

**POLİVİNİL ALKOL (PVA) TEMELLİ KRİYOJEL  
DOKU İSKELELERİNİN ÜRETİLMESİ**

**SEDA CEYLAN**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA MÜHENDİSLİĞİ  
ANA BİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MERSİN  
TEMMUZ – 2014**

**POLİVİNİL ALKOL (PVA) TEMELLİ KRİYOJEL  
DOKU İSKELELERİNİN ÜRETİLMESİ**

**SEDA CEYLAN**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA MÜHENDİSLİĞİ  
ANA BİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman  
Yrd. Doç. Dr. Nimet KARAGÜLLE**

**MERSİN  
TEMMUZ – 2014**

Seda CEYLAN tarafından Yrd. Doç. Dr. Nimet KARAGÜLLE danışmanlığında hazırlanan “Polivinil Alkol (PVA) Temelli Kriyojel Doku İskelelerinin Üretilmesi” başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

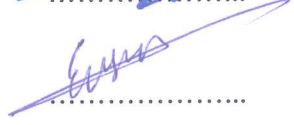
Yrd. Doç. Dr. Nimet KARAGÜLLE



Yrd. Doç. Dr. Rükân GENÇ



Yrd. Doç. Dr. Evren DEĞİRMENÇİ



Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 11/...08/2014 tarih ve 2014...17...507... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

  
Doç. Dr. Mehmet KÜÇÜKASLAN  
Enstitü Müdürü



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

## POLİVİNİL ALKOL (PVA) TEMELLİ KRİYOJEL DOKU İSKELELERİNİN ÜRETİLMESİ

Seda CEYLAN

### ÖZ

Polivinil Alkol (PVA), hidrofilik, biyobozunur ve biyouyumlu sentetik bir polimerdir. Son zamanlarda PVA hidrojeller özellikle doku mühendisliği alanında onarım ve yenileme için oldukça ilgi çekici bir malzeme olarak görülmektedir. PVA'nın kullanıldığı alanlar arasında kalp kapakçıkları, kornea implantları ve kırık doku implantları bulunmaktadır. PVA farklı doku iskeleleri üretim teknikleriyle üretilerek istenilen özelliklere uygun olarak üretilmektedir. Doku iskelesi alanında hidrojelasyon tekniğiyle üretilen doku iskeleleri hücre taşınımları için geniş gözeneklere sahiptir ve bozunabilir. PVA sadece hidrojel doku iskelesi üretim tekniğiyle değil, kriyojelasyon tekniğiyle de üretilerek doku mühendisliği uygulamalarında kullanılabilir. Bu tez kapsamında PVA ve PVA/Jelatin kriyojelleri iki farklı method ile hazırlanmıştır; dondurma/çözdürme (Freeze/thawing FT) çapraz bağlama yöntemi ve gluteraldehit ile çapraz bağlama yöntemi. SEM görüntüleri artan jelatin konsantrasyonu ile birlikte ortalama gözenek boyutunun 3 mikrometreden, 45 mikrometreye ulaştığını göstermiştir. Buna ek olarak, degradasyon oranları, PVA/Jelatin 100:0 ve 10:90 olan doku iskelelerinde sırasıyla %11 ve %76 olarak ölçülmüştür. Sonuçlar neticesinde PVA/Jelatin konsantrasyonun ve doku iskelesi üretim yönteminin, kriyojellerin morfolojik yapısını ve karakterizasyon sonuçlarını etkilediği görülmüştür. PVA/Jelatin kriyojelleri doku mühendisliği uygulamaları için potansiyel bir biyomalzemedir.

**Anahtar Kelimeler:** Polivinil alkol, Jelatin, Kriyojel, Doku iskeleleri, Doku Mühendisliği

**Danışman:** Yrd. Doç. Dr. Nimet KARAGÜLLE, Mersin Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı

## **PRODUCTION OF POLYVINYL ALCOHOL (PVA) BASED CYROGEL SCAFFOLDS**

**Seda CEYLAN**

### **ABSTRACT**

PVA Polyvinyl Alcohol (PVA) is a hydrophilic, biodegradable and biocompatible synthetic polymer. Recently, PVA hydrogels are very attractive for tissue scaffolds. PVA has been used many different areas for tissue applications such as heart valves, corneal implants, and cartilage tissue substitutes. Different production techniques can be used to have best fit PVA scaffolds. In tissue engineering PVA has been used in hydrogel form which has large pores for cell immigration and capable of degradation. PVA can be used not only in hydrogel form but also cyrogel form can be used in tissue applications. In this report, PVA and PVA/Gelatin cyrogels were prepared by two methods; crosslinking with freezing–thawing method and crosslinking with glutaraldehyde and characterized. SEM images revealed that, with increasing gelatin concentration the average pore diameters increased from 3 to 45  $\mu\text{m}$ . In addition, the degradation rate, PVA/Gelatin 100:0 and 10:90 scaffolds, respectively, was measured %11 and %76. Results indicate that, the PVA/Gelatin concentration and production method effects on the architecture and characterization results of the scaffolds. PVA/Gelatin scaffolds have potential to be bio-material for tissue engineering.

**Key Words:** Polyvinyl alcohol, Gelatin, Cyrogel, Scaffolds, Tissue Engineering

**Advisor:** Assist. Prof. Dr. Nimet KARAGÜLLE, Department of Chemical Engineering, University of Mersin

## **TEŞEKKÜR**

Yüksek lisans çalışmam boyunca bilgi ve tecrübesinden yararlanma olanağı bulduğum, tez çalışmamın oluşmasında çok değerli katkılarda bulunan, güler yüzlü, sabırlı ve değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Nimet KARAGÜLLE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Sevgilerini ve desteklerini esirgemeyen, her biri birbirinden değerli canım arkadaşlarım Didem DEMİR, Zeynep ÇETİNKAYA, Cihan GEÇGEL, Işıl UYAN ve Murat OTURAKÇI'ya; ayrıca deneylerim süresince yardımlarını esirgemeyen laboratuvar sorumlumuz Naci ÖZDEMİR'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bütün eğitim hayatım boyunca büyük emek veren ve sevgisini esirgemeyen sevgili Anneme ve eşsiz babama, canım kardeşlerim Rezzan ve Ruken CEYLAN'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım

## İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>ÖZ</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLERİ</b> .....	<b>iv</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI</b> .....	<b>2</b>
2.1. DOKU MÜHENDİSLİĞİ .....	<b>2</b>
2.1.1. Hücre .....	<b>4</b>
2.1.2. Hücre Dışı Matris ve Doku İskelesi (ECM).....	<b>5</b>
2.1.3. Biyomoleküller.....	<b>6</b>
2.1.4. Doku Mühendisliği Uygulamaları.....	<b>7</b>
2.2. DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE KULLANILAN POLİMERLER.....	<b>9</b>
2.2.1. Doğal Polimerler .....	<b>11</b>
2.2.2. Sentetik Polimerler.....	<b>13</b>
2.2.2.1. Biyobozunur sentetik polimerler.....	<b>13</b>
2.2.2.2. Biyobozunur olmayan sentetik polimerler .....	<b>14</b>
2.3. POLİVİNİL ALKOL (PVA).....	<b>15</b>
2.4. JELATİN.....	<b>16</b>
2.5. ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERLE ÜRETİLEN PVA TEMELLİ DOKU İSKELELERİ VE DOKU MÜHENDİSLİĞİNDEKİ UYGULAMALARI.....	<b>17</b>
2.6. DOKU İSKELESİ ÜRETİM TEKNİKLERİ.....	<b>22</b>
2.7. POLİMERİK JELLER.....	<b>26</b>
2.7.1. Hidrojeller .....	<b>26</b>
2.7.2. Kriyojeller .....	<b>28</b>
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	<b>29</b>
<b>4. BULGULAR ve TARTIŞMA</b> .....	<b>35</b>
<b>5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER</b> .....	<b>59</b>

**KAYNAKLAR .....61**

**ÖZGEÇMİŞ.....67**



## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa

Çizelge 2.1. Doğal Polimerlerin kullanım alanları ve formları .....	12
Çizelge 2.2. Hidrojel üretiminde sıkça kullanılan sentetik ve doğal polimerler .....	27
Çizelge 3.1. PVA/Jelatin konsantrasyonlarını gösteren çizelge, %10 ve %8 polimer konsantrasyonu.....	30
Çizelge 3.2. PVA/Jelatin (PVA/Jelatin,70:30) kompozitinde farklı GA oranları tablosu, polimer konsantrasyonu %10.....	32
Çizelge 4.1 Sabit miktarda (%5) GA çapraz bağlayıcı kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PVA/Jelatin doku iskelelerinin gözenek boyutları...	44
Çizelge 4.2 Farklı oranda GA kullanılarak hazırlanan PVA/Jelatin, 70:30 doku iskelelerinin gözenek boyutları.....	49
Çizelge 4.3. % 10 toplam polimer konsantrasyon değerinde şişme ve degradasyon oranı.....	55
Çizelge 4.4 % 8 toplam polimer konsantrasyon değerinde şişme ve degradasyon oranı.....	55
Çizelge 4.5. % 10 toplam polimer konsantrasyon değerinde şişme ve degradasyon oranı.....	56
Çizelge 4.6. % 10 toplam polimer konsantrasyon değerinde şişme ve degradasyon oranı.....	57

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 2.1. Doku mühendisliğini açıklayan şema.....	3
Şekil 2.2. Etilen monomerinin polietilen polimerine dönüşme şeması.....	10
Şekil 2.3. Polimer zincir yapıları A) doğrusal, B) dallanmış, C) ağ yapıda.....	10
Şekil 2.4. PVA'nın açık formülü.....	16
Şekil 2.5. Jelatinin açık formülü.....	17
Şekil 3.1. Kriyostat cihazı görüntüsü.....	31
Şekil 4.1. Farklı sayıda ve konsantrasyonda FT uygulanarak hazırlanmış, doku iskelelerinin şişme oranı karşılaştırması A) PVA/Jelatin, 100:0, B) PVA/Jelatin ,90:10, C) PVA/Jelatin, 70:30 , D) PVA/Jelatin, 50:50, %10 toplam polimer konsantrasyonu.....	36
Şekil 4.2. Farklı sayıda FT uygulanan doku iskelelerinin SEM görüntüleri, PVA/Jelatin, 100:0, %10 polimer konsantrasyonu sırasıyla A ): FT 1, B): FT 2 ve C) : FT 3 (x1000).....	37
Şekil 4.3. Farklı sayıda FT uygulanan doku iskelelerinin SEM görüntüleri, PVA/Jelatin, 90:10, %10 polimer konsantrasyonu sırasıyla A ): FT 1, B): FT 2 ve C) : FT 3 (x1000).....	37
Şekil 4.4. Farklı sayıda FT uygulanarak hazırlanmış, doku iskelesinin (PVA/Jelatin, 100:0) FTIR spektrumu, %10 polimer konsantrasyonu.....	38
Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonda hazırlanmış, doku iskelelerinin FTIR spektrumları A) PVA/Jelatin, 100:0, B) PVA/Jelatin, 90:10, C) PVA/Jelatin, 70:30, D) PVA/Jelatin, 50:50, %10 polimer konsantrasyonu.....	39
Şekil 4.6. Farklı sayıda FT uygulanarak hazırlanmış, doku iskelelerinin degradasyon oranı karşılaştırması a) PVA/Jelatin, 100:0, b) PVA/Jelatin, 90:10, c) PVA/Jelatin, 70:30, d) PVA/Jelatin, 50:50, %10 polimer konsantrasyonu.....	40
Şekil 4.7. Sabit miktarda (%5) GA çapraz bağlayıcı kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PVA/Jelatin doku iskelelerinin şişme oranı karşılaştırması, %10 polimer konsantrasyonu.....	42
Şekil 4.8. Sabit miktarda (%5) GA çapraz bağlayıcı kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PVA/Jelatin doku iskelelerinin SEM görüntüleri (A,B,C,D x10000; E,F x1000), A) PVA/Jelatin, 100:0, B) PVA/Jelatin, 90:10, C)	

PVA/Jelatin, 70:30, D) PVA/Jelatin, 50:50, E) PVA/Jelatin, 30:70, F) PVA/Jelatin, 10:90, % 10 polimer konsantrasyonu.....43

Şekil 4.9. Sabit miktarda (%5) GA çapraz bağlayıcı kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PVA/Jelatin doku iskelelerinin FTIR spektrumları, % 10 polimer konsantrasyonu.....45

Şekil 4.10. Sabit miktarda (%5) GA çapraz bağlayıcı kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PVA/Jelatin doku iskelelerinin degradasyon oranı karşılaştırması, % 10 polimer konsantrasyonu.....46

Şekil 4.11. Sabit miktarda (%5) GA çapraz bağlayıcı kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PVA/Jelatin doku iskelelerinin görüntüleri a) PVA/Jelatin, 100:0, b) PVA/Jelatin,90:10, c) PVA/Jelatin, 70:30, d) PVA/Jelatin, 50:50, e) PVA/Jelatin, 30:70, f) PVA/Jelatin, 10:90, %10 polimer konsantrasyonu.....47

Şekil 4.12 Farklı oranda GA kullanılarak hazırlanan PVA/Jelatin, 70:30 doku iskelelerinin şişme oranı karşılaştırması, %10 Polimer konsantrasyonu.....48

Şekil 4.13. Farklı oranda GA kullanılarak hazırlanan PVA/Jelatin, 70:30 doku iskelelerinin SEM görüntüleri, ( A: %2,5 GA, B: %5 GA, C: %10 GA ve D: %15 GA), % 10 polimer konsantrasyonu.....48

Şekil 4.14. Farklı oranda GA kullanılarak hazırlanan PVA/Jelatin, 70:30 doku iskelelerinin SEM görüntüleri ( C-2,5: %2,5 GA, C-5: %5 GA, C-10: %10 GA ve C-15: %15 GA), %10 polimer konsantrasyonu.....50

Şekil 4.15. Farklı oranda GA kullanılarak hazırlanan PVA/Jelatin, 70:30 doku iskelelerinin degradasyon oranı karşılaştırması ( C-2,5: %2,5 GA, C-5: % 5 GA, C-10 : % 10 GA ve C-15 : %15 GA), % 10 polimer konsantrasyonu.....50

Şekil 4.16. Farklı çapraz bağlama tekniği ile hazırlanan PVA/Jelatin, doku iskelelerinin şişme oranı karşılaştırması, %10 polimer konsantrasyonu.....51

Şekil 4.17. Farklı çapraz bağlama tekniği ile hazırlanan PVA/Jelatin, doku iskelelerinin SEM görüntüleri, A) PVA/Jelatin, 100:0, GA %5 ve B) PVA/Jelatin, 100:0, FT3, C) PVA/Jelatin, 50:50, GA %5 ve D) PVA/Jelatin, 50:50, FT3), %10 polimer konsantrasyonu.....52

Şekil 4.18. Farklı çapraz bağlama tekniği ile hazırlanan PVA/Jelatin, doku iskelelerinin FTIR spektrumları (PVA/Jelatin, 100:0 ve PVA/Jelatin, 50:50), %10 polimer konsantrasyonu.....53

Şekil 4.19. Farklı çapraz bağlama tekniği ile hazırlanan PVA/Jelatin, doku iskelelerinin FTIR spektrumları (PVA/Jelatin, 100:0 ve PVA/Jelatin, 50:50), %10 polimer konsantrasyonu.....54

Şekil 4.20. GA ile çapraz bağlama tekniği ile hazırlanan PVA/Jelatin, doku iskelelerinin SEM görüntüleri, A) PVA/Jelatin, 90:10, GA %5, %10 polimer konsantrasyonu ve B) PVA/Jelatin, 90:10, GA %5, C) PVA/Jelatin, 30:70, GA %5, %8 polimer konsantrasyonu (A, B x10000 ve C, D x1000).....58

## 2. GİRİŞ

Doku mühendisliği tıp/mühendislik ve biyoloji bilimlerini kapsayan, insanın yaşam kalitesini yükseltmek amacıyla insan doku yapısının ve fonksiyonunun korunması ve düzeltilmesi amacıyla çalışan bir bilim dalıdır.

Mühendislik ve Tıp bilimlerinin ortak olarak çalıştığı bu bilim alanında, doku ve organların rejenerasyonu üç temel faktörün kullanılmasıyla gerçekleşmektedir. Bu faktörleri sıralayacak olursak: biyomalzemeler (doku iskeleleri), canlı hücreler ve biyomoleküllerdir (regülasyon faktörleri).

Polivinil Alkol (PVA), hidrofilik, biyobozunur ve biyouyumlu geniş bir yelpazede, çeşitli doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan sentetik bir polimerdir. Son zamanlarda PVA hidrojel doku iskeleleri özellikle doku mühendisliği alanında onarım ve yenileme için oldukça ilgi çekici bir malzeme olarak görülmektedir. PVA'nın kullanıldığı biyomedikal uygulamalar arasında kalp kapakçıkları, kornea implantları, kıkırdak doku implantları ve yapay damar üretimi görülmektedir.

Hedeflenen dokuyu taklit etmek ve üretilen doku iskelesine farklı özellikler kazandırmak amacıyla kompozit malzeme üretimleri de, doku mühendisliği uygulamalarında sık rastlanan bir uygulamadır. Bu tez çalışmasında PVA ile jelatin farklı oranlarda kullanılarak doku iskeleleri üretilmiştir. Jelatin'in seçilmesinin sebebi, biyouyumlu, biyobozunur, hücre yapışmasına kolaylık sağlayan, bir protein bağ dokusu olmasıdır.

Literatürde, farklı teknikler kullanılarak hazırlanan kompozit PVA ve PVA/Jelatin doku iskeleleri, kıkırdak, kemik, yapay damar ve deri uygulamaları için üretilerek incelenmiştir. Kriyojelyasyon olarak tanımlanan, dondurarak üretme tekniği ise; PVA temelli doku iskeleleri için çok sık rastlanan, monomerik veya polimerik başlatıcıların kısmen donmuş çözeltilerinden hazırlanmış, süper makro gözenekli üç boyutlu polimerik jel oluşumunu sağlayan bir yöntemdir.

Bu tez çalışması kapsamında, PVA ve PVA/Jelatin kriyojel doku iskeleleri üretilmiştir. Doku mühendisliği uygulamalarına yönelik üretilen bu kriyojellerin, şişme davranışı, gözenek morfolojileri degradasyon profilleri ve kimyasal özellikleri incelenerek değerlendirilmiştir.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

### 2.1. DOKU MÜHENDİSLİĞİ

Dünya’da her yıl milyonlarca insan kaza veya çeşitli felaketler sonucunda organ veya doku kaybı nedeniyle tedavi olmaktadır. Bu insanların tedavisi için her yıl Amerika’da 8 milyonun üzerinde cerrahi operasyon yapılmaktadır ve bu operasyonların yıllık toplam maliyeti \$400 milyon olarak hesaplanmıştır. Bu tür sağlık problemlerinin çözümü için doku veya organ nakli genel olarak kabul edilen bir tedavi seçeneğidir. Fakat bu yaklaşım sınırlı sayıda donör olması sebebiyle kısıtlanmaktadır. Buna örnek olarak Amerikan Kalp Birliği’ne göre 1997 yılında sadece 2300 insana kalp nakli yapılmıştır. Ancak yaklaşık olarak 40 000 kişi nakil için beklemektedir [1].

Benzer şekilde 10 000 hasta ciddi cilt yanıkları veya cilt kanseri tedavisi için tedaviye ihtiyaç duymaktadır [1].

Bu durumun bir çözümü olarak doku mühendisliğinin amacı doku ve/veya organ hasarı veya kaybı durumunda kullanılmak üzere laboratuvar koşullarında yapay olarak organ veya doku oluşturmaktır.

Doku mühendisliğindeki temel prensip; biyomalzeme, hücre ve biyosinyal moleküllerinin tek başlarına veya kombinasyonlarının kullanılmasıdır. [2].

‘Doku mühendisliği’ terimi ilk olarak 1987’de California Üniversitesi’nden Dr. Y.C. Fung tarafından NSF’nin (National Science Foundation) bir toplantısında dile getirilmiştir. Bilimsel çevrelerin ‘Doku Mühendisliği’ konusuna odaklanması ise iki makale ile olmuştur [3]. Bunlardan biri Nerem tarafından 1991’de ‘Hücre Mühendisliği’ konusunda, diğeri ise Langer ve Vacanti tarafından 1993’te Science dergisinde “Doku Mühendisliği” başlığı altında yayınlanmıştır [3]. Temel bilimciler, malzeme bilimciler, mühendisler, hücre biyologları ve klinisyenlerin ortak katkılarıyla doku mühendisliği günümüzde bütünüyle disiplinler arası bir bilim dalı haline gelmiştir. Doku mühendisliğinde klinikte kullanılabilecek çeşitli ürünlerin üretilbileceği aşamaya gelinmiştir [3, 4].

Doku mühendisliği tanımına göre; biyomalzeme, hücre ve biyosinyal molekülleri tek başlarına veya kombinasyonları halinde, insan doku yapısının ve

fonksiyonunun korunması ve düzeltilmesi amacıyla kullanılabilir. Bu tanıma göre doku mühendisliği için dört yaklaşım mevcuttur diyebiliriz. Birinci yaklaşım yeni dokunun oluşumu için yalnızca biyomalzeme kullanırken, ikinci yaklaşım ise yalnızca hücreleri kullanarak 'hücre nakli' olarak adlandırılan tedaviyi gerçekleştirmeyi amaçlamaktadır. Hücreler, canlı dokulardan izole edilen hücreler olabileceği gibi, genetik olarak işlem görmüş hücreler de (bu durum gen tedavisi olarak adlandırılır) olabilir. Üçüncü yaklaşım ise, biyomalzeme ile biyosinyal moleküllerini (yapışma ve büyüme faktörleri) birlikte kullanmaktadır. Dördüncü yaklaşım (ki, bu üzerinde en çok çalışılan yaklaşımdır) biyomalzeme, hücre ve biyosinyal moleküllerinin üçünü bir arada kullanarak yeni doku oluşturmayı hedeflemektedir. Yeni doku veya organları oluşturacak şekilde, hücre üremesini yönlendirmek ve gerekli mekanik desteği sağlamak için biyomalzemelerden üç boyutlu (3D) boyutlu doku iskeleleri (tissue scaffold) üretilir.

Doku mühendisliğinde istenilen dokuyu oluşturabilecek işlevselliğe sahip hücreler uygun bir malzemeden hazırlanan doku iskeleleri ile birleştirilerek hibrid sistemler oluşturulmaktadır. Doku iskelesi, hücrelerin organize olarak işlevsel bir dokuya dönüşebilmelerinde gerekli desteği sağlamaktadır [5].

Bir doku mühendisliği ürünü;

- İnsan hücresi içerir ve mühendislik ürünü dokulardan oluşur.
- Dokuyu; yenileyici, onarıcı veya dokunun yerine geçebilecek özelliklere sahip olmalıdır. Bir başka deyişle tamamen veya fonksiyonel olarak, oluşturulan yapay doku gerçek dokuyu taklit edebilmelidir [6].

Şekil 2.1.'de görüldüğü gibi hücre ve biyomalzeme uygun koşullarda bir araya getirilerek, canlı vücuduna yeni dokuyu oluşturmak üzere implante edilir.



Yapay olarak üretilen doku iskelesi; hücre yapışmasını ve üremesini sağlayacak bir yüzeye, üç boyutlu yapıyı koruyabilecek fonksiyona sahip olmalıdır. Ayrıca bu özelliklere ek olarak büyüme faktörlerinin salınımını sağlayabilecek bir mühendislik ürünü olmalıdır [7, 8].

### 2.1.1. Hücre

Doku mühendisliği uygulamalarının temelini oluşturan diğer birim hücredir. Uygun dokudan izole edilen hücre, özellikleri belirlendikten sonra yeterli sayı ve kalitede hedef organa enjekte edilmektedir. Bu hücrelerin nereden sağlanacağı ise kilit noktadır. En iyi yaklaşım, hastanın sağlıklı bölgesinden alınan hücrelerin (otolog hücre) vücut dışında hazırlanan hücre kültürlerinde çoğaltılarak hastaya nakledilmesidir. Otolog hücrenin bağışıklık sistemince reddedilmemesi en büyük avantajdır; ancak çoğunlukla üretim için gerekli olan minimum sayıdaki hücrenin alınması bile hastada doku kaybına neden olabilmektedir [4, 9]. Bu yöntem özellikle yaşlılarda pek kullanılmamaktadır. Hücrelerin başka insandan alındığı durumdaysa, bağışıklık sisteminin reddi en büyük risktir. Çoğu zaman verici (donör) bulmakta da zorluklar yaşanmaktadır. Bazı durumlarda farklı türlerden, örneğin, hayvandan insana hücre nakli yapılabilmektedir. Fakat bağışıklık sistemince reddedilmenin yanı sıra, hayvanlarda görülen virüslerin insana bulaşma ihtimali de yüksek bir olasılıktır [10].

Kaynaklarına göre hücreleri sınıflandırmak gerekirse;

**Otolog hücreler** : Canlının kendisinden alınan hücrelerdir.

**Allojenik hücreler** : Farklı bir insandan alınan hücreler,

**Zenojenik hücreler** : Farklı bir canlı türünden alınan hücreler

Allojenik ve zenojenik kaynaklardan elde edilen hücrelerle ilgili olarak hastalarda bağışıklık sistemi ret cevapları oluşturabilmektedir. Otolog hücreler en iyi seçim olarak görünse de, hastada iltihap gibi donör saha morbiditeleri gelişebilmektedir [4, 9, 10, 11].

Ayrıca bu duruma ek olarak, hücreler farklılaştırılmış olabilir (kök hücre) veya farklılaştırılmadan kullanılabilir. İlk durumda hücre fenotip ve fonksiyonları iyi tanımlanmıştır ancak bu durum sınırlı çoğalma kapasitesine de eşlik etmektedir. Bu



durumun aksine kök hücreler, uzun dönemde kendini yenileyebilir ve farklı işaretlere maruz kalma durumuna göre indüklenebilir [11].

### 2.1.2. Hücre Dışı Matris (ECM) ve Doku İskelesi

İnsan vücudu hiyerarşik biçimde düzenlenmiş son derece karmaşık bir yapıdır. Vücudumuz sistemlerden, sistemler organlardan, organlar dokulardan, dokular ise hücreler ve hücre dışı matristen (extracellular matrix, ECM) oluşmaktadır. Hücrelerin bir araya toplanması ve doku yenilenmesinin gerçekleşmesinde ECM'nin fonksiyonu ve önemi birçok araştırmacı tarafından vurgulanmıştır. Hücre dışı matris, hücreler için üç-boyutlu bir mikro çevre oluşturmaktadır.

Hücre dışı matris, hücrelere fiziksel bir destek sağlamasına ek olarak hücre-hücre etkileşimlerini organize eder ve hücrelerin yapışması, çoğalması, göçü, farklılaşması ve matris birikimi için çeşitli biyofiziksel ve biyokimyasal uyarıları yapar [1, 3].

Doku iskeleleri ECM'yi taklit edecek biçimde tasarlanan yapılardır ve yapay 'hücre dışı matris' olarak düşünülebilirler.

Doku mühendisliğinin temel bileşenlerinden biri olan doku iskeleleri, hücreler için uygun yapışma yüzeyi oluşturmalarının yanı sıra, mekanik dayanım sağlamakta, fizyolojik ve biyolojik değişikliklere cevap vermek için çevre doku ile etkileşimin kurulmasına yardımcı olmakta; ayrıca yeniden hücre dışı matrisin oluşumuna katkıda bulunmaktadır.

Doku iskelesi üretiminde kullanılacak malzemelerin seçimi çok önem arz etmektedir. Doku iskelesi üretiminde kullanılacak malzemede olması gereken başlıca özellikler şunlardır:

- Malzeme biyouyumlu olmalıdır, yani vücut içine yerleştirildiğinde istenmeyen doku tepkilerine yol açmamalıdır [3]. Başka bir deyişle toksik olmamalıdır.
- Hücre yapışmasını, işlevini artırıcı; hücre üremesine olanak sağlayan yüzey kimyasına sahip olmalıdır [3,7].

- Hücreler yeni ECM'yi oluşturacak kapasiteye ulaştıklarında iskeleye ihtiyaç kalmayacağından, doku iskelesinin vücut ortamında parçalanabilen bir malzemeden (biyobozunur madde) üretilmesi gerekmektedir [3].
- Malzeme parçalanırken biyouyumluluğunu kaybetmemeli ve zehirli degradasyon ürünleri oluşturmamalıdır [3].
- Ayrıca, hücrelerin ve besinlerin geçişini sağlayacak şekilde yüksek gözeneklilik oranına ve uygun gözenek büyüklüğüne sahip olmalıdır [3, 12].

Bu özelliklere sahip malzemeler arasında doğal polimerler (kollajen, kitosan, hyaluronik asit, aljinat), sentetik polimerler (poliglikolid, polilaktit, polilaktat glikolat), biyoseramiklerden (trikalsiyum fosfat, hidroksiapatit) üretilmiş doku iskelelerini saymak mümkündür. Bir önceki cümlede bahsedilen malzemelerin işlenmesi sonucu üretilen doku iskeleleri, gerek kimyasal bileşim, gerekse fiziksel yapı bakımından doğal ECM'nin yapısını ve biyolojik işlevini mümkün olduğunca iyi bir şekilde taklit etmelidir [3].

Mekanik özellikleri iyileştirmek ve hücre yapışmasını ve çoğalmasını sağlamak için, nanopartiküller (örneğin, apatit bileşen, karbon nano yapılar ve metal nanopartiküller) yoğun bir şekilde araştırılmaktadır [13]. Bunlara ek olarak, belirtilen bu malzemelerde biyouyumluluk özelliğinin olması gerekmektedir. Ayrıca bu malzemeler vücutta enfeksiyona neden olabilecek yapıda olmamalı veya vücuda zarar verebilecek toksik ürün oluşturma riski taşımamalıdır. Doku iskeleleri enfeksiyonu önleyebilmek için, kolay sterilize olabilmelidir. Doku iskeleleri, özellikle kemik doku mühendisliğinde %90 gözenekliliğe sahip olmalıdır. Bu gözeneklerin çapının ise hücre penetrasyonu, vaskülarizasyon ve doku gelişimi için 100 µm boyutlarında olması gerekmektedir [8, 13, 14].

### 2.1.3. Biyomoleküller

Vücudun doğal işleyiş mekanizmasında çok önemli roller üstlenen biyosinyal molekülleri, izole edilerek, rekombinant DNA teknolojilerindeki gelişmeler sayesinde büyük ölçekli miktarlarda üretilmekte, klinik tedavilerde ve doku mühendisliğinde kullanılabilmektedir. Doku mühendisliği çalışmalarında, biyosinyal molekülleri hücre kültür ortamında destekleyici olarak kullanılabileceği gibi çeşitli yöntemlerle doku iskelelerine de yüklenebilirler. Bu proses ile doku

iskeleleri vücuda implante edildiklerinde, bu doku iskelelerinin hasarlı bölgedeki hücrelere de etki edebilmeleri amaçlanmaktadır [9].

Doku mühendisliği çalışmalarında büyük bir öneme sahip olan kemik doku mühendisliğinde, kemik dokunun yeniden yapılanmasında rol oynayan büyüme faktörlerinin başında; BMP (bone morphogenetic protein), TGF-, (transforming growth factor - dönüştürücü büyüme faktörü), PDGF (platelet derived growth factor - trombositten türemiş büyüme faktörü ) ve VEGF (vascular endothelial growth factor – damar endoteli büyüme faktörü) gelmektedir. Bu büyüme faktörleri osteojenik farklılaşmayı, tek başlarına veya birlikte hareket ederek etkilemektedir. Bu nedene bağlı olarak, doku mühendisliği uygulamalarında büyüme faktörlerinin kullanımı zorunlu hale gelmektedir. Ancak bu faktörlerin implante edilecek doku iskelesinin yüzeyine doğrudan enjekte edilmesi durumunda, kararsız kimyasal yapıları, yarı ömürlerinin kısa olması ve doku içerisine yeterince alınamamalarından dolayı, etkin sonuçlar elde edilememektedir. Bu nedenle büyüme faktörlerinin taşıyıcılara yerleştirilerek, kontrollü ve uzun süreli salımı gündeme gelmektedir ve araştırılmaya devam etmektedir. Bu amaçla; biyouyumlu, biyobozunur, sentetik veya doğal polimerlerden (kollajen, kitosan, aljinat) ya da inorganik malzemelerden (HA, trikalsiyumfosfat) elde edilen taşıyıcılar kullanılmaktadır [3].

#### 2.1.4. Doku Mühendisliği Uygulamaları

Doku mühendisliğinin hastalık, kazalar veya işlev göremeyen doku ya da organın yerine yenisinin oluşturulması, bu alanda canlı yaşamın normal biçimde devam etmesi için yapılan çalışmaların disiplinler arası bir bilim dalıdır [5].

Doku mühendisliğinin prensiplerinin tanımlanmasından itibaren, doku iskelelerine hücre ekilmiş birçok ürün ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Ticari ürünler arasında çoğunlukla kemik, kırık ve deri benzeri doku iskeleleri vardır. Ancak kalp, sinir, böbrek veya pankreas ile ilgili doku mühendisliği ürünleri henüz yaygınlaşmamıştır. Karaciğer ve damar gibi doku mühendisliği ürünleri de, araştırmaları devam eden, doku çalışmaları arasındadır [7, 11].

Aşağıda, bazı doku mühendisliği ürünleri örneklerine yer verilmiştir:

#### Karaciğer;

Karbonhidratların, proteinlerin, lipidlerin sentezi, depolaması hatta serbest bırakılması da dahil olmak üzere geniş bir spektrum içinde önemli bir rol oynar. Aynı zamanda, karaciğer detoksifiye ve endojen ve ekzojen maddeler inaktive eder ve öncü molekülleri de aktive eder. Buna bağlı olarak yapay karaciğer, doku dizaynı karaciğer için kritik önem taşımaktadır, çünkü hepatositler bağımlı, ekli hücrelerdir ve bu hücreler optimal ECM olmadan özel işlevlerini kaybederler [7]. Aynı zamanda cerrahi müdahalelerin sonuçlarının da tahmin edilebilir olabilmesi için, yapay olarak üretilen bu yapılar kullanılabilir ve beklenen sonuçlara göre (hasar ve hasarın onarılması süreci) önlem alınabilir [15].

#### Kıkırdak;

Diz eklem kıkırdağı, iki uzun kemiklerin arayüzünde ortak sürtünmeyi azaltmak için özelleşmiştir ve sadece avasküler yapıda kondrositler içermektedir [7].

Hasarlanmış eklem kıkırdağının kendi kendine yenilenmesi ve onarımı, kıkırdak dokunun zayıf içsel yenilenme kapasitesi nedeniyle aşılması gereken, güç bir durumdur. Bununla birlikte, doku mühendisliğinin ortaya çıkması ile birlikte, kıkırdak ile ilgili hastalıkların tedavi edilmesi için devrimci ve yenileyici bir potansiyel ortaya çıkmıştır. Bu teknoloji, kıkırdak bozukluğu için, ECM benzeri, doku iskelelerine eklenmiş, otolog veya allojenik kondrositlerin implantasyonlarını kapsamaktadır [7, 16, 17].

#### Kemik;

Kemik doku mühendisliğinde kilit nokta, önemli bir bileşen olan ECM'nin, kemik oluşumu gibi hizmet edecek bir yapıya, hücre etkileşimleri için bir şablon olmasıdır. Diğer bir kilit nokta ise, ECM'nin yeni oluşturulan doku için yapısal destek sağlamasıdır. Yapay kemik doku mühendisliği için yapay ECM'nin biyouyumluluk, benzer mekanik özellikler, gözeniklilik gibi özelliklere ek olarak; osteoblast ve mezankimal hücrelerin proliferasyon, vaskülarizasyon, geçişini sağlayabilecek karakteristik özelliklere sahip olması gerekmektedir [7].

### Deri;

Doku mühendisliği cilt ürünleri, ticari olarak mevcuttur. Doku mühendisliği cilt uygulamalarında, laboratuvar kullanımından klinik uygulamaya geçilmiştir. Doku mühendisliği deri ürünleri ticari olarak mevcut olmasına rağmen, deri dokusu mühendislik araştırmaları, ek uygulamalar için ilerlemeye ve araştırmaya gereksinim duymaktadır. Doğal ECM proteinleri ve sentetik polimerler birleştirilerek ve geliştirilerek birçok yapay ECM deri ürünü üretilmiştir [7].

2003 yılında Avrupa’da, 35 adet doku mühendisliği ticari ürününün bulunduğu ve tanımlandığı bilinmektedir. Bu ürünlerin 18 tanesi deri ürünü iken, 15 ürün kırık ve 2 ürün kemik doku mühendisliği alanındadır [6].

### Damar;

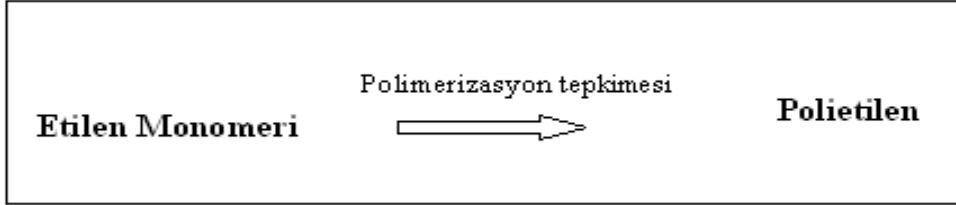
Doku mühendisliğinin bir alt alanı olan damar doku mühendisliği, fonksiyonel, biyo-yapay implante ürünlerin geliştirilmesi ile ilgili bir bilim dalıdır [18]. Kalp ve damar cerrahisinde, yapay damar geliştirme çabaları, artan ve genişleyen bir ilerleme alanıdır. Ancak bu alanda karşılaşılan damar çapı daralması problemi, araştırmacıların aşmaya çalıştıkları kilit bir noktadır [19].

Bununla birlikte, damar iç yüzeyinde bulunan endotel tabakanın sıyrılmaya seviyesi bir diğer önemli noktadır. Endotel astar mukavemeti, implantasyondan sonra kan akımı şartlarına karşı yeterli olmalıdır. Endotel yapışma/eklenme gücü ise; alttaki yapay olarak üretilen doku iskelesinin sertliği ve diğer fiziksel özelliklerine bağlıdır [19].

## 2.2. DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE KULLANILAN POLİMERLER

Polimer, küçük, tekrarlanabilir birimlerin oluşturduğu uzun zincirli moleküllere denir. Tekrarlanan birimler, ‘mer’ olarak adlandırılır. Polimer sentezine başlarken kullanılan küçük molekül ağırlıklı birimlere ‘monomer’ adı verilir. Polimerizasyon sırasında, monomerler doygun hale gelerek (zincir polimerizasyonu) veya küçük moleküllerin yapıdan ayrılmasıyla ( $H_2O$  veya  $HCl$ ) değişir ve ‘mer’ halinde zincire katılırlar. Polimerlerin özellikleri, yapı taşları olan monomerlerden büyük farklılık gösterir [20].

Genellikle monomerler, karbon ve hidrojen atomlarından oluşurlar ve bu durumda polimer yapısı uzun hidrokarbon zincirine sahiptir. Bu tür monomerlerin en basiti ‘etilen’ dir. ( $H_2C=CH_2$ ) ve oluşturduğu polimer de ‘polietilen’ olarak adlandırılır. Çok sayıda etilen molekülü yapılarındaki çift bağın açılması sonucu, kovalent bağlarla bağlanarak polietilen zincirini oluştururlar (Şekil 2.2) [3, 20].

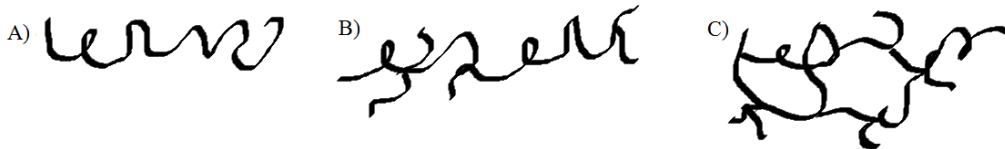


Şekil 2.2. Etilen monomerinin polietilen polimerine dönüşme şeması

Genellikle ‘polimer’ denildiğinde akla gelen, bu hidrokarbon zincirine sahip ‘organik polimerler’ dir. Ancak, hidrojen ve karbon atomlarından başka atomlardan meydana gelen polimerler de vardır. Örneğin, silisyum (Si), azot (N), ya da fosfor (P) atomlarından oluşan polimer zincirleri de vardır ve bu tür polimerler ‘inorganik polimerler’ olarak adlandırılır.

Polimer zincirleri, doğrusal yapıda, yani düz bir çizgi halinde olabileceği gibi, ‘dallanmış’ yapıda da olabilirler. Bu yapılar, polimer ana zincirine diğer zincirlerin yan dal olarak bağlanmasıyla oluşurlar. Bu yan dallar başka bir ana zincirle bağlandığıdaysa, “çapraz-bağlı” polimerler oluşur. Dallanma, polimerlerin uygun çözücülerdeki çözünürlüğünü zorlaştırır, çapraz-bağlı yapılar çözünmeyip, sadece yapılarına çözücüyü alarak şişerler [20].

Şekil 2.3’de farklı ağ yapısı şekilleri görülmektedir. Çapraz bağlı polimer yapılarının suya karşı dirençli olması veya suda çözünmemesi doku mühendisliği açısından önemlidir.



Şekil 2.3. Polimer zincir yapıları A) doğrusal, B) dallanmış, C) ağ yapıda

### 2.2.1. Doğal Polimerler

Doğal polimerler, biyolojik olarak üretilen ve benzersiz işlevsel özelliklere sahip olan polimerlerdir. Proteinler (örneğin kollajen, jelatin, elastin, aktin, vb), polisakkaritler (selüloz, nişasta, dekstran, kitin, vb) ve polinükleotidler (DNA ve RNA) başlıca doğal polimerlerdir. Yaşayan organizmaların karmaşık yapılarından dolayı üretim maliyetlerinin yüksek oluşu ve yeterince büyük ölçeklerde üretilmemeleri, bu polimerlerle ilgili karşılaşılan başlıca sorunlardandır. Doğal polimerler, sahip oldukları işlevsel özellikler nedeniyle değişik kullanım alanlarına sahipler.

Kalınlaştırıcı, jel yapıcı, bağlayıcı, dağıtma ajanı, kayganlaştırıcı, yapıştırıcı ve biyomalzeme olarak kullanılabilirler [3].

Doğal polimerler, biyomalzeme alanının vazgeçilmez kaynaklarıdır. Biyolojik ortamdaki makro moleküllerin benzeri veya aynısı olduklarından, canlı vücuduyla temas ettiklerinde toksik etki gösterme, enfeksiyona sebep olma, gibi istenmeyen reaksiyonlara sebep olmazlar.

Ancak, elde edildikleri kaynağa bağlı olarak bileşimlerinin değişmesi, yüksek sıcaklıklarda bozunmaları ve bu nedenle şekillendirilmelerindeki güçlük ve tüm bunların ötesinde immünojenik olmaları (bağışıklık tepkisine yol açmaları) önemli dezavantajlarıdır. Enzim varlığında yapılarının bozunması, yani biyobozunur olmaları ise geçici uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler açısından avantajdır [3].

Kollajen & Jelatin: Kollajen kelimesi Yunanca iki kelimenin türevinden gelir; ‘kolla’ ve ‘gennan’ ‘kolla’ zamk/tutkal anlamında olup, ‘gennan’ yapan/oluşturan anlamındadır. Kollajen kaynatıldığı zaman tutkal oluşturan doku bileşimi olarak tanınmış ve bu şekilde adlandırılmıştır. Pliny, M.Ö. 50’lerde Romalıların yaptığı zamkı ‘zank, boğa derilerinin pişirilmesidir’ olarak belirtmiştir. Son yapılan çalışmalarda yapısal olarak 19 farklı kollajen molekülü ve bunları kodlayan gen bilgileri belirlenmiştir. İnsan vücudunda yer alan kollajenlerin büyük çoğunluğunun ekstraselüler (hücre dışı) lifimsi ya da ağ benzeri (network) yapıda olduğu bilinmektedir [10].

Çizelge 2.1’de açıklamaları verilen, doğal polimerlerin kullanım şekilleri ve kullanım alanları belirtilmiştir.

Çizelge 2.1. Doğal Polimerlerin kullanım alanları ve formları

Kullanım Şekli	Kullanım Yeri
Çözelti/jel	Kozmetik Kozmetik deri defektlerinde enjekte edilebilir İlaç salım sistemi Biyoprotezlerin kaplanması Üç boyutlu hücre kültürü
Sünger	Hemostatik ajan Üç boyutlu hücre kültürü Yara ve deri örtü materyali İlaç salım sistemi
Küre/mikroküre	Hücre kültürü için taşıyıcı İlaç salım sistemi
İnce içi boş tüp	Hücre kültür matrisi Tübüler doku malzemesi Sinir hücre rejenerasyonu
Membran	Yara örtü materyali Diyaliz membranı Yamalar Kornea koruyucusu Doku rehberli rejenerasyon Bel kemiği cerrahisi
Toz Rijit form	Kemik dolgu ve onarımı ilaç salım sistemi Kemik onarımı

Kollajen: Suda çözünmeyen, yüksek gerilim gücüne sahip bir protein ve bağ dokusu ile tendonlarda fibroblastlar, dişte odontoblastlar kollajen sentezleyen



özelleşmiş hücreler olarak bilinmektedir. Vücutta bağ dokunun ana bileşeni olan kollajen, toplam vücut proteinlerinin yaklaşık 1/3'ünü oluşturmaktadır.

Lifimsi, alfa - heliks yapısı, kollajene yüksek gerilme ve direnç sağlar. Kollajen moleküllerinin gerilme ve sıkışmaya karşı dirençli olmaları, bu grup proteinlerin biyolojik fonksiyonları açısından oldukça önemlidir. 1 milimetre çapındaki kollajen, 10 kilogram yükü taşıyabilecek dirençtedir [3].

Kitin & Kitosan: Kitin; uzun ve doğrusal yapıya sahip bir polisakkarittir. Yapısı, selüloza çok benzemektedir. Kitin, genel olarak yengeç, karides, midye gibi bazı deniz kabuklularının, istiridye kabuğu, mürekkep balığı iskeleti gibi bazı deniz yumuşakçalarının ve sinek, çekirge, örümcek gibi bazı böceklerin kabuklarında yer almaktadır. Kitosan, kitinin alkalın deasetilasyonu ile elde edilen amorf yapıda bir poliaminosakkarit ve doğal olarak meydana gelebilen birkaç katyonik polielektrolitten biridir. Kitosan üretiminde hammadde olarak kitin kullanılmaktadır ve Japonya ve ABD'de ticari olarak üretilmektedir [10].

İpek: farklı kaynaklardan (ipek böceği, örümcek) elde edilebilen bir doğal polimer olduğu için kaynağına göre, amino grup asit dizilimleri ve bazı özellikleri değişim göstermektedir. Bu nedenle, yapısal bir protein olan ipek biyouyumlu, biyobozunur, yüksek mekanik dayanıma sahip, kolaylıkla işlenebilir bir grup malzemeyi temsil etmektedir. Bu özelliklerinden dolayı ipek, ilaç salım sistemi ve doku iskelesi olarak doku mühendisliği uygulamalarında tercih edilen bir polimerdir [9].

## 2.2.2. Sentetik Polimerler

### 2.2.2.1. Biyobozunur sentetik polimerler

Sentetik polimerler özellikle ortopedik cerrahide fiksasyon ve dikiş materyali formlarında güvenle ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Kıkırdak doku mühendisliğinde de hücrelerin yerleştirildiği üç boyutlu iskeleti oluşturmak için çok değişik sentetik polimer seçenekleri üzerinde durulmuştur. Sentetik ve biyobozunur polimerler aşağıdaki sınıflandırılabilirler [10];

- ✓ Poli (alkilsiyanoakrilatlar) - (PACA)
- ✓ Poli ( $\alpha$ -hidroksi asitler)

- ✓ poli (laktik asit) - PLA
- ✓ poli (glikolik asit) - PGA
- ✓ poli (laktik –ko-glikolik asit) - PLGA
- ✓ Poli (ortoesterler)
- ✓ Poli (amino asitler)
- ✓ Poli (kaprolakton)
- ✓ Poli (üretan)

Poli  $\alpha$ -hidroksi asitler (poliglikolik asit, polilaktik asit) poli-laktik-ko-glikolit (PLGA) kopolimeri, ortopedik cerrahide oldukça yaygın klinik uygulamaları olan polimerlerdir. Biyobozunur özellikteki bu polimerlerin bozunma ürünleri vücuttan kolayca uzaklaştırılabilir özelliktedir. Bu grup polimerler kütleli bozunma özelliğindedir. Bu durumda ortama aniden büyük miktarda yıkım ürünü salınabilir. Polimerin molekül ağırlığına göre bozunma süresi değişir. Ortaya çıkan yıkım ürünleri asidiktir. Eğer çevre doku iyi kanlanamıyorsa ve metabolik aktivitesi düşükse biriken artıklar inflamatuvar reaksiyona neden olabilmektedir. Yıkım ürünü olarak karşılaştırıldığında, polilaktik asitin (PLA) ürünü olan laktik asit, poliglikolik asitin (PGA) ürünü olan glikolik aside göre daha biyoyumludur [9].

Doku mühendisliğinde kullanılan bir başka poli- $\alpha$ -hidroksi asit,  $\epsilon$ -kaprolaktondur. Tendon ve kemik kayıplarında ümit verici sonuçlar elde edilen bu polimerin biyoyumluluğu dikkat çekicidir [10,17].

#### 2.2.2.2. Biyobozunur olmayan sentetik polimerler

Polietilen (PE): Tıbbi uygulamalarda yüksek yoğunluklu formda kullanılır. Çünkü düşük molekül ağırlıklı PE sterilizasyon sıcaklığına dayanamaz. PE, tüp formundaki uygulamalarda ve kateterlerde, çok yüksek molekül ağırlıklı olanıysa yapay kalça protezlerinde kullanılır. Malzemenin sertliği iyidir ve ucuzdur [10].

Polipropilen (PP): PE'e benzer, ancak daha sert bir polimerdir. Kimyasal direnci yüksek ve çekme dayanımı iyidir. PE 'nin yer aldığı uygulamalarda kullanılabilir [10].

Politetrafloroetilen (PTFE): Teflon ticari adıyla bilinir. PE benzeri yapıda olup, PE'deki hidrojenlerin, flor atomlarıyla yer değiştirmesi sonucu sentezlenir.

Hem ısısal, hem de kimyasal açıdan çok kararlı ancak, işlenmesi zor bir polimer. Çok hidrofobik ve mükemmel kayganlığa sahip olma özelliği taşımaktadır. Gore-Tex olarak bilinen hidrofobik formu, damar protezlerinde kullanılmaktadır [10].

Polidimetilsiloksan (PDMS): Yaygın olarak kullanılan bir diğer polimer olmakla birlikte, karbon ana zinciri yerine silisyum oksijen ana zincirine sahiptir. Özelliği ise, diğer kauçuklara nazaran sıcaklığa daha az bağımlı olmasıdır. PDMS, drenaj borularında ve kateterlerde, bazı damar protezlerinde ve yüksek oksijen geçirgenliği nedeniyle membran oksijenatörlerde (solunum cihazları) kullanılır. Mükemmel esneklik ve kararlılığından dolayı ise parmak eklemleri, kan damarları, kalp kapakçıkları, göğüs implantları, dış kulak, çene ve burun implantları gibi çok sayıda protezde kullanılmaktadır [10].

Polivinilklorür (PVC): Tıbbi uygulamalarda tüp formunda kullanılır. Bu uygulamalar, kan nakli, diyaliz (kanın makineyle süzülmesi) ve beslenme amaçlı olabilir. PVC, sert ve kırılabilir bir malzeme olmasına karşın, plastikleştirici ilavesiyle yumuşak ve esnek hale getirilebilir. PVC, uzun dönem uygulamalarda, plastikleştiricinin yapıdan sızması nedeniyle problemlere yol açmaktadır. Plastikleştiriciler düşük zehirliliğe sahiptir. Yapıdan sızmalarıysa, PVC'nin esnekliğini azaltır [10].

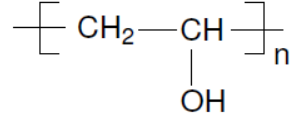
### 2.3. POLİVİNİL ALKOL

Polivinil Alkol (PVA), hidrofilik, biyobozunur ve biyouyumlu geniş bir biyomedikal alanda kullanılan sentetik bir polimerdir. Son zamanlarda PVA hidrojeller özellikle doku mühendisliği alanında onarım ve yenileme için oldukça ilgi çekici bir malzeme olarak görülmektedir. PVA'nın kullanıldığı alanlar arasında kalp kapakçıkları, kornea implantları ve kırık doku implantları bulunmaktadır [21, 22].

PVA'nın hidrojel haline dönüştürülmesi, diğer birçok hidrojele göre kan hücreleri ve proteinlerle daha az etkileşime girmesi, biyouyumlu olması, düşük yüzey gerilimi, esnek ve yumuşak olması, pozitif özellikleridir. Bu özelliklere ek olarak yüksek su içeriği, canlı dokuyla uyum sağlayabilmesi sebebiyle de medikal alanda geniş kullanım alanı bulmaktadır [23].

PVA, hidroksil gruplarıyla birlikte basit bir kimyasal yapıya sahiptir. PVA, vinil asetatın, polivinil asetata (PVAc) polimerleşmesi ve sonra da PVAc'nin

hidrolizi sonucunda üretilir. PVA'nın kimyasal yapısı Şekil 2.4.'de verilmiştir [24, 25].



Şekil 2.4. PVA'nın açık formülü

PVA, hafif kokulu, beyaz, granüler haldedir. Suda çok az çözünür. Özgül ağırlığı ise 1,19 - 1,31 gr/dm<sup>3</sup> arasındadır. Sulu çözeltisi nötral veya hafif asidik karakterdedir. Erime noktası 200 °C (392 °F) dir. Ticari PVA yüksek hidroliz derecesiyle (%98,5 in üzerinde) elde edilebilmektedir. Hidroliz derecesi ve polimerleşme PVA'nın çözünürlüğü üzerinde etkilidir.

Hidrofilik polimer malzemeler sulu çözeltilerde şişerler, eğer çok hidrofiliklerse mekanik dirençlerini kaybederler. Bu nedenle hidrofilik ve hidrofobik özelliği dengede tutmak gerekir. Bu amaçla malzemelerin bu özellikleri uygun bir çapraz bağlamayla kontrol edilmelidir. Hidroksil, amin, karboksilat, sülfonat ve dörtlü amonyum grupları gibi çeşitli organik gruplar bu amaçla kullanılabilir. Literatürde PVA'nın çapraz bağlanması için sülfosüksinik asit (SSA), glutraldehit (GA), borik asit, maleik asit (MA), fosfotungustik asit (PWA) kullanılan çalışmalar mevcuttur. Sülfonlanmış polimerlerin membran olarak kullanılması, sülfonasyon derecesinin kontrolünün kolay olmasından dolayı, en çok araştırılan yöntemdir [26, 27].

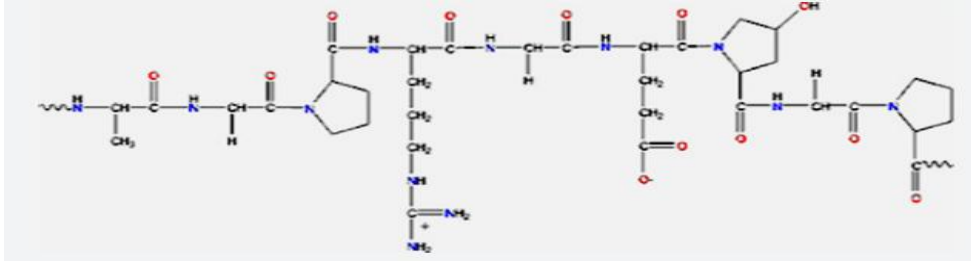
Çapraz bağlama iki veya daha fazla molekülün kovalent bağ ile kimyasal olarak birbirine katılması prosesidir.

#### 2.4. JELATİN

Jelatin kollajenin kısmi hidrolizi, ile elde edilen bir proteindir. Deri, kemik, hayvan vücudunun beyaz bağ dokusunda bulunan baş proteindir [28]. Hidroliz prosesi tersinir değildir. Yani jelatin kollajen fibriler yapıdan yoksundur, ama yine de hücre bağlanma dizilerini içerir ve bir proteinin özelliklerini sergilemektedir. Ekstraksiyon ve saklama kolaylığı ve düşük maliyeti, jelatini biyomedikal alanında yaygın olarak kullanılan bir biyomakromolekül yapar [18].

Tip A jelatin kollajen hammaddesinden asit işlemi ile üretilen bir ürün iken; B tipi jelatin, alkalın veya kireç işlemi ile üretilir Hayvan malzemesinden elde edilen tutkal kullanımı Mısır'da M.Ö 4000 yıllarına dayanır. 17. yüzyılın sonlarına doğru ise ticari jelatin üretimi başlamıştır [28].

Polimer karışımlarının hazırlanmasında jelatinin seçilmesinin birçok nedeni bulunmaktadır. İlk olarak, jelatin, toksik olmayan, tahriş edici olmayan bir protein bağ dokusudur. Buna ek olarak biyolojik parçalanabilirliği ile biyoyumluluğu diğer pozitif yönleridir. Bu nedenle de, yaygın olarak gıda, farmakoloji ve kozmetik uygulamalarda kullanılmaktadır [29]. Doku uygulamalarında ise hücre yapışmasını sağlaması nedeniyle tercih edilen doğal bir polimerdir [18]. Şekil 2.5'de jelatinin açık formülü belirtilmiştir [28].



Şekil 2.5. Jelatinin açık formülü [28]

## 2.5. ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERLE ÜRETİLEN PVA TEMELLİ DOKU İSKELELERİ VE DOKU MÜHENDİSLİĞİNDEKİ UYGULAMALARI

Liu ve ark, gözenekli, yuvarlak, transparan ve çekirdekli yapay kornea olarak tasarlanan, grafit/PVA hidrojelleri, dondurma/çözdürme prosesi (Freeze/Thaw, FT olarak belirtilmektedir) ve parçacık parçalama tekniği ile hazırlamışlardır. Üretilen biyomalzemenin karakteristik yapısını gösteren, şişme oranı, mekanik dayanımı, gözeneklilik morfolojisini inceleyerek, grafit ile PVA arasındaki ilişkiyi göstermişlerdir. Dokunun grafit/PVA ve saf PVA'dan üretilen hidrojele olan tepkisi, farenin dorsal kaslarında çalışılmıştır. Sonuçlar neticesinde, bu iki bazın kombinasyonundan faydalanarak, bileşik içerisinde PVA ile grafit arasında kimyasal etkileşim olduğu görülmüştür. Fakat PVA hidrojelinin içinde grafit bulunması, üretilen malzemenin mekanik özelliğini ve su içeriğini düşürmüştür. Buna ek olarak, gözenekli grafit/PVA hidrojel kompoziti, birbirleri arasında iletişimi olan yüksek gözenekli ve yeterince mekanik güce sahip olmuştur. 1. haftadan, 12. haftaya kadar

olan histolojik analize göre, grafit/PVA hidrojelleri 1. Haftaya göre daha az şiddetli reaksiyonlar göstermişlerdir. Ayrıca sadece PVA kullanılarak üretilmiş hidrojel ile karşılaştırıldığında, grafit/PVA hidrojel bileşiğinin, hücrelerin daha kaliteli göçünü ve filtrelenmesini sağladığı ve daha çok damarlaşma ve doku küçülmesini sağladığı gözlemlenmiştir. Bu karakteristik özellikler, uzun vadede yapay kornea'nın biyofiksasyonunda faydalı olur. Bu sonuçlar ışığında gözenekli grafit/PVA hidrojelinin, yapay kornea eteği olarak kullanılabilme potansiyeli ortaya koyulmuştur [30].

Holloway ve ark., yaptıkları bir çalışmada, PVA hidrojeller içine ultra yüksek molekül ağırlıklı polietilen (UHMWPE) ve polipropilen (PP) fiber katıp güçlendirmiş ve bu malzemeyi menisküs hasarlarının iyileştirmesinde kullanmayı planlamışlardır. Menisküs en çok hasar alan bölgelerden biridir. Fiberle güçlendirilmiş PVA hidrojellerinin, menisküs'teki eşsiz izotropik olmayan modüler dağılımını kopyalayabildiği görülmüştür. Fiber'le güçlendirme, 29 vol.% UHMWPE'de, biyomalzemenin modüler gerginliğini  $0.23 \pm 0.02$  MPa'dan  $258.1 \pm 40.1$  MPa'a, başka hiçbir ekleme olmadan başarıyla arttırmıştır [31].

Bichara ve ark., PVA ile üretilen biyomalzemeler kullanarak kırık yapıyı elde etmişlerdir. Bu çalışmada PVA – aljinat hibrid sistemi başarılı bir şekilde canlı vücuduna implante edilmiştir. Ayrıca insan hücreleri eklenen yapılar izlenmiş ve yapının hücre artışına uygun olduğu görülmüştür [32].

Sinha ve ark., dondurma/çözdürme tekniğini (kriyojel) kullanarak üç boyutlu yapıda doku iskeleleri üretmişlerdir. Bu doku iskelesinin üretim amacı, mekanik ve biyoyumlu kırık yapıyı taklit etmektir. Elde edilen üç boyutlu doku iskelesi PVA ve hidroksiapatit yapısından oluşmuştur. Partikül çapı 100 nm'den küçüktür. Yapılan çalışmada PVA ve hidroksiapatit kombinasyonunun mekanik olarak dayanıklı olduğu ve oluşturulan doku iskelesinin gözenek boyutunun uygun olduğu belirtilmiştir [33].

Vrana., PVA/biyomolekül kompozit kriyojellerini, dondurma/çözdürme tekniğini takiben, farklı moleküler yapıdaki banyo işlemine tabi tutmuştur. Ürettiği ürünlere, çeşitli karakterizasyon testlerini uygulamıştır. Nişasta, kitosan, jelatin ve PVA kompozitlerinin damar doku mühendisliği için uygunluğu konusunda araştırmalar yapmıştır. Dondurma/çözdürme sayısının hücre yapışması üzerine etkisi,

degradasyon özellikleri incelendiğinde PVA/jelatin yapısının, diğer kompozit malzemelerle karşılaştırıldığında, daha sonraki çalışmalar için daha uygun olduğu belirtilmiştir [18].

Jiang ve ark., PVA polimerini yüksek sıcaklıkta çözerek ve daha sonra dondurma/çözdürme tekniğini kullanarak kalp kapakçığı üretmişlerdir. Bu yeni çalışmada, stent ve dikiş halkayı kapsayan tek parça, (triküspit kapak, hidrojel) tamamen yapılmış, polivinil alkol kriyojel (PVA-C), geliştirilmiş ve gösterilmiştir [34].

Chu ve ark., MR görüntülemeye kullanılabilen bir antropomorfik, elastik damar phantom bir malzeme üretmek üzere, (PVA) kriyojel üzerinde çalışmışlardır. PVA suda çözülerek hazırlanmıştır ve dondurma/çözdürme sayısının görüntüleme ve elastikiyet üzerindeki etkisi incelenmiştir. Ayrıca gerilme direnci, boyutsal değişiklikler dondurma/çözdürme sayısının fonksiyonu olarak incelenmiştir [35].

Gonzalez ve ark., PVA ile farklı malzemeleri birlikte kullanarak, çeşitli biyomalzemeler üretmişlerdir. Kıkırdak kullanımı için, hidroksiapatit eklenerek mekanik ve sabitleme özellikleri geliştirilmiş ve malzemenin doğal kıkırdak yapısına yaklaşması hedeflenmiştir. Yara iyileştirici ürün için ise, hidrojelere bentonit (kil) takviyesi yapılarak boyutsal kararlılık ve antimikrobiyel aktiviteler artırılmıştır. Bu ürünlerle birlikte, jelin ilaç salınımı karakterizasyonu aynı çalışmada incelenmiştir [36].

Bajpai ve ark., PVA ve jelatin polimerlerini farklı kompozisyonlarda dondurma/çözdürme tekniği ile hazırlamışlardır. Hazırlanan ve kriyojel olarak adlandırılan bu ürünlerin şişme kapasiteleri farklı faktörlere göre incelenmiştir. Sıcaklık, pH, kimyasal yapı gibi etkenlerin su emme kapasitesini nasıl etkilediği incelenmiştir. İn vitro yapılan çalışmalarda, PVA ve jelatin konsantrasyonu arttıkça biyoyumluluk artarken, dondurma/çözdürme sayısının biyoyumluluğu olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir [29].

Vrana ve ark., farklı bir çalışmada yapay damar üretimi için PVA/jelatin kriyojellerini kullanmışlardır. Damar üzerinde hücre yapışması, proliferasyon hızı gibi özelliklerin geliştirilmesi için çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca, bu çalışmada ani ve kesintili kayma gerilmesi koşulları ve türbülanslı bir orbital akış PVA/jelatin kriyojeller üzerindeki endotelizasyonunu incelemek için kullanılmıştır [19].

Poursamar ve ark., kemik doku mühendisliğinde kullanılması amacıyla PVA çözeltisinin içerisinde hidroksiapatit sentezlemişlerdir. Dondurma/çözdürme tekniği ile üretilen üç boyutlu biyomalzemelerde, in vitro olarak osteoblast hücrelerinin gözenekli iskeleye nüfuz etmeleri ve üremeleri gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, nanokompozit iskelelerin; biyoaktif, potansiyel kemik doku mühendisliği implantları olabileceği belirtilmiştir [37].

Choi ve ark., farklı konsantrasyonlarda PVA/jelatin iskelelerini bir dizi şekilde hazırlamış ve polimer konsantrasyonun doku iskelesinin mimarisine etkisini incelemişlerdir. Deri dokusu için hazırlanan potansiyel doku iskeleleri, çeşitli karakterizasyon testlerine tabi tutulmuştur. Bu çalışmada dondurarak kurutma tekniği kullanılmıştır ve sodyum dodesil sülfat (SDS) gözeneklendirici ajan olarak prosese katılmıştır. Ayrıca dondurarak kurutma işleminden sonra, glüteraldehit ile çapraz bağlanarak stabiliteyi arttırmıştır [38].

Jiang ve ark., araştırmalarında, şeffaf PVA hidrojeli bir tür yumuşak doku deformasyonunu taklit etmek için incelemiştir. Domuz karaciğeri SEM görüntüleride incelenerek aynı yapı taklit edilmeye çalışılmıştır. Bu çalışmada dimetyle sülfokside çözücü olarak kullanılmış ve dondurma/çözdürme tekniği ile transparan bir yapı elde edilmiştir. Şeffaf, hidrojel olarak tanımlanan bu fantom malzemeler, iğne ile müdahalede hassasiyet göstermiştir. Ayrıca ön işlem planlama çalışmalarında, özellikle doku deformasyon taklit ve video kamera görüntülerini analiz durumlarında, uygun yumuşak doku adayları olarak belirtilmiştir [15].

Wang ve ark., bu çalışmada, PVA polimerini kullanarak, PAF denilen basit bir yöntem ile (PVA assisted foam, PAF yöntemi), köpük destekli, üç boyutlu gözenekli bir yapı oluşturmuştur. Gözenek oluşumu için herhangi bir karmaşık kimyasal sürece veya ek işleme gerek kalmadan gözenekli yapı elde edilebilmiştir. Hidroksiapatit eklenerek üretilen bu malzemelerin, mekanik dirençleri ve gözenek boyutları incelenmiştir. Elde edilen bu biyomalzemelerin, kemik doku mühendisliğinde kullanılacak potansiyel birer malzeme olduğunu göstermişlerdir [39].

Ino ve ark., PVA polimerini sodyum trimetafosfat ile çapraz bağlayarak hidrojel elde etmişlerdir. Sadece PVA kullanılarak oluşturulan ürünlerde hücre yapışma problemi olması nedeniyle, farklı malzemelerle kompozit oluşturma



denemeleri daha önce farklı çalışmalarda örneklenmiştir. Ancak bu çalışmada kompozitlerin PVA'nın yapısını etkilemesi nedeniyle, yüzey modifikasyonu yapılarak hücre yapışması sağlanmaya çalışılmıştır. Bu çalışmada, H<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> plazma beslemesinin, hücre yapışmasını ve üremesini olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir [40].

Ma ve ark., yapay kıkırdak dokusu için PVA/PVP (poli (vinil pirolidon) polimerlerini farklı oranda karıştırarak ve dondurma/çözdürme tekniğini kullanarak dayanıklı yapılar üretmeyi amaçlamışlardır. PVP oranının ve dondurma/çözdürme sayısının malzemenin mekanik ve tribolojik özelliklerini etkilediği gözlemlenmiştir [41].

Jain ve ark., PVA/Jelatin membranları hazırlayarak, gözde oluşan enfeksiyonların tedavisinde, bu malzemenin antibiyotik salınımını incelemişlerdir. Ciprofloksacin yüklenmiş PVA/jelatin membranları tavşanlar üzerinde denenmiş ve bu malzemenin sonuçlarının, göz damlaları ile karşılaştırıldığında daha az sıklıkta uygulanmasını gerektiren, etkili ve gelecek vaat eden oküler bir ilaç verme sistemi olabileceği belirtilmiştir. Siprofloksasin yüklenmiş PVA/jelatin membranlarının, kornea ülseri konjunktivit, keratit, bakteriyel tedavisi için uygulanabileceği belirtilmiştir [42].

Mansur ve ark., yaptıkları çalışmada, farklı hidroliz derecesine sahip (PVA) polimerlerini, glutaraldehid kullanarak, kimyasal çapraz bağlama ile hazırlamışlardır. Oluşan hidrojellerin nanoyapıları, Infrared Spektroskopisi (FTIR) ve Sinkrotron küçük açılı X-ışını saçılması karakterizasyonu (SAXS) ile analiz edilmiştir. Şişme oranı, önemli ölçüde kimyasal olarak PVA'nın çapraz bağlanması ile düşürülmüştür. PVA ile üretilmiş hidrojel, ilaç salınım sisteminde kullanılması için, pH'a duyarlı potansiyel bir aday olabileceği belirtilmiştir [43].

Nie ve ark., bu çalışmada, dondurarak kurutma yöntemi ile, gelişmiş, gözenekli, iki fazlı kalsiyum fosfat (BCP)/(PVA) iskelelerini üretmişlerdir. Üretilen doku iskelelerinin, in vitro bozunma ve biyouyumlulukları incelenmiştir. Bozunma analizi SBF (solution body fluid) kullanılarak farklı pH değerlerinde (yaklaşık 7,18-7,36) hazırlanmıştır ve değişimin çok düşük olduğu gözlemlenmiştir. Ancak bozunmanın PVA oranı arttıkça azaldığı belirtilmiştir. MTT deneyi sonuçları ise

gözenekli (BCP)/polivinil alkol (PVA) iskelelerinin hücre büyümesi ve üremesinde olumsuz bir etki yaratmadığını göstermiştir [44].

Martinez ve ark., bu çalışmada dondurma/çözdürme tekniği ile kriyojeller üretmişlerdir. Yaptıkları çalışmada PVA/pektin polimer kompozitlerini kullanarak ilaç salınımını incelemişlerdir. Deri üzerindeki yara ve yanıklar için hazırlanan biyomalzemenin antibiyotik salınımının, farklı pektin konsantrasyonu ve pektinin hidroliz derecesi ile değiştiğini göstermişlerdir [45].

Moscato ve ark., PVA/Jelatin kompozitlerini gluteraldehid ile çapraz bağlayarak oluşturmuşlardır. Sodyum dodesil sülfatın (SDS) gözeneklendirici olarak kullanıldığı bu çalışmada gözenekli, üç boyutlu yapılar elde edilmiştir. Hazırlanan bu iskelede hücre yapışması ve malzemenin morfolojisi değerlendirilmiştir. Ayrıca hücre canlılığı ve metabolik etkinlik, hücre dışı matriks üretimi, MTT deneyi, sitokimya ve immunositokimya ile analiz edilmiştir. Fibroblastların PVA/jelatin ile olumlu etkileşim gösterdiği belirtilmiştir [46].

Fray ve ark., PVA polimerini çeşitli karboksilikasitlerle dondurma/çözdürme tekniğini kullanarak çapraz bağlamışlardır. Yapılan çalışmada farklı karboksilik asitlerin, dondurma çözdürme sayısının ve karboksil oranlarının, mekanizma üzerindeki etkileri incelenmiştir. Süksinik ve glukonik asit, farklı oranlarda kullanılmış ve optimum kıkırdak yapısına yakın malzemeye ulaşılmaya çalışılmıştır. Ürünler katkısız olarak aynı şekilde üretilen PVA kriyojeller ile karşılaştırılmıştır. Glukonik asit ile çapraz bağlanan jellerin, daha sağlam yapılar olması ile birlikte, birbirine bağlı homojen yapıyı gözenek oluşturduğu gözlemlenmiştir [47].

## 2.6. DOKU İSKELESİ ÜRETİM TEKNİKLERİ

Doku mühendisliğinde hedeflenen doku veya organa göre, farklı üretim teknikleri kullanılarak biyomalzemeler oluşturulabilir. Geleneksel yöntemler arasında çözücü dökümü - parçacık uzaklaştırma, gaz köpüklendirme, fiber bağlama, faz ayrımı, emülsiyon dondurarak kurutma, dondurarak kurutma sayılabilirken; bilgisayar destekli yöntemler, serbest katı hal (Solif Free Form, SFF) yöntemleri adı altında incelenmektedir.

- Çözücü dökümü – parçacık uzaklaştırma (Solvent - casting particulate leaching)

Bu yöntemde polimer uygun çözücü içinde çözdürüldükten sonra bu çözeltinin içine gözeneklendirmek amacıyla sodyum klorür, şeker ve parafin gibi malzemeler eklenerek biyomalzeme elde edilir. İlave edilen porojen adı verilen, gözeneklendirici malzemelerin boyutları kontrol edilebildiğinden, bu yöntemde gözenek boyutu kontrol edilebilir. Daha sonra bu malzeme yüzeye dökülür ve çözücü uzaklaştırılır, bir sonraki adımda ise seçilen porojen maddenin çözüneceği herhangi bir çözücü eklenir ve porojen madde ortamdan uzaklaştırılır. Porojen maddenin uzaklaştığı alanlar gözenek olarak kalır. Örnek verilecek olursa; porojen maddenin NaCl olduğu durumda su, çözücü madde olarak kullanılabilir [9,48].

- Gaz köpüklendirme (Gas foaming)

Bu yöntemde polimer çözeltisi yüksek basınçta, karbondioksite (CO<sub>2</sub>) maruz bırakılır. Daha sonra CO<sub>2</sub> gazının çözünürlüğü basıncın atmosferik seviyeye getirilmesi ile azaltılmıştır. Boyutları 100 - 500 um arasında değişen gözenek çapları ile gaz kabarcıkları; hücrelerin geçişini sağlayabilecek alanlar oluşturur [2].

- Fiber bağlama (Fiber Bonding)

Bu yöntem, biyoparçalanır bir polimer olan poli laktik-ko-glikolik asit (PGA) ve PLLA polimerlerinin örülmemiş ağ dokularının doku mühendisliğinde kullanılması amacıyla geliştirilmiştir. Bu dokunmamış iskelelerinin yapısal kararlılık eksikliği sonucunda, hücrelerin kasılma güçleri nedeniyle bu polimer yapıları önemli derecede deformasyona uğramıştır [2]. Fiber bağlama iki şekilde yapılmaktadır:

Öncelikle PGA'ten oluşan ve örülmemiş olan ağ dokusu bir kalıba dökülür. Bundan sonra, PLLA, PGA'yi çözemeyen bir çözücü içinde çözünür ve bu polimer çözeltisi PGA örülmemiş ağ dokusu üzerine dökülür. Kurutma işlemiyle çözücü uzaklaştırılır ve bu durumda geriye içinde PGA ağ dokusunun bulunduğu PLLA-PGA kompoziti kalır. Bu yapı PGA'yi erime sıcaklığının üstüne kadar ısıtılır ve böylece birbirine temas etmekte bulunan PGA iplikçikleri eriyerek birbirine bağlanır. PLLA aynı çözücü kullanılarak uzaklaştırılır. PLLA'nın çözücü kullanımı sonrasında

uzaklaştırılmasından sonra, PGA'ten oluşan, ağsı formda, yapısal bütünlüğü korunabilen doku iskelesinin üretimi gerçekleştirilmiş olur [2,9].

İkinci durumda ise PLLA polimerinden içi boş tüpsel formda doku iskeleleri üretilir. PGA'ten oluşan örülmemiş ağ dokusu teflon silindire sarıldıktan sonra dönmekte olan silindire PLLA çözeltisi spreylenebilir. Daha sonra kurutma işlemi gerçekleştirilir. Bu yöntem ile PGA iplikçikleri PLLA ile birbirine bağlanır ve böylece üzerinde ince PLLA katmanı bulunan içi boş tüpsel formda PLLA-PGA kompozit doku iskeleleri üretilebilir [9].

- Faz ayrımı (Phase Separation)

Bu yöntemde bir biyobozunabilir sentetik polimer erimiş fenol ya da naftalin içinde eritilir ve alkalın fosfataz gibi biyolojik açıdan aktif moleküller, çözeltiye eklenebilir. Daha sonra sıcaklık, bir sıvı - sıvı faz ayırma üretmek için indirilir ve iki fazlı bir katı madde oluşturmak için söndürülür. Çözücü yapısı biyolojik olarak aktif moleküller ile gözenekli bir iskele vermek üzere, süblimleştirme yolu ile uzaklaştırılır [2].

Sıvı - sıvı faz ayırımında polimer, düşük donma noktası sıcaklığına sahip ve kolay süblimleşebilen bir çözücü içinde çözündürülür ve sonrasında bu çözelti çözücünün donma noktasının altına soğutulur. Donan çözücü yapıdan vakumlu kurutma ile süblimleştirilerek porlu doku iskelesi üretilmiş olur.

Katı - sıvı faz ayırımında ise polimer uygun çözücüde çözündürüldükten sonra sistem soğutulur ve çözücü kristalleri oluşur. Çözücü kristalleri yapıdan vakumlu kurutma yöntemi ile uzaklaştırıldıktan sonra porlu iskeleleri üretilmiş olur [9].

- Emülsiyon dondurarak kurutma (Emulsion freeze-drying)

Bu proses poliglikolik asit (PGA) metilenklorid çözeltisine saf su eklenmesi ile başlatılır. Karışmayan tabakalar su-içinde-yağ emülsiyonu oluşturmak için homojenize edilir, daha sonra sıvı azot içinde soğutulur ve gözenekli bir yapı üretmek için dondurularak kurutulur [2].

- *Dondurarak kurutma (Freeze - drying)*

Bu yöntem üç boyutlu gözenekli doku iskelesi üretimi için uygulanmaktadır. Gözenekli iskele üretimi için uygulanan bu yöntemde, polimer çözeltileri uygun şartlar altında dondurulmakta, sonrasında dondurarak kurutma cihazına yerleştirilmektedir. Donmuş ürünler, düşük sıcaklıkta uzun süre vakumlu ortamda bırakılarak çözücünün süblimleşmesi sağlanmaktadır. Çözücünün süblimleşerek ortamdaki uzaklaştırılması sonucunda makro ve mikro gözenekli yapılar oluşturulabilmektedir. Bu yöntemde gözenek boyutu dondurarak kurutma hızına bağlı olarak değişebilir. Hızlı dondurma sonucunda küçük gözenekli yapılar oluşturulur [2,9].

- *Membran laminasyonu (Membrane lamination)*

Membran laminasyonu, çözücü – dökümü parçacık uzaklaştırma yöntemindeki, üç boyutlu doku iskelelerinin üretilmemesi probleminin üstesinden gelinmesi için geliştirilmiştir. Bu üretim yönteminde, çözücü - dökümü/parçacık-uzaklaştırma ile üretilmiş olan polimerik membranlar, polimer için uygun olan bir çözücünün membranların arasına sürülmesiyle üst üste dizilmekte, böylece 3 boyutlu gözenekli doku iskeleleri elde edilmektedir. Üst üste dizilen dizilen membranlarda gözeneklerin aynı olması gerekmektedir ve kullanılan polimerik yapıştırıcıların toksik olmaması gerekmektedir. Yapışma prosesi, gözeneklerin birbirine bağlanması ve homojen olması bu uygulamanın kilit noktalarıdır [9].

- *Eriyik kalıplama (Porogen leaching - melt moulding)*

Üç boyutlu doku iskelelerinin üretilmemesi probleminin aşılması için geliştirilen bir diğer yöntem ise eriyik kalıplama yöntemidir. Çözücü-dökümü/parçacık - uzaklaştırma yöntemindeki iki boyutlu yapı bu proses ile geliştirilmeye çalışılmıştır. Polimer ve porojenin katı halde (çözücü kullanılmadan), karıştırılmasının ardından, bu karışım istenilen geometriye sahip kalıba dökülmektedir. Kalıba ısı işlem uygulanarak polimer eriyik hale getirilmektedir ve devamında doku iskelesi porojenin içinde çözüneceği çözücü ile etkileştirilerek porojen yapıdan uzaklaştırılmaktadır. Bu şekilde istenilen geometriye sahip, üç boyutlu iskeleler oluşturulabilmektedir [9].

## 2.7. POLİMERİK JELLER

Vücudumuz sistemlerden, sistemler organlardan, organlar dokulardan, dokular ise hücreler ve hücre dışı matristen (ECM) oluşmaktadır. Hücrelerin bir araya toplanması ve doku yenilenmesinin gerçekleşmesinde ECM'nin önemi pek çok araştırmacı tarafından vurgulanmıştır. Hücre dışı matris, hücreler için üç boyutlu bir mikro çevre oluşturur. Hücrelere fiziksel bir destek sağlamasının yanı sıra hücre - hücre etkileşimlerini organize eder ve hücrelerin yapışması, göçü, çoğalması, farklılaşması ve matris birikimi için çeşitli biyokimyasal ve biyofiziksel uyarıları yapar [3].

Bu amaç için kullanılan biyomalzemeler jel yapısında oluşturulabilmektedir. Oda sıcaklığında polimerin jelleştirilmesi işlemi hidrojel, soğutarak içindeki çözeltinin donma işlemiyle elde edilen jelleşmeye ise kriyojel denmektedir. Hidrojel ve kriyojel yapıları daha yakından aşağıdaki başlıklar altında incelenmiştir.

### 2.7.1. Hidrojeller

Hidrojeller yüksek oranda su absorblama kapasitesine sahip, içerdikleri polimer zincirlerinin kimyasal ya da fiziksel çapraz bağlanmaları sayesinde suda çözünmeden kalabilen polimerik ağsı yapılardır. Poli(laktik asit) (PLA), poli (laktid-ko-glikolid) (PLGA) gibi düşük su absorblama kapasitesine sahip (ağırlıkça %5 - 10) hidrofobik ağsı polimerden farklı olarak hidrofilik hidrojeller biyomedikal uygulamalarda avantaj sağlayacak özgün fizikokimyasal özelliklere sahiptir [10].

Genellikle jel oluşumu çevre koşullarında gerçekleşir ve organik çözücülere çok ender olarak gerek duyulmaktadır. Hidrojeller doğal ve sentetik polimerlerden hazırlanabilirler. Tıbbi uygulamalarda en yaygın olarak kullanılan hidrojel, çapraz-bağlı poli (hidroksi etil metakrilat) PHEMA polimeridir. Sahip olduğu su içeriği nedeniyle, doğal dokulara büyük bir benzerlik gösterir. Normal biyolojik reaksiyonlarda inert'tir. Bozunmaya dirençlidir, vücut tarafından emilmez, ısıyla steril edilebilir [10].

Hidrojellerin ayrıca biyouyumlu ve biyobozunabilir olmaları, toksik etki göstermemeleri gibi avantajları da bulunmaktadır. Sentetik hidrojeller implante edildikleri kaynağa ait içsel biyoaktif özellikleri barındırmaları da modifiye edilebilir yapıları sayesinde farklı bozunabilirlik ve fonksiyonellik kazandırılabilirler.

Hidrojel üretiminde doğal ve sentetik polimerler kullanılabilir. Çizelge 2.2. hidrojel yapımında kullanılan polimerleri göstermektedir [10].

Çizelge 2.2. Hidrojel üretiminde sıkça kullanılan sentetik ve doğal polimerler

<b>Doğal Polimerler</b>	<b>Sentetik Polimerler</b>
Kitosan	Hidroksietil metakrilat (HEMA)
Aljinat	N-(2-hidroksipropil)metakrilat (HPMA)
Fibrin	N-vinil-2-pirolidon (NVP)
Kollajen	N-izopropil akrilamid (NIPAAm)
Jelatin	Vinil asetat (Vac)
Hyaluronik asit	Akrilik asit (AA)
Dekstran	Metakrilik asit (MAA)
	Polietilen glikol akrilat (PEGA)
	Polietilen glikol metakrilat (PEGMA)
	Polietilen glikol diakrilat (PEGDA)
	Polietilen glikol dimetilakrilat (PEGDMA)

Jelin çapraz bağlanma derecesi, hidrojeli oluşturan monomerlerin kimyasal yapıları ve sıcaklık, pH, iyonik güç gibi çevresel uyarıcılar hidrojinin bağ yapısını etkileyen önemli faktörlerdir [10].

Mekanik dayanım, bozunabilirlik ve salım molekülünün difüzyonu gibi hidrojellerin fiziksel özelliklerinin belirlenmesinde bağ yapısı (moleküller arasındaki bağların kırılma veya esnek olma durumu) önemlidir.

Hidrojeller yaygın olarak:

- Doku mühendisliği çalışmalarında hücrelerle etkileştirilerek doku onarımı sağlamak amacıyla yapı iskelesi,[10]
- Sıcaklık, pH ve konsantrasyona duyarlı akıllı hidrojel,[10]
- Kontrollü ya da sürdürülebilir salım sistemleri, [10]
- Biyosensör, kontakt lens uygulamalarında kullanılmaktadır [10].

## 2.7.2. Kriyojeller

Kriyojeller monomerik veya polimerik başlatıcıların kısmen donmuş çözeltilerinden hazırlanmış süper makro gözenekli üç boyutlu polimerik jel matrisleridir. Kriyojel hazırlama işleminde başlatıcılar uygun çözücü içerisinde çözülerek hızla dondurulurlar. Çözücünün dondurulma işlemi sırasında çoğu çözücü aralarında polimerik başlatıcıları içeren donmamış sıvı mikrofazlar bulunan buz kristalleri oluşur ve polimerleşme ve çapraz bağlanma reaksiyonları gerçekleşirken buz kristalleri etrafında ağsı bir yapı oluşmaktadır. Polimerleşme tamamlandıktan sonra çözücünün uygun koşullarda ortamdan uzaklaştırılmasıyla oluşan bu üç boyutlu makro gözenekli yapı kriyojel olarak adlandırılmaktadır.

Kriyojellerin birbiriyle bağlantılı makro gözenekleri nano ve mikro boyuttaki partiküllerin kütle transferini sağlamaktadır. Eşsiz gözenek yapıları, ozmotik, kimyasal ve mekanik kararlılıkları, plazmidler, virüsler, hücre organelleri gibi biyolojik nanopartiküllerin kromatografik uygulamaları için kriyojelleri ilgi çekici matrisler yapmaktadır [26].

Kriyojel prosesini etkileyen faktörler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

Dondurma Prosesi: Kriyojellerin makro gözenekleri yüzlerce mikrometre boyutunda olabilir. Gözenek boyutu kriyojenik rejime bağlı olarak değişir. Dondurma sıcaklığı ne kadar düşük olursa, daha fazla küçük boyutlu çözücü kristalleri oluşur ve böylece daha küçük boyutlu gözenekler oluşur [24, 49].

Çapraz Bağlayıcı: Kriyojeller hazırlanırken kullanılan çapraz bağlayıcı miktarı ne kadar fazla ise suda şişme oranı o kadar azalır. Çapraz bağlayıcı kullanılmadan jelleşme dondurma /çözdürme tekniğiyle gerçekleştirilebilir [24, 49].

Bu durumda, çapraz bağlayıcı kullanılmadığı için doku iskelesinde kalan çapraz bağlayıcı ajanların giderilmesi için ek işleme gerek kalmamaktadır [24, 49].

Konsantrasyonun etkisi: Başlangıçtaki reaksiyon karışımının konsantrasyonu ne kadar yüksek ise daha yoğun ve kırılğan matrisler elde edilir, başlangıç konsantrasyonu azaldıkça matrisler daha elastik ve süngerimsi bir yapı göstermeye başlarlar [24, 49].



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. MATERYAL

Bu çalışma kapsamında kullanılan materyal ve yöntem ayrıntılarıyla birlikte aşağıda sunulmuştur.

##### 3.1.1. Kriyojel Üretiminde Kullanılan Materyaller

###### 3.1.1.1. PVA

PVA, hafif kokulu, beyaz, granüler haldedir. Ortam sıcaklığında suda çok az çözünebilirken, yüksek sıcaklıktaki suda çözünebilir bir polimerdir. Sulu çözeltisi nötral veya hafif asidik karakterdedir. Ticari PVA yüksek hidroliz derecesiyle (%98,5 in üzerinde) elde edilebilmektedir.

Bu çalışmada kullanılan PVA'nın, (Sigma – Aldrich, ABD) firmasından alınmıştır moleküler ağırlığı 89,000 - 98,000 değerleri arasındadır.

###### 3.1.1.2. Jelatin

Bu çalışmada kullanılan Jelatin (Merck, Almanya) mikrobiyoloji uygulamalarında kullanılan jelatindir.

###### 3.1.1.3. Gluteraldehit

Gluteraldehit,  $(\text{CHO}-(\text{CH}_2)_3-\text{CHO})$  molekül formülüne sahip; alifatik dialdehit dezenfektan, yüzey aktif madde, deterjanların önemli bileşenlerinden birini oluşturan kimyasal bir maddedir [50].

Bu çalışmada, gluteraldehit çapraz bağlayıcı olarak kullanılmıştır. Gluteraldehit, %25 (Merck, Almanya) sulu çözelti formundadır.

#### 3.2. YÖNTEM

Bu tez çalışmasında PVA ve PVA/Jelatin'den kriyojel doku iskeleleri üretilmiş ve karakterize edilmiştir. PVA temelli bu kriyojeller iki farklı yöntem kullanılarak üretilmiştir. Bu yöntemlerin birisi fiziksel çapraz bağlanma olarak tanımlanan dondurma/çözdürme (Freeze/Thawing metod, FT) tekniğidir [27]. Bir diğeri ise gluteraldehit (GA) kullanılarak üretilen, kimyasal çapraz bağlama yöntemidir. Bundan sonraki bölümlerde dondurma/çözdürme tanımlaması ve sayısı FT olarak belirtilmiş, gluteraldehit; GA olarak kısaltılmıştır.

### 3.2.1. PVA ve PVA/Jelatin Kriyojellerin Dondurma/Çözdürme (FT) Yöntemi ile Üretimi

Çizelge 3.1’de belirtilen toplam polimer miktarı, ağırlık/hacim ( %10 ve %8, w/v) , konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Bu çalışma kapsamında, tablodaki belirtilen miktarların tartımı yapıldıktan sonra 5 ml distile su eklenerek otoklavda 121 °C’de 1 saat çözdürme işlemi yapılmıştır. Daha sonra bu çözeltiler 60 °C birkaç saat karıştırılarak homojen bir yapı elde edilmiştir. Aynı şekilde karıştırma devam ederken numunelerin ısıtılması durdurulmuş ve oda sıcaklığına gelene kadar, karıştırılarak beklenmiştir.

Oda sıcaklığına gelen numunelere sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulanmıştır;

Numuneler oda sıcaklığına gelene kadar karıştırıldıktan sonra, bu çözeltiler 2,5 ml şırıngalara koyularak, donma işleminin gerçekleşmesi için kriyostatta (WiseCircu WCR – P6 CFC 404 A, Wisd Laboratory Instrument, Almanya) bekletilmiştir. Kriyostatta bekleme süresi 4 saat, sıcaklık ise -12°C’dir. (Şekil 3.1). Daha sonra -16°C buzluğa alınarak 20 saat dondurma işlemine devam edilmiştir. Bundan sonra ise oda sıcaklığına alınarak 3 saat çözdürme işlemi uygulanmıştır. Bu işlem 1 dondurma/çözdürme (FT1) olarak tanımlanmış ve dondurma /çözdürme sayısına göre tekrar buzdolabı ve oda sıcaklığında bekletme işlemi tekrarlanmıştır. Dondurma/çözdürme sayısı bir ile üç arasında değişmektedir.

Çizelge 3.1. PVA/Jelatin konsantrasyonlarını gösteren çizelge, %10 ve %8 polimer konsantrasyonu

%10 Polimer konsantrasyonu (W/V)		%8 Polimer konsantrasyonu (W/V)	
PVA %	Jelatin %	PVA %	Jelatin %
100	0	100	0
90	10	90	10
70	30	70	30
50	50	50	50
30	70	30	70
10	90	10	90

Burada Çizelge 3.1’de belirtilen %10 ve %8 toplam polimer konsantrasyonlarının iki oranında (PVA/Jelatin, 30:70 ve 10:90) dondurma/çözdürmenin tekrarlanmadığı görülmüştür. Bu kompozitlerde PVA oranının düşük olması nedeniyle sadece dondurarak bağlanma sağlanamadığı gözlemlenmiştir. Bu işlemden, hazırlanan çözeltide çapraz bağlanma ile kriyojel oluşmadığı için, çözelti deiyonize su ile birlikte akmıştır.

Kriyojel doku iskelelerini hazırlamak için Şekil 3.1’de görünen kriyostat cihazı (WiseCircu WCR – P6 CFC 404 A, Wisd Laboratory Instrument, Almanya) kullanılmıştır. Bu cihaz -40°C kadar soğutma kapasitesine sahiptir.



Şekil 3.1. Kriyostat cihazı görüntüsü

### 3.2.2. PVA ve PVA/Jelatin Kriyojellerin Gluteraldehit ile Çapraz Bağlanarak Üretimi

Çizelge 3.1’de belirtilen toplam polimer miktarı, aynı şekilde ağırlık/hacim (%10 ve %8, w/v), konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Tablodaki belirtilen miktarların tartımı yapıldıktan sonra 5 ml distile su eklenerek otoklavda 121°C’de 1 saat çözdürme işlemi yapılmıştır. Daha sonra bu çözeltiler 60°C birkaç saat karıştırılarak homojen bir yapı elde edilmiştir. Aynı şekilde karıştırma devam ederken numunelerin ısıtılması durdurulmuş ve oda sıcaklığına gelene kadar, karıştırılarak

beklenmiştir. Yüksek sıcaklıkta GA eklenmesi durumunda hidrojel oluşmaktadır. Hