, 6,9 ve 6,8 iken kütlece %0,25, %0,5 ve %1,0 ÇKNT<sub>OH</sub> içeren iskelelerin bulunduğu ortamın pH değerleri sırasıyla 6,7, 6,8 ve 6,8'dir. Ancak ilk üç hafta periyodunda ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelelerin bulunduğu ortamın pH değişimlerinin ÇKNT<sub>OH</sub> içerenlere göre daha fazla olduğu görülmektedir. Ayrıca, ÇKNT<sub>OH</sub> içeren iskelelerin pH değişimlerinin nispeten daha istikrarlıdır. Bu sonuç kütle kaybı sonuçları birbirini desteklemektedir. Çünkü ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren örneklerin daha fazla kütle kaybına uğraması ortamda daha fazla bozunma ürünü olmasına ve dolayısıyla pH değişimine neden olmuştur. PLA'nın bozunmasından kaynaklanan asidik grupların, bozunma ortamının pH değerini düşürebileceğini belirten çalışmalar da bu çıkarımı desteklemektedir (Revati ve diğerleri, 2017; Sin ve diğerleri, 2013).

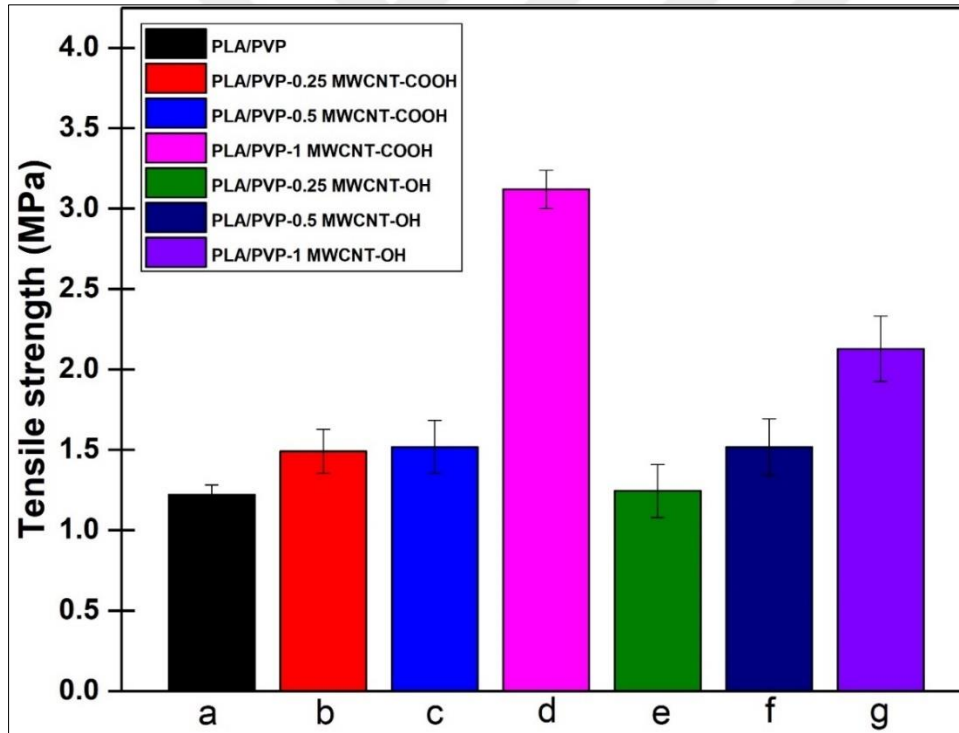
Literatürle uyumlu olarak aşağıdaki iki gözlem, bozulma süreciyle birlikte kabul edilebilir. İlk olarak, bozunma, ester hidrolizini oto-katalize ettiği bilinen karboksilik asit zinciri uçlarının sayısını artırma eğiliminde olmasıdır (Vert, Mauduit ve Li, 1994). İkincisi, iskeleyi çevreleyen sulu ortamda çözünür oligomerlerin matristen ayrılmasıdır (Elsawy, Kim, Park ve Deep, 2017). Başka bir deyişle, bozunmanın tamamlanmasından önce, yüzeye daha yakın olan çözünür oligomerler ayrılabilir. İkinci durumun sonucunda bozunma yan ürünü laktik aside dönüşmeye başlayacaktır, dolayısıyla pH'ın azalmasına neden olmuş olabilir (H. Liu, Slamovich ve Webster, 2006). İlk iki haftalık inkübasyondan sonra pH değerinin yeniden artması, numune hacminin önemli ölçüde azalmasından olabilir (Vert ve diğerleri, 1994).

#### 4.1.6. Mekanik dayanım analizi

ÇKNT'nin geliştirilen iskelelerin mekanik özelliklerine olan etkisi çekme dayanımı testi ile belirlenmiştir ve sonuçlar Resim 4.13.'de verilmiştir. Saf PLA/PVP için çekme dayanımı 1,2 MPa'dır. Her iki ÇKNT türü için (ÇKNT<sub>COOH</sub> ve ÇKNT<sub>OH</sub>) derişimin artmasıyla birlikte, kompozitlerin gerilme direnci kademeli olarak artmıştır. %0,25, %0,5, %1,0 ÇKNT<sub>COOH</sub> eklenmesi ile saf PLA/PVP için 1,2 MPa olan çekme dayanımı sırasıyla; 1,4 MPa, 1,5 MPa, 3,1 MPa olarak bulunmuştur. Diğer yandan, %0,25, %0,5, %1,0 ÇKNT<sub>OH</sub> içeren kompozit iskelelerin çekme dayanımları sırasıyla; 1,2 MPa, 1,5 MPa ve 2,2 MPa'dır. Elde edilen veriler, ÇKNT'lerin artan derişimlerde (kütlece %0,25-1,0) genellikle artan gerilme

dayanımı sağladığını raporlayan benzer çalışmalarla uyumludur (Flores-Cedillo ve diğerleri, 2016; Lee, Shin, Jin ve Kim, 2011).

Literatürdeki bilgiler KNT ile geliştirilen kompozitlerin gerilme kuvvetinin, inorganik fazın matris reçinesinde bir dereceye kadar düzgün bir şekilde dağıtılmasının yanı sıra ara yüzey morfolojisi ve bağlanma durumuna da bağlı olduğunu göstermektedir (Coleman, Khan, Blau ve Gun'ko, 2006; Luo, Wang, Zuo, Ji ve Liu, 2018). Bu nedenle, kompozit iskelelerin gerilme dayanımı, her iki tür KNT için de artmıştır. Ancak, maksimum derişimde (%1,0)  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$  katkısı ile %155 artan çekme dayanımı aynı oranda  $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$  ilavesi ile %73,7 artmıştır. Bu sonuç, özellikle mekanik dayanımın önemli olduğu kemik doku mühendisliği gibi uygulamalarda  $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ 'nin iskelelerin hücrel süreçler sırasında mekanik bütünlüğünü koruması için daha ideal olduğunu göstermektedir.



Resim 4.11. Doku iskelelerinin çekme dayanımları; (a) PLA/PVP, (b) PLA/PVP (0.25) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ , (c) PLA/PVP-(0.5) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ , (d) PLA/PVP-(1) $\text{ÇKNT}_{\text{COOH}}$ , (e) PLA/PVP-(0.25) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$ , (f) PLA/PVP-(0.5) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$ , (g) PLA/PVP-(1) $\text{ÇKNT}_{\text{OH}}$ .

## 4.2. *In vitro* hücre kültürü çalışmaları

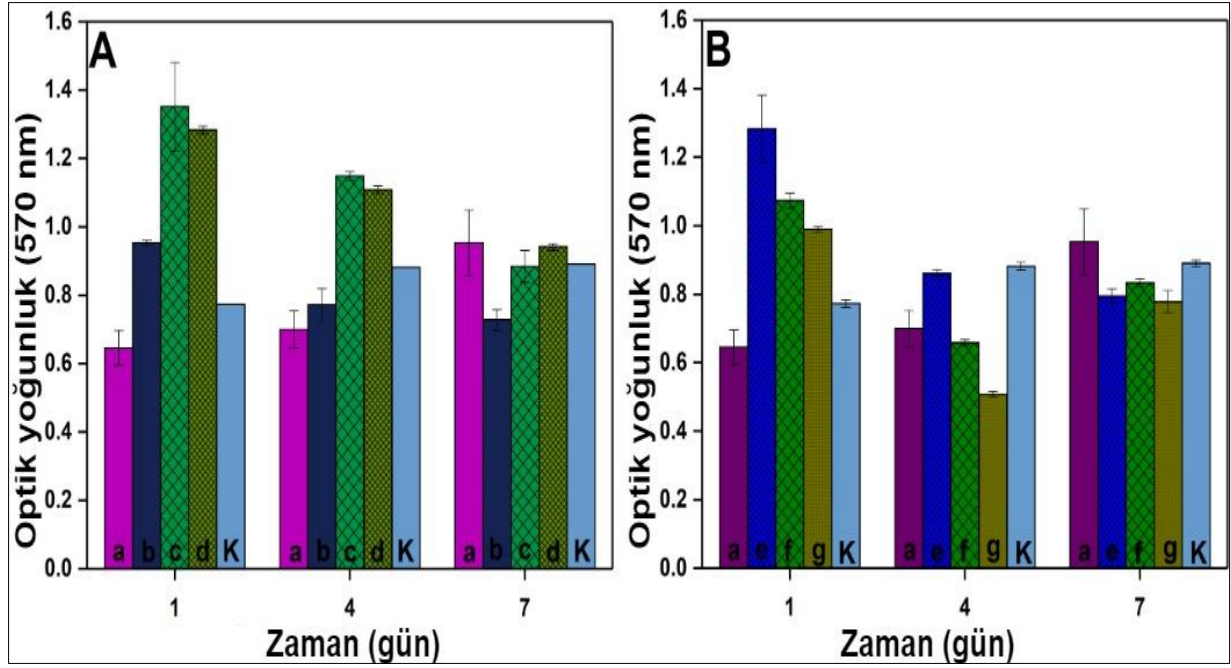
Literatürde yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar, ÇKNT'lerin doku iskelelerinde hücre yapışması, proliferasyonu gibi hücresel süreçler üzerinde olumlu etkinliklerinin olduğunu göstermektedir (Mikael ve diğerleri, 2014; Rodrigues ve diğerleri, 2016; Silva ve diğerleri, 2017; Valverde ve diğerleri, 2016). Kemik doku mühendisliğindeki çalışmaların temel fikri, kemiklerin inorganik kısmını oluşturan kalsiyum kristallerini saran organik yapıdaki kollojen proteinlerinin yerine KNT'lerin kullanılması ve kırılan ya da osteoporoz (kemik erimesi) gibi hastalıklarla hasar gören kemiklerin yenilenmesini sağlamaktır (Bhattacharya ve diğerleri, 2011; Yoon ve diğerleri, 2014). Dolayısıyla hücre kültürü çalışmaları MC3T3-E1 öncül kemik hücreleriyle yapılmıştır.

### 4.2.1. Hücre proliferasyonu

MC3T3-E1 hücreleriyle yapılan MTT analizinin sonuçları Resim 4.12. (A ve B)'de verilmiştir. ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelelerin sonuçları incelendiğinde (Bkz. Şekil 4.12. (A)), tüm iskelelerin 1. ve 4. günlerdeki optik yoğunluk değeri saf PLA/PVP'yle kıyaslandığında yaklaşık iki kat daha fazladır. 7. günde aradaki fark azalmakla birlikte anlamlı bir fark yoktur. 1. ve 4. günlerde %0,5 ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelenin en yüksek optik yoğunluk gösterdiği görülmektedir. Diğer yandan ÇKNT<sub>OH</sub> içeren iskelelerin PLA/PVP'ye göre yüksek optik yoğunluk göstermesine rağmen ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelelerden daha düşük metabolik aktivite sağladığı görülmektedir. Ek olarak, ÇKNT<sub>COOH</sub>'in aksine ÇKNT<sub>OH</sub> derişimi arttıkça optik yoğunluk değerleri de düşmektedir. Tüm iskeleler birlikte değerlendirildiğinde ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelelerin ideal özellikler taşıdığı görülmektedir.

Mikael ve diğerleri (2014) (Mikael ve diğerleri, 2014), kemik doku mühendisliği için PLGA-ÇKNT mikro küreler hazırlayarak saf ve farklı fonksiyonel gruplar içeren ÇKNT'lerin etkinliğini *in vitro* ve *in vivo* olarak değerlendirmiştir ve bu çalışma kapsamında elde edilen verilerin aksine (-OH) fonksiyonelleştirilmiş KNT'lerin daha iyi özellik gösterdiğini raporlamışlardır. Bu farklılığın nedeni muhtemelen iskele özellikleri için çok önemli olan biyomalzemelerin yapısı ve üretim sürecidir. Çünkü aynı bileşenlerden farklı üretim yöntemleriyle elde edilen malzemeler bile çoğu zaman benzer sonuçlar vermeyebilmektedir (Karageorgiou ve Kaplan, 2005; Liang ve diğerleri, 2018). Dahası, çalışma kapsamında elektro-eğirme tekniği ile geliştirilen fibröz iskelelerin avantajlarından birisi nano boyutta

fiberlerin elde edilmesi ve dolayısıyla daha yüksek yüzey alanı imkânı sunmasıdır (George, 2004). Mikro boyutta yapılan araştırmaların daha küçük ölçeklerde yapılması hücreyel süreçleri daha detaylı takip etmemizi sağlamaktadır (Yim ve diğeri, 2010). Sonuç olarak Mikael ve diğeri'nin yaptıkları çalışmanın mikro boyutta olması da çıkan zıt sonuçların sebebi olabilir (Bkz. Şekil. 2.17.).



Resim 4.12. Preosteoblastik MC3T3-E1 hücrelerinin kültürün 1, 4 ve 7. günlerindeki MTT sonuçları. Veriler, her numune için üç farklı deneyin ortalaması ve standart sapma değerleriyle ifade edilmiştir. (a) PLA/PVP, (b) PLA/PVP-(0.25)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (c) PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (d) PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>COOH</sub>, (e) PLA/PVP-(0.25)ÇKNT<sub>OH</sub>, (f) PLA/PVP-(0.5)ÇKNT<sub>OH</sub>, (g) PLA/PVP-(1)ÇKNT<sub>OH</sub>, (K) Boş plaka.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında kemik doku mühendisliğine yönelik, elektro-eğirme yöntemiyle hidroksil veya karboksil ile fonksiyonelleştirilmiş çok katmanlı karbon nanotüp içeren fibröz iskeleler geliştirilerek morfolojik, fizikokimyasal ve mekanik özellikleri incelenmiştir. Bununla birlikte, preosteoblastik MC3T3-E1 hücre hattıyla yapılan hücre kültürü çalışmaları ile proliferasyon ve alkalın fosfataz aktiviteleri belirlenmiştir.

(PLA/PVP-ÇKNT<sub>COOH</sub>) ve (PLA/PVP-ÇKNT<sub>OH</sub>) içeren kompozit doku iskelelerinin özellikleri aşağıda sıralanmıştır:

- SEM ve AFM analizleri sonucunda, üretilen %0,25, %0,5 ve %1,0 (w/w) derişimlerinde hem ÇKNT<sub>COOH</sub> hem de ÇKNT<sub>OH</sub> içeren doku iskeleleri düzgün ve boncuksuz şekilde üretilmiştir.
- FTIR sonuçlarında, PLA/PVP polimer karışımı ve ÇKNT'ler arasındaki moleküler etkileşimin düzgün olduğu, her bir bileşenin karakteristik özelliklerini koruduğu görülmüştür.
- XRD sonuçlarında, amorf yapıdaki PLA polimerinin baskın özellik göstermiştir ve ÇKNT'lere ait karakteristik bir yapı görülmemiştir.
- ÇKNT eklenmesi ile saf PLA/PVP iskelesine göre daha hidrofilik özellikte iskeleler elde edilmiştir. Hem ÇKNT<sub>COOH</sub> hem de ÇKNT<sub>OH</sub> içeren iskelelerde artmasıyla hidrofilisitenin de arttığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelelerin hidrofilisitesinin daha yüksek olduğu bulunmuştur.
- Hidrolitik bozunma analizi sonucunda, ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelelerde yüksek hidrofilisite nedeniyle en yüksek kütle kaybı görülmüştür. Bozunma sürecinde ortam pH'sı bozunma ürünlerinin ortama salınması nedeniyle başlangıçta düşmüş ve daha sonra tekrar yükselmiştir. ÇKNT<sub>OH</sub> içeren iskelelerin bozunma ortamında pH nispeten daha az değişmiştir.
- Mekanik dayanım sonuçlarında, hem ÇKNT<sub>COOH</sub> hem de ÇKNT<sub>OH</sub> eklenmesi mekanik özellikleri iyileştirmiştir ve derişimle birlikte lineer olarak artmıştır. En yüksek çekme dayanımı ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelelerde elde edilmiştir.
- *In vitro* hücre proliferasyonu çalışmalarında, 1, 4 ve 7 günlük MTT analizi sonucunda, MC3T3-E1 hücreleri üzerinde toksik bir etki göstermemekle birlikte saf PLA/PVP ve

ÇKNT<sub>OH</sub> içeren iskelelere göre daha yüksek hücre proliferasyonuna izin verdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Sonuç olarak, ÇKNT<sub>COOH</sub> içeren iskelelerin kemik doku mühendisliği uygulamaları için daha ideal olduğu bulunmuştur.

Gelecek çalışmalar aşağıda belirtilmiştir:

- Geliştirilen doku iskelelerinin *in vitro* hücre kültür çalışmalarının geliştirilerek,
  - hücre farklılaşmasının belirlenmesi,
  - kollajen ve kalsiyum miktarlarının tayini
  - kollajen tip I, osteokalsin ve osteopontin gibi gen ifadelerinin gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile incelenmesi önerilmektedir.
- Karbon nanotüplerin elektriksel iletkenlik özelliklerinin olduğu bilinmektedir. Bu özelliğin hücreler üzerinde indükleyici etkinliğinin değerlendirilmesi önerilmektedir.
- KNT ile birlikte antioksidan ve/veya terapötik etkinliği olan ilaç etken madde yüklemesi yapılarak sinerjistik özellikte bir iskele üretimi önerilmektedir.



## KAYNAKLAR

- Abarrategi, A., Gutiérrez, M. C., Moreno-Vicente, C., Hortigüela, M. J., Ramos, V., López-Lacomba, J. L., del Monte, F. (2008). Multiwall carbon nanotube scaffolds for tissue engineering purposes. *Biomaterials*, 29(1), 94–102.
- Akter, F. ve Ibanez, J. (2016). Bone and Cartilage Tissue Engineering. *Tissue Engineering Made Easy*, (First edition). Cambridge: Elsevier, 3,16.
- Amini, A. R., Laurencin, C. T., & Nukavarapu, S. P. (2012). Bone tissue engineering: recent advances and challenges. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 40(5), 363–408.
- Antoniac, I. V. (2016). *Handbook of bioceramics and biocomposites*. (First edition). Germany: Springer, 35,58.
- Archana, D., Singh, B. K., Dutta, J. ve Dutta, P. K. (2013). In vivo evaluation of chitosan-PVP-titanium dioxide nanocomposite as wound dressing material. *Carbohydrate Polymers*, 95(1): 530–539.
- Atala, A., Lanza, R., Thomson, J. A. ve Nerem, R. M. (2008). *Principles of Regenerative Medicine. Principles of Regenerative Medicine*. (First edition). Germany: Springer, 35,58.
- Atieh, M. A., Bakather, O. Y., Al-Tawbini, B., Bukhari, A. A., Abuilaiwi, F. A. ve Fettouhi, M. B. (2010). Effect of carboxylic functional group functionalized on carbon nanotubes surface on the removal of lead from water. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2010:603978.
- Augustine, R., Kalarikkal, N., & Thomas, S. (2016). Effect of zinc oxide nanoparticles on the in vitro degradation of electrospun polycaprolactone membranes in simulated body fluid. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 65(1), 28-37.
- Auras, R., Lim, L. T., Selke, S. E. M. ve Tsuji, H. (2010). *Poly(Lactic Acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications*, (Second edition). New Jersey: John Wiley & Sons, 120,136.
- Basu, P., Repanas, A., Chatterjee, A., Glasmacher, B., Narendra Kumar, U. ve Manjubala, I. (2017). PEO–CMC blend nanofibers fabrication by electrospinning for soft tissue engineering applications. *Materials Letters*, 195, 10–13.
- Bhattacharya, M., Wutticharoenmongkol-Thitiwongsawet, P., Hamamoto, D. T., Lee, D., Cui, T., Prasad, H. S. ve Ahmad, M. (2011). Bone formation on carbon nanotube composite. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 96 A(1), 75–82.
- Bilezikian, J. P., Bouillon, R., Clemens, T., Compston, J., Bauer, D. C., Ebeling, P. R., Zaidi, M. (2018). *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, (First edition). New Jersey: John Wiley & Sons, 25,46.

- Boccaccini, A. R., Chicatun, F., Cho, J., Bretcanu, O., Roether, J. A., Novak, S., & Chen, Q. Z. (2007). Carbon nanotube coatings on bioglass-based tissue engineering scaffolds. *Advanced Functional Materials*, 17(15), 2815-2822.
- Bonucci, E. (2010). Basic Composition and Structure of Bone. *Mechanical Testing of Bone and the Bone-Implant Interface*, (First edition). Florida: CRC Press, 9,17.
- Borjigin, M., Eskridge, C., Niamat, R., Strouse, B., Bialk, P., & Kmiec, E. B. (2013). Electrospun fiber membranes enable proliferation of genetically modified cells. *International Journal of Nanomedicine*, (8), 855.
- Bose, S., Roy, M., & Bandyopadhyay, A. (2012). Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Trends in Biotechnology*, 30(10), 546-554.
- Bosworth, L. A. ve Downes, S. (2011). *Electrospinning for Tissue Regeneration*. *Electrospinning for Tissue Regeneration*. (First edition). Cambridge: Woodhead Publishing, 115,116.
- Brougham, C. M., Levingstone, T. J., Shen, N., Cooney, G. M., Jockenhoevel, S., Flanagan, T. C. ve O'Brien, F. J. (2017). Freeze-Drying as a Novel Biofabrication Method for Achieving a Controlled Microarchitecture within Large, Complex Natural Biomaterial Scaffolds. *Advanced Healthcare Materials*, 6(21), 1700598.
- Burr, D. B. ve Akkus, O. (2013). Bone Morphology and Organization. *Basic and Applied Bone Biology*. (First edition). Cambridge: Academic Press, 15,17.
- Cai, N., Dai, Q., Wang, Z., Luo, X., Xue, Y. ve Yu, F. (2014). Preparation and properties of nanodiamond/poly(lactic acid) composite nanofiber scaffolds. *Fibers and Polymers*, 15(12), 2544-2552.
- Cardon, L. K., Ragaert, K. J. ve Koster, R. P. (2009). Design and fabrication of biocomposites. *Biomedical Composites*. (First edition). Cambridge: Woodhead Publishing, 15,46.
- Cellot, G., Cilia, E., Cipollone, S., Rancic, V., Sucapane, A., Giordani, S., Ballerini, L. (2009). Carbon nanotubes might improve neuronal performance by favouring electrical shortcuts. *Nature Nanotechnology*, 4(2), 126.
- Chen, Li, Hu, J., Shen, X. ve Tong, H. (2013). Synthesis and characterization of chitosan-multiwalled carbon nanotubes/hydroxyapatite nanocomposites for bone tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 24(8), 1843–1851.
- Chen, Liqin, Wu, J., Yuwen, L., Shu, T., Xu, M., Zhang, M. ve Yi, T. (2009). Inclusion of tetracycline hydrochloride within supramolecular gels and its controlled release to bovine serum albumin. *Langmuir*, 25(15), 8434-8438.
- Chen, Q. ve Thouas, G. A. (2015). Metallic implant biomaterials. *Materials Science and Engineering R: Reports*, 87, 1-57.
- Cheng, Q., Rutledge, K. ve Jabbarzadeh, E. (2013a). Carbon nanotube-poly(lactide-co-glycolide) composite scaffolds for bone tissue engineering applications. *Annals of Biomedical Engineering*, 41(5), 904–916.

- Cheng, Q., Rutledge, K. ve Jabbarzadeh, E. (2013b). Carbon Nanotube–Poly(lactide- co - glycolide) Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering Applications. *The Journal of the Biomedical Engineering Society*, 41(5), 904–916.
- Choi, K. M., Choi, M. C., Han, D. H., Park, T. S. ve Ha, C. S. (2013). Plasticization of poly(lactic acid) (PLA) through chemical grafting of poly(ethylene glycol) (PEG) via in situ reactive blending. *European Polymer Journal*, 49(8), 2356-2364.
- Coleman, J. N., Khan, U., Blau, W. J. ve Gun'ko, Y. K. (2006). Small but strong: A review of the mechanical properties of carbon nanotube-polymer composites. *Carbon*, 44(9), 1624-1652.
- Cooley, J. F. (1902). Apparatus for electrically dispersing fluids. *US Patent 692,631*.
- Coxon, J. P., Oades, G. M., Colston, K. W. ve Kirby, R. S. (2004). Advances in the use of bisphosphonates in the prostate cancer setting. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 7(2), 99.
- Curtis, A., & Wilkinson, C. (1999). New depths in cell behaviour: reactions of cells to nanotopography. *In Biochemical Society Symposium*, (65), 15-26.
- Dalton, P. D. ve Woodfi, T. (2008). Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Bone*, 32(3), 2004–2005.
- Elsawy, M. A., Kim, K. H., Park, J. W. ve Deep, A. (2017). Hydrolytic degradation of polylactic acid (PLA) and its composites. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 79, 1346-1352.
- Fadaie, M., Mirzaei, E., Geramizadeh, B. ve Asvar, Z. (2018). Incorporation of nanofibrillated chitosan into electrospun PCL nanofibers makes scaffolds with enhanced mechanical and biological properties. *Carbohydrate Polymers*, 199, 628–640.
- Flores-Cedillo, M. L., Alvarado-Estrada, K. N., Pozos-Guillén, A. J., Murguía-Ibarra, J. S., Vidal, M. A., Cervantes-Uc, J. M., Cauich-Rodríguez, J. V. (2016). Multiwall carbon nanotubes/polycaprolactone scaffolds seeded with human dental pulp stem cells for bone tissue regeneration. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 27(2), 35.
- Foltmann, H & Quadir, A. (2008). Polyvinylpyrrolidone (PVP) - One of the most widely used excipients in pharmaceuticals: An overview. *Drug Delivery Technology*, 8. 22-27.
- Frank, S., Poncharal, P., Wang, Z. L., & De Heer, W. A. (1998). Carbon nanotube quantum resistors. *Science*, 280(5370), 1744-1746.
- Gaidhani, K. A., Harwalkar, M., Bhambere, D. ve Nirgude, P. S. (2015). *World Journal of Pharmaceutical Research World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(8), 516-543.
- Gajendiran, M., Choi, J., Kim, S. J., Kim, K., Shin, H., Koo, H. J. ve Kim, K. (2017). Conductive biomaterials for tissue engineering applications. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 51, 12–26.

- Galvan-Garcia, P., Keefer, E. W., Yang, F., Zhang, M., Fang, S., Zakhidov, A. A. Romero, M. I. (2007). Robust cell migration and neuronal growth on pristine carbon nanotube sheets and yarns. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 18(10), 1245-1261.
- Gautam, S., Dinda, A. K. ve Mishra, N. C. (2013). Fabrication and characterization of PCL/gelatin composite nanofibrous scaffold for tissue engineering applications by electrospinning method. *Materials Science and Engineering C*, 33(3), 1228–1235.
- George, J. H. (2009). *Engineering of fibrous scaffolds for use in regenerative medicine* (Doctoral dissertation, Imperial College London, 2009), 8-200.
- Gholizadeh, S., Moztafzadeh, F., Haghhighipour, N., Ghazizadeh, L., Baghbani, F., Shokrgozar, M. A. ve Allahyari, Z. (2017). Preparation and characterization of novel functionalized multiwalled carbon nanotubes/chitosan/ $\beta$ -Glycerophosphate scaffolds for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 365–372.
- Gilbert, W. (1660). *De Magnete, Magneticisque Corporibus, et de Magno Magnete Tellure*. (First edition). London: Peter Short., 15,20.
- Goulart, C. O., Pereira Lopes, F. R., Monte, Z. O., Dantas, S. V., Souto, A., Oliveira, J. T., Martinez, A. M. B. (2016). Evaluation of biodegradable polymer conduits - poly(l-lactic acid) - for guiding sciatic nerve regeneration in mice. *Methods*, 99, 28–36.
- Halake, K., Birajdar, M., Kim, B. S., Bae, H., Lee, C. C., Kim, Y. J., Lee, J. (2014). Recent application developments of water-soluble synthetic polymers. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(6), 3913-3918.
- Hamada, N., Sawada, S. I. ve Oshiyama, A. (1992). New one-dimensional conductors: Graphitic microtubules. *Physical Review Letters*, 68(10), 1579.
- Harada, S. I. ve Rodan, G. A. (2003). Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nature*, 423(6937), 349.
- Haroosh, H. J., Chaudhary, D. S. ve Dong, Y. (2011). Effect Of Solution Parameters On Electrospun PLA/PCL Fibers. *Chemeca 2011 - Engineering A Better World*, 1521-1534.
- Hirata, E., Uo, M., Nodasaka, Y., Takita, H., Ushijima, N., Akasaka, T., Yokoyama, A. (2010). 3D collagen scaffolds coated with multiwalled carbon nanotubes: Initial cell attachment to internal surface. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 93(2), 544–550.
- Hirata, E., Uo, M., Takita, H., Akasaka, T., Watari, F. ve Yokoyama, A. (2011). Multiwalled carbon nanotube-coating of 3D collagen scaffolds for bone tissue engineering. *Carbon*, 49(10), 3284–3291.
- Horner, E. A., Kirkham, J., Wood, D., Curran, S., Smith, M., Thomson, B. ve Yang, X. B. (2009). Long Bone Defect Models for Tissue Engineering Applications: Criteria for Choice. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 16(2), 263-271.

- Huang, J., Xiong, J., Liu, J., Zhu, W. ve Wang, D. (2013). Investigation of the In Vitro Degradation of a Novel Polylactide/Nanohydroxyapatite Composite for Artificial Bone . *Journal of Nanomaterials*, (2013), 3-8.
- Iijima, S. (1991). Helical microtubules of graphitic carbon. *nature*, 354(6348), 56.
- Ikedo, R., Fujioka, H., Nagura, I., Kokubu, T., Toyokawa, N., Inui, A., Kurosaka, M. (2009). The effect of porosity and mechanical property of a synthetic polymer scaffold on repair of osteochondral defects. *International Orthopaedics*, 33(3), 821–828.
- Jacob, J., Haponiuk, J. T., Thomas, S., & Gopi, S. (2018). Biopolymer based nanomaterials in drug delivery systems: A review. *Materials today chemistry*, 9, 43-55.
- Jansen, E. J., Sladek, R. E., Bahar, H., Yaffe, A., Gijbels, M. J., Kuijjer, R., & Koole, L. H. (2005). Hydrophobicity as a design criterion for polymer scaffolds in bone tissue engineering. *Biomaterials*, 26(21), 4423-4431.
- Jia, Y., Huang, G., Dong, F., Liu, Q., & Nie, W. (2016). Preparation and characterization of electrospun poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/poly (vinyl pyrrolidone) nanofiber composites containing silver particles. *Polymer Composites*, 37(9), 2847-2854.
- Jiang, T., Nukavarapu, S. P., Deng, M., Jabbarzadeh, E., Kofron, M. D., Doty, S. B., Laurencin, C. T. (2010). Chitosan-poly(lactide-co-glycolide) microsphere-based scaffolds for bone tissue engineering: In vitro degradation and in vivo bone regeneration studies. *Acta Biomaterialia*, 6(9), 3457–3470.
- Karageorgiou, V., & Kaplan, D. (2005). Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*, 26(27), 5474-5491.
- Kerschnitzki, M., Wagermaier, W., Roschger, P., Seto, J., Shahar, R., Duda, G. N., Fratzl, P. (2011). The organization of the osteocyte network mirrors the extracellular matrix orientation in bone. *Journal of Structural Biology*, 173(2), 303-311.
- Khalf, A. ve Madihally, S. V. (2017). Modeling the permeability of multiaxial electrospun poly( $\epsilon$ -caprolactone)-gelatin hybrid fibers for controlled doxycycline release. *Materials Science and Engineering C*, 76, 161–170.
- Khang, D., Park, G. E. ve Webster, T. J. (2008). Enhanced chondrocyte densities on carbon nanotube composites: The combined role of nanosurface roughness and electrical stimulation. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 86(1), 253-260.
- Lahiri, D., Rouzaud, F., Namin, S., Keshri, A. K., Valdés, J. J., Kos, L., Agarwal, A. (2009). Carbon nanotube reinforced polylactide-caprolactone copolymer: Mechanical strengthening and interaction with human osteoblasts in vitro. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 1(11), 2470-2476.
- Lam, C. X. F., Savalani, M. M., Teoh, S. H. ve Huttmacher, D. W. (2008). Dynamics of in vitro polymer degradation of polycaprolactone-based scaffolds: Accelerated versus simulated physiological conditions. *Biomedical Materials*, 3(3), 034108.
- Langer, R. ve Vacanti, J. P. (1993). - 1. Articles Tissue Engineering. *Science*, 260 (5110), 920-926.

- Lee, H. H., Shin, U. S., Jin, G. Z., & Kim, H. W. (2011). Highly homogeneous carbon nanotube-polycaprolactone composites with various and controllable concentrations of ionically-modified-MWCNTs. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(1), 157-161.
- Li, C., Vepari, C., Jin, H. J., Kim, H. J. ve Kaplan, D. L. (2006). Electrospun silk-BMP-2 scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27(16), 3115-3124.
- Liang, C., Luo, Y., Yang, G., Xia, D., Liu, L., Zhang, X. ve Wang, H. (2018). Graphene Oxide Hybridized nHAC/PLGA Scaffolds Facilitate the Proliferation of MC3T3-E1 Cells. *Nanoscale Research Letters*, 13(1), 15.
- Liao, G. Y., Zhou, X. P., Chen, L., Zeng, X. Y., Xie, X. L. ve Mai, Y. W. (2012). Electrospun aligned PLLA/PCL/functionalised multiwalled carbon nanotube composite fibrous membranes and their bio/mechanical properties. *Composites Science and Technology*, 72(2), 248–255.
- Lin, H., Sohn, J., Shen, H., Langhans, M. T. ve Tuan, R. S. (2018). Bone marrow mesenchymal stem cells: Aging and tissue engineering applications to enhance bone healing. *Biomaterials*, 203, 96-110.
- Liu, D., Yi, C., Zhang, D., Zhang, J. ve Yang, M. (2010). Inhibition of proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells by carboxylated carbon nanotubes. *ACS Nano*, 4(4), 2185–2195.
- Liu, H., Slamovich, E. B. ve Webster, T. J. (2006). Less harmful acidic degradation of poly(lactic-co-glycolic acid) bone tissue engineering scaffolds through titania nanoparticle addition. *International Journal of Nanomedicine*, 1(4), 541.
- Liu, X. ve Ma, P. X. (2004). Polymeric scaffolds for bone tissue engineering. *Annals of biomedical engineering*, 32(3), 477-486.
- Liu, Y., Liang, X., Wang, S., Qin, W. ve Zhang, Q. (2018). Electrospun antimicrobial polylactic acid/tea polyphenol nanofibers for food-packaging applications. *Polymers*, 10(5), 561.
- Llop, J., Jiang, P., Marradi, M., Gómez-Vallejo, V., Echeverría, M., Yu, S., Moya, S. E. (2015). Visualisation of dual radiolabelled poly(lactide-co-glycolide) nanoparticle degradation in vivo using energy-discriminant SPECT. *Journal of Materials Chemistry B*, 3(30), 6293-6300.
- Loh, Q. L. ve Choong, C. (2013). Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering Applications: Role of Porosity and Pore Size. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 19(6), 485-502.
- Lukáš, D., Sarkar, A., Martinová, L., Vodsed'álková, K., Lubasová, D., Chaloupek, J., Komárek, M. (2009). Physical principles of electrospinning (electrospinning as a nano-scale technology of the twenty-first century). *Textile Progress*, 41(2), 59-140.
- Luo, J., Wang, H., Zuo, D., Ji, A. ve Liu, Y. (2018). Research on the Application of MWCNTs/PLA Composite Material in the Manufacturing of Conductive Composite Products in 3D Printing. *Micromachines*, 9(12), 635.

- Ma, P. X. ve Zhang, R. (1999). Synthetic nano-scale fibrous extracellular matrix. *Journal of Biomedical Materials Research*, 46(1), 60-72.
- Malladi, L., Mahapatro, A. ve Gomes, A. S. (2018). Fabrication of magnesium-based metallic scaffolds for bone tissue engineering. *Materials Technology*, 33(2), 173-182.
- Mansfield, P. J. ve Neumann, D. A. (2018). Structure and Function of Skeletal Muscle. *Essentials of Kinesiology for the Physical Therapist Assistant* (First edition). Mosby:Elsevier, 87-95.
- Matthews, J. A., Wnek, G. E., Simpson, D. G. ve Bowlin, G. L. (2002). Electrospinning of collagen nanofibers. *Biomacromolecules*, 3(2), 232-238.
- Mattioli-Belmonte, M., Vozzi, G., Whulanza, Y., Seggiani, M., Fantauzzi, V., Orsini, G. ve Ahluwalia, A. (2012). Tuning polycaprolactone-carbon nanotube composites for bone tissue engineering scaffolds. *Materials Science and Engineering C*, 32(2), 152–159.
- Meechaisue, C., Dubin, R., Supaphol, P., Hoven, V. P. ve Kohn, J. (2006). Electrospun mat of tyrosine-derived polycarbonate fibers for potential use as tissue scaffolding material. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 17(9), 1039-1056.
- Mellon, S. J. ve Tanner, K. E. (2012). Bone and its adaptation to mechanical loading: a review. *International Materials Reviews*, 57(5), 235-255.
- Meng, Z. X., Zheng, W., Li, L., & Zheng, Y. F. (2010). Fabrication and characterization of three-dimensional nanofiber membrane of PCL–MWCNTs by electrospinning. *Materials Science and Engineering: C*, 30(7), 1014-1021.
- Meyer, U. ve Wiesmann, H. P. (2006). *Bone and cartilage engineering. Bone and Cartilage Engineering* (First edition). Germany:Springer Science & Business Media, 58-70.
- Miclau, T., Schneider, R. A., Frank Eames, B. ve Helms, J. A. (2005). Common molecular mechanisms regulating fetal bone formation and adult fracture repair. *Bone Regeneration and Repair: Biology and Clinical Applications*, 45-55.
- Mikael, P. E., Amini, A. R., Basu, J., Arellano-Jimenez, M. J., Laurencin, C. T., Sanders, M. M., Nukavarapu, S. P. (2014). Functionalized carbon nanotube reinforced scaffolds for bone regenerative engineering: fabrication, in vitro and in vivo evaluation. *Biomedical Materials*, 9(3), 035001.
- Mintmire, J. W., Dunlap, B. I. ve White, C. T. (1992). Are fullerene tubules metallic? *Physical Review Letters*, 68(5), 631.
- Mistry, A. S. ve Mikos, A. G. (2005). Tissue engineering strategies for bone regeneration. *Regenerative Medicine II: Clinical and Preclinical Applications*, 94, 1–22.
- Montanheiro, T. L. D. A., Cristóvan, F. H., Machado, J. P. B., Tada, D. B., Durán, N. ve Lemes, A. P. (2014). Effect of MWCNT functionalization on thermal and electrical properties of PHBV/MWCNT nanocomposites. *Journal of Materials Research*, 30(1), 55-65.

- Montjovent, M. O., Mark, S., Mathieu, L., Scaletta, C., Scherberich, A., Delabarde, C., Pioletti, D. P. (2008). Human fetal bone cells associated with ceramic reinforced PLA scaffolds for tissue engineering. *Bone*, 42(3), 554–564.
- Nair, L. S. ve Laurencin, C. T. (2007). Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science*, 32(8-9), 762-798.
- Nogués, C., Blanquer, A., Barrios, L. ve Ibañez, E. (2017). Assessment of metallic alloys biocompatibility. *Biomaterials in Clinical Practice: Advances in Clinical Research and Medical Devices*, 461–475.
- Nollet, J. A. (Abbe). (1747). Eclaircissemens sur plusieurs faits concernant l'électricité. *memoires de l'academie des sciences*, (5), 107-116.
- O'Brien, F. J. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, 14(3), 88–95.
- Oberlin, A., Endo, M. ve Koyama, T. (1976). Filamentous growth of carbon through benzene decomposition. *Journal of Crystal Growth*, 32(3), 335-349.
- Oliveira, J. E., Mattoso, L. H. C., Orts, W. J. ve Medeiros, E. S. (2013). Structural and morphological characterization of micro and nanofibers produced by electrospinning and solution blow spinning: A comparative study. *Advances in Materials Science and Engineering*, (2013), 2-14 .
- Oyama, H. T., Tanaka, Y. -ve 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.
- Pan, L., Pei, X., He, R., Wan, Q. ve Wang, J. (2012). Multiwall carbon nanotubes/polycaprolactone composites for bone tissue engineering application. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 93, 226–234.
- Pancrazio, J. J. (2008). Neural interfaces at the nanoscale. *Nanomedicine*, (1), 50-62.
- Peng, C., Chen, H., Wang, J., Chen, Z., Ni, M., Chen, Y., Yuan, T. (2013). Controlled degradation of polylactic acid grafting N-vinyl pyrrolidone induced by gamma ray radiation. *Journal of Applied Polymer Science*, 130(1), 704-709.
- Perumal, G., Pappuru, S., Chakraborty, D., Maya Nandkumar, A., Chand, D. K. ve Doble, M. (2017). Synthesis and characterization of curcumin loaded PLA—Hyperbranched polyglycerol electrospun blend for wound dressing applications. *Materials Science and Engineering C*, 76, 1196-1204.
- Polo-Corrales, L., Latorre-Esteves, M. ve Ramirez-Vick, J. E. (2014). Scaffold Design for Bone Regeneration. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 14(1), 15–56.
- Prabhakaran, M. P., Venugopal, J. ve Ramakrishna, S. (2009). Electrospun nanostructured scaffolds for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 5(8), 2884–2893.
- Pretula, J., Slomkowski, S. ve Penczek, S. (2016). Polylactides-Methods of synthesis and characterization. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107, 3-16.



- Purbrick, M., Ambrosio, L., Ventre, M. ve Netti, P. (2009). Natural composites: Structure-property relationships in bone, cartilage, ligament and tendons. *Biomedical Composites*, 3-24.
- Ra, E. J., An, K. H., Kim, K. K., Jeong, S. Y. ve Lee, Y. H. (2005). Anisotropic electrical conductivity of MWCNT/PAN nanofiber paper. *Chemical Physics Letters*, 413(1-3), 188-193.
- Radushkevich, L. V. ve Lukyanovich, V. M. (1952). O strukture ugleroda, obrazujucesja pri termiceskom razlozenii okisi ugleroda na zeleznom kontakte. *Soviet Journal of Physical Chemistry*, 11, 25-30.
- Raimi-Abraham, B. T., Mahalingam, S., Edirisinghe, M. ve Craig, D. Q. M. (2014). Generation of poly(N-vinylpyrrolidone) nanofibres using pressurised gyration. *Materials Science and Engineering C*, 39, 168-176.
- Ramakrishna, S. F. K. T. W. L. T. M. Z. (2005). *An Introduction to Electrospinning And Nanofibers* (First edition). Singapore:World Scientific Publishing, 29-40.
- Reda, R. I., Wen, M. M. ve El-Kamel, A. H. (2017). Ketoprofen-loaded Eudragit electrospun nanofibers for the treatment of oral mucositis. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 2335.
- Reksamunandar, R. P., Edikresnha, D., Munir, M. M., & Damayanti, S. (2017). Encapsulation of  $\beta$ -carotene in poly (vinylpyrrolidone)(PVP) by electrospinning Technique. *Procedia Engineering*, 170, 19-23.
- Revati, R., Majid, M. A., & Normahira, M. (2016). Biodegradable poly (lactic acid) scaffold for tissue engineering: a brief review. *Journal of Polymer Science and Technology*, 1(1), 16-24.
- Revati, R., Majid, M. A., Ridzuan, M. J. M., Basaruddin, K. S., Cheng, E. M., & Gibson, A. G. (2017). In vitro degradation of a 3D porous Pennisetum purpureum/PLA biocomposite scaffold. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 74, 383-391.
- Rezwan, K., Chen, Q. Z., Blaker, J. J., & Boccaccini, A. R. (2006). Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27(18), 3413-3431.
- Risbud, M., Hardikar, A., & Bhonde, R. (2000). Growth modulation of fibroblasts by chitosan-polyvinyl pyrrolidone hydrogel: Implications for wound management?. *Journal of biosciences*, 25(1), 25-30.
- Rodrigues, B. V. M., Silva, A. S., Melo, G. F. S., Vasconcellos, L. M. R., Marciano, F. R. ve Lobo, A. O. (2016). Influence of low contents of superhydrophilic MWCNT on the properties and cell viability of electrospun poly (butylene adipate-co-terephthalate) fibers. *Materials Science and Engineering C*, 59, 782-791.
- Romagnoli, C., D'Asta, F., & Brandi, M. L. (2013). Drug delivery using composite scaffolds in the context of bone tissue engineering. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, 10(3), 155.

- Roseti, L., Parisi, V., Petretta, M., Cavallo, C., Desando, G., Bartolotti, I. ve Grigolo, B. (2017). Scaffolds for Bone Tissue Engineering: State of the art and new perspectives. *Materials Science and Engineering C*, 78, 1246-1262.
- S., G., I., F. ve J., R.-C. (2007). Vertically aligned carbon nanotubes as cytocompatible material for enhanced adhesion and proliferation of osteoblast-like cells. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 7(4-5), 1679-1683.
- Sabir, M. I., Xu, X. ve Li, L. (2009). A review on biodegradable polymeric materials for bone tissue engineering applications. *Journal of Materials Science*, 44(21), 5713–5724.
- Sahithi, K., Swetha, M., Ramasamy, K., Srinivasan, N. ve Selvamurugan, N. (2010). Polymeric composites containing carbon nanotubes for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(3), 281-283.
- Saito, N., Usui, Y., Aoki, K., Narita, N., Shimizu, M., Hara, K., Endo, M. (2009). Carbon nanotubes: biomaterial applications. *Chemical Society Reviews*, 38(7), 1897.
- Saito, N., Usui, Y., Aoki, K., Narita, N., Shimizu, M., Ogiwara, N., Endo, M. (2008). Carbon Nanotubes for Biomaterials in Contact with Bone. *Current Medicinal Chemistry*, 15(5), 523-527.
- Sajid, M. I., Jamshaid, U., Jamshaid, T., Zafar, N., Fessi, H. ve Elaissari, A. (2016). Carbon nanotubes from synthesis to in vivo biomedical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 501(1-2), 278-299.
- Sakai, S., Yamada, Y., Yamaguchi, T. ve Kawakami, K. (2006). Prospective use of electrospun ultra-fine silicate fibers for bone tissue engineering. *Biotechnology Journal*, 1(9), 958-962.
- Sampath, U. G. T. M., Ching, Y. C., Chuah, C. H., Sabariah, J. J. ve Lin, P. C. (2016). Fabrication of porous materials from natural/synthetic biopolymers and their composites. *Materials*, 9(12), 991.
- Saroj, A. L., Singh, R. K. ve Chandra, S. (2013). Studies on polymer electrolyte poly(vinyl pyrrolidone (PVP) complexed with ionic liquid: Effect of complexation on thermal stability, conductivity and relaxation behaviour. *Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology*, 178(4), 231-238.
- Scheibe, B., Borowiak-Palen, E. ve Kalenczuk, R. J. (2010). Oxidation and reduction of multiwalled carbon nanotubes - preparation and characterization. *Materials Characterization*, 61(2), 185-191.
- Serra, T., Mateos-Timoneda, M. A., Planell, J. A. ve Navarro, M. (2013). 3D printed PLA-based scaffolds. *Organogenesis*, 9(4), 239–244.
- Shao, S., Zhou, S., Li, L., Li, J., Luo, C., Wang, J., Weng, J. (2011). Osteoblast function on electrically conductive electrospun PLA/MWCNTs nanofibers. *Biomaterials*, 32(11), 2821–2833.

- Sheikh, Z., Najeeb, S., Khurshid, Z., Verma, V., Rashid, H. ve Glogauer, M. (2015). Biodegradable materials for bone repair and tissue engineering applications. *Materials*, 8(9), 5744-5794.
- Shi, X., Sitharaman, B., Pham, Q. P., Spicer, P. P., Hudson, J. L., Wilson, L. J., Mikos, A. G. (2008). In vitro cytotoxicity of single-walled carbon nanotube/biodegradable polymer nanocomposites. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 86(3), 813–823.
- Shin, H., Jo, S. ve Mikos, A. G. (2003). Biomimetic materials for tissue engineering. *Biomaterials*, 24(24), 4353-4364.
- Shrestha, B. K., Shrestha, S., Tiwari, A. P., Kim, J. I., Ko, S. W., Kim, H. J., Kim, C. S. (2017). Bio-inspired hybrid scaffold of zinc oxide-functionalized multi-wall carbon nanotubes reinforced polyurethane nanofibers for bone tissue engineering. *Materials and Design*, 133, 69–81.
- Silva, E., Vasconcellos, L. M. R. de, Rodrigues, B. V. M., dos Santos, D. M., Campana-Filho, S. P., Marciano, F. R., Lobo, A. O. (2017). PDLA honeycomb-like scaffolds with a high loading of superhydrophilic graphene/multi-walled carbon nanotubes promote osteoblast in vitro functions and guided in vivo bone regeneration. *Materials Science and Engineering C*, 73, 31-39.
- Sin, L. T., Rahmat, A. R. ve Rahman, W. A. W. A. (2013). Degradation and Stability of Poly(lactic Acid). *Poly(lactic Acid)*, 247–299.
- Sitharaman, B., Shi, X., Walboomers, X. F., Liao, H., Cuijpers, V., Wilson, L. J., Jansen, J. A. (2008). In vivo biocompatibility of ultra-short single-walled carbon nanotube/biodegradable polymer nanocomposites for bone tissue engineering. *Bone*, 43(2), 362–370.
- Smith, L. E., Rimmer, S. ve MacNeil, S. (2006). Examination of the effects of poly(N-vinylpyrrolidinone) hydrogels in direct and indirect contact with cells. *Biomaterials*, 27(14), 2806-2812.
- Someswararao, M. V., Dubey, R. S., Subbarao, P. S. V. ve Singh, S. (2018). Electrospinning process parameters dependent investigation of TiO<sub>2</sub> nanofibers. *Results in Physics*, 11, 223-231.
- Stevens, M. M. (2008). Biomaterials for bone Materials that enhance bone regeneration have a wealth of potential. *Materials Today*, 11(5), 18-25.
- Subia, B., Kundu, J. ve C., S. (2012). Biomaterial Scaffold Fabrication Techniques for Potential Tissue Engineering Applications. *Tissue Engineering*, 5(6), 66-81.
- Swetha, M., Sahithi, K., Moorthi, A., Srinivasan, N., Ramasamy, K. ve Selvamurugan, N. (2010). Biocomposites containing natural polymers and hydroxyapatite for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 47(1), 1-4
- Teo, W. E., He, W. ve Ramakrishna, S. (2006). Electrospun scaffold tailored for tissue-specific extracellular matrix. *Biotechnology Journal*, 1(9), 918-929.

- Teodorescu, M. ve Bercea, M. (2015). Poly(vinylpyrrolidone) – A Versatile Polymer for Biomedical and Beyond Medical Applications. *Polymer - Plastics Technology and Engineering*, 54(9), 923-943.
- Tonelli, F. M. P., Santos, A. K., Gomes, K. N., Lorençon, E., Guatimosim, S., Ladeira, L. O. ve Resende, R. R. (2012). Carbon nanotube interaction with extracellular matrix proteins producing scaffolds for tissue engineering. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 4511–29.
- Torres-Huerta, A. M., Palma-Ramírez, D., Domínguez-Crespo, M. A., Del Angel-López, D. ve De La Fuente, D. (2014). Comparative assessment of miscibility and degradability on PET/PLA and PET/chitosan blends. *European Polymer Journal*, 61, 285-299.
- Tsekova, P. B., Spasova, M. G., Manolova, N. E., Markova, N. D. ve Rashkov, I. B. (2017). Electrospun curcumin-loaded cellulose acetate/polyvinylpyrrolidone fibrous materials with complex architecture and antibacterial activity. *Materials Science and Engineering C*, 73, 206-214.
- Tyler, B., Gullotti, D., Mangraviti, A., Utsuki, T. ve Brem, H. (2016). Polylactic acid (PLA) controlled delivery carriers for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107, 163-175.
- Uebersax, L., Ller, H. H., Hofmann, S., Gruenblatt, E., Ller, R. M., Vunjak-Novakovic, G., Meinel, L. (2006). Effect of Scaffold Design on Bone Morphology In Vitro. *Tissue Engineering*, 12(12), 3417–3429.
- Usui, Y., Aoki, K., Narita, N., Murakami, N., Nakamura, I., Nakamura, K., Saito, N. (2008). Carbon nanotubes with high bone-tissue compatibility and bone-formation acceleration effects. *Small*, 4(2), 240–246.
- Valverde, T. M., Castro, E. G., Cardoso, M. H. S., Martins, P. A., Souza, L. M. O., Silva, P. P., Kitten, G. T. (2016). A novel 3D bone-mimetic scaffold composed of collagen/MTA/MWCNT modulates cell migration and osteogenesis. *Life Sciences*, 162, 115–124.
- Venkatesan, J., Ryu, B., Sudha, P. N. ve Kim, S.-K. (2012). Preparation and characterization of chitosan-carbon nanotube scaffolds for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(2), 393–402.
- Vert, M., Mauduit, J. ve Li, S. (1994). Biodegradation of PLA/GA polymers: increasing complexity. *Biomaterials*, 15(15), 1209-1213.
- Vieira, S., Vial, S., Reis, R. L. ve Oliveira, J. M. (2017). Nanoparticles for bone tissue engineering. *Biotechnology Progress*, 33(3), 590-611.
- Vinod Gupta and Tawfik A. Saleh. (2011). Synthesis of Carbon Nanotube-Metal Oxides Composites ; Adsorption. *Carbon Nanotubes - From Research to Applications* (First edition). Chicago: IntechOpen,1-20.
- Vroman, I. ve Tighzert, L. (2009). Biodegradable polymers. *Materials*, 2(2), 307-344.

- Wang, J., Chen, N., Ramakrishna, S., Tian, L. ve Mo, X. (2017). The effect of plasma treated PLGA/MWCNTs-COOH composite nanofibers on nerve cell behavior. *Polymers*, 9(12), 713.
- Wang, W., Ciselli, P., Kuznetsov, E., Peijs, T. ve Barber, A. (2008). Effective reinforcement in carbon nanotube-polymer composites. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 366(1870), 1613–1626.
- Wang, W., Meyer, F. ve Wang, Y. (2009). Carbon Nanotube Enhanced Composite Materials. *Sampe*, 25-34.
- Warowicka, A., Maciejewska, B. M., Litowczenko, J., Kościński, M., Baranowka-Korczyk, A., Jasiurkowska-Delaporte, M., Jurga, S. (2016). MWCNT based matrices as a platform for adhesion and growth of cells. *Composites Science and Technology*, 136, 29-38.
- Webster, T. J. ve Khang, D. (2010). Bio-inspired Carbon Nano-structures: Orthopedic Applications. *Nanotechnology for the Regeneration of Hard and Soft Tissues* (First edition). Singapore:World Scientific, 45-56.
- Webster, T. J., Schadler, L. S., Siegel, R. W., & Bizios, R. (2001). Mechanisms of enhanced osteoblast adhesion on nanophase alumina involve vitronectin. *Tissue Engineering*, 7(3), 291-301.
- Wei, G., & Ma, P. X. (2004). Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 25(19), 4749-4757.
- Wong, B. S., Yoong, S. L., Jagusiak, A., Panczyk, T., Ho, H. K., Ang, W. H. ve Pastorin, G. (2013). Carbon nanotubes for delivery of small molecule drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(15), 1964-2015.
- Yannas, V. (2004). Classes of materials used in medicine: natural materials. *Biomaterials Science - An Introduction to Materials in Medicine Classes*, 71(2), 343-354.
- Yao, N. ve Lordi, V. (1998). Young's modulus of single-walled carbon nanotubes. *Journal of Applied Physics*, 84(4), 1939-1943.
- Ye, H., Zhang, Y., & Yu, Z. (2017). Effect of desulfonation of lignosulfonate on the properties of poly (lactic acid)/lignin composites. *BioResources*, 12(3), 4810-4829.
- Yim, E. K., Darling, E. M., Kulangara, K., Guilak, F., & Leong, K. W. (2010). Nanotopography-induced changes in focal adhesions, cytoskeletal organization, and mechanical properties of human mesenchymal stem cells. *Biomaterials*, 31(6), 1299-1306.
- Yoon, I. K., Hwang, J. Y., Seo, J. W., Jang, W. C., Kim, H. W. ve Shin, U. S. (2014). Carbon nanotube-gelatin-hydroxyapatite nanohybrids with multilayer core-shell structure for mimicking natural bone. *Carbon*, 77, 379–389.
- Yu, M. F., Lourie, O., Dyer, M. J., Moloni, K., Kelly, T. F., & Ruoff, R. S. (2000). Strength and breaking mechanism of multiwalled carbon nanotubes under tensile load. *Science*, 287(5453), 637-640.

- Zanello, L., Zhao, B., Hu, H. ve Haddon, R. (2006). Bone cell proliferation on carbon nanotubes. *Nano Letters*, 6(3), 562-567.
- Zhang, D., Kandadai, M. A., Cech, J., Roth, S. ve Curran, S. A. (2006). Poly(L-lactide) (PLLA)/multiwalled carbon nanotube (MWCNT) composite: Characterization and biocompatibility evaluation. *Journal of Physical Chemistry B*, 110 (26), 12910–12915.
- Zhang, H. (2011). Electrospun poly (lactic-co-glycolic acid)/ multiwalled carbon nanotubes composite scaffolds for guided bone tissue regeneration. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 26(4), 347–362.
- Zhang, J., Qi, H., Wang, H., Hu, P., Ou, L., Guo, S., Kong, D. (2006). Engineering of vascular grafts with genetically modified bone marrow mesenchymal stem cells on poly (propylene carbonate) graft. *Artificial Organs*, 30(12), 898-905.
- Zhijiang, C., Cong, Z., Jie, G., Qing, Z. ve Kongyin, Z. (2018). Electrospun carboxyl multi-walled carbon nanotubes grafted polyhydroxybutyrate composite nanofibers membrane scaffolds: Preparation, characterization and cytocompatibility. *Materials Science and Engineering C*, 82, 29–40.
- Zhu, Y., Wang, Z., Li, L., Gao, D., Xu, Q., Zhu, Q. ve Zhang, P. (2017). In vitro degradation behavior of a hydroxyapatite/poly(lactide- co -glycolide) composite reinforced by micro/nano-hybrid poly(glycolide) fibers for bone repair. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(44), 8695-8706.
- Zomer Volpato, F., Fernandes Ramos, S. L., Motta, A., & Migliaresi, C. (2011). Physical and in vitro biological evaluation of a PA 6/MWCNT electrospun composite for biomedical applications. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 26(1), 35-47.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Bülbül, Yunus Emre  
 Uyuğu : T.C.  
 Doğum tarihi ve yeri : 30.09.1992, Osmaniye  
 Medeni hali : Bekar  
 Telefon : 0 (553) 454 60 11  
 e-mail : yunusemre.bulbul1@gazi.edu.tr



### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Mühendisliği	2017
Lisans	Bartın Üniversitesi / Çevre Mühendisliği	2015
Lise	Adnan Oğuz Anadolu Lisesi	2010

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
-	-	-

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

#### A. Uluslararası SCI Tarafından Taranan Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Bulbul, Y.E., Eskitoros-Toğay, Ş. M., Demirtaş-Korkmaz F., Dilsiz, N. (2019). Multi-walled carbon nanotube-incorporating electrospun composite fibrous mats for controlled drug release profile. *International Journal of Pharmaceutics* (revizyonda).
2. Eskitoros-Togay, Ş. M., Bulbul, Y.E., Tort, S., Demirtas-Korkmaz, F., Acarturk, F., Dilsiz, N. (2019). Fabrication of doxycycline-loaded electrospun PCL/PEO membranes for a potential drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutics*, 565, 83-94.

3. Bulbul, Y.E., Uzunoglu, T, Dilsiz, N. (2018). Investigation of nanomechanical and morphological properties of polycaprolactone/silane modified halloysite nanotube composite nanofibers by atomic force microscopy. *Polymer Testing*, (revizyonda).
4. Eskitoros-Toğay, Ş. M., Bulbul, Y.E., Dilsiz, N. (2018). Quercetin-loaded and unloaded electrospun membranes: Synthesis, characterization and *in vitro* release study. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 47, 22-30.
5. Uzal, N., Ates N., Saki S., Bulbul Y. E., Chen Y. (2017). Enhanced hydrophilicity and mechanical robustness of polysulfone nanofiber membranes by addition of polyethyleneimine and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles. *Separation and Purification Technology*, 187: 118-126.

## **B. Atflar (6 Adet)**

### **C. Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Basılan Bildiriler**

1. Eskitoros-Toğay, Ş. M., Bulbul, Y.E., and Dilsiz, N. (2018, November 26-27). *Hydrophilic drug-loaded electrospun nanofiber membranes as drug delivery vehicles*. 1st International Eurasian Conference on Science, Engineering and Technology, Ankara, Turkey.
2. Eskitoros-Toğay, Ş. M., Bulbul, Y.E., and Dilsiz, N. (2018, September 9-12). *Doxycycline loaded PCL/PEO electrospun membranes for drug delivery applications*. VII. Polymer Science and Technology Congress with International Participation, Eskişehir, Turkey.
3. Eskitoros-Toğay, Ş. M., Bulbul, Y.E., Dilsiz, N. (2018, April 26-27). *Fabrication and characterization of electrospun membranes containing quercetin for drug delivery system*. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, Ankara, Turkey.
4. Bulbul, Y.E. and Dilsiz, N. (2018, April 26-27). *Fabrication of Poly(lactic acid)/Poly(vinylpyrrolidone) Bicomponent Nanofibers by Electrospinning: Morphology and Physicochemical Properties*, International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, Ankara, Turkey.
5. Bulbul, Y.E. and Dilsiz, N. (2018, April 26-27). *Influence of Low Contents of Carboxyl Multi-Walled Carbon Nanotubes on the Properties of Electrospun Polycaprolactone Biocomposite Nanofibers*, International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, Ankara, Turkey.
6. Bulbul, Y.E. and Dilsiz, N. (2018, March 22-24). *Effect of Electrospinning on the Characterization of PCL/MWCNT-COOH Bionanocomposite Fibers*, 1st International Symposium on Light Alloys and Composite Materials, Karabük, Turkey.
7. Bulbul Y.E., Saki S., Isoglu A.I., Uzal N., Ateş N., (2016, May 15-19). *Fabrication of Polysulfone/PEI-SiO<sub>2</sub> Nanofiber Membranes with Enhanced Properties For Water Filtration*, Membrane Science and Technology Conference of Visegrad Countries, Prague, Czech Republic.



8. Saki S., Bulbul Y.E., Uzal N., Ateş N., (2016, May 15-19). *Preparation and Characterization of Thin Film Nanocomposite Membranes Incorporated With SiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub> Nanoparticles*", Membrane Science and Technology Conference of Visegrad Countries, Prague, Czech Republic.
9. Apaydin D., Saki S., Bulbul Y.E., Ateş N., Uzal N. (2016, May 15-19) *Heavy Metal Removal Performance of Thin Film Nanocomposite Membranes Incorporated with SiO<sub>2</sub> And TiO<sub>2</sub> Nanoparticles*, Membrane Science and Technology Conference of Visegrad Countries, Prague, Czech Republic.

#### **D. Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Basılan Bildiriler**

1. Eskitoros-Toğay, Ş. M., Bulbul, Y.E., Dilsiz, N., (2018, 3-6 Eylül). *Hidrofobik ilaç salım sistemleri için elektrospinlenmiş membranların üretimi, karakterizasyonu ve ilaç salım çalışmaları*. 13. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, Van, Türkiye.
2. Bülbül, Y. E., Uzunoğlu, T., Dilsiz, N., (2018, 23-24 Şubat) *Polikaprolakton/Karbon Nanotüp Biyokompozit Nanofiber Doku İskelelerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu* III. Yaşam Bilimleri Kongresi, Abdullah Gül Üniversitesi, Kayseri, Türkiye.
3. Bülbül Y. E., Gökçek M., Ateş N., Uzal N., (2015, 7-8 Ekim). *Basınç Geciktirmeli Osmoz (PRO) Prosesi ile Sürdürülebilir Enerji Üretimi*, 4. Ulusal Membran Teknolojileri ve Uygulamaları Sempozyumu, Isparta, Türkiye.

#### **E. Projeler**

1. Kemik Doku Mühendisliğine Yönelik Çok Katmanlı Karbon Nanotüp Katkılı Poli(Laktikasit)/ Polivinilpirolidon Biyokompozit Nanofiberlerin Sentezlenmesi Ve Karakterizasyonu, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Proje No: 06/2018-27, Yüksek Lisans Tez Projesi, 2018- Devam ediyor (Araştırmacı).
2. Elektrospinning yöntemi ile PLA, PLGA, PCL, PEO nanofiber ve nanofiber kompozitlerinin geliştirilmesi ve kontrollü ilaç salımında kullanımı, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Proje No: 06/2018-20, Çok Disiplinli Araştırma Projesi, 2018- Devam ediyor (Araştırmacı).
3. İnce Film Kompozit Membranlar ile Basınç Geciktirmeli Osmoz (PRO) Prosesi Kullanılarak Sürdürülebilir Enerji Üretimi, TÜBİTAK, Proje No: 115Y617, 1001-Araştırma Projesi, 2016-2017, (Bursiyer).



*GAZİ GELECEKTİR..*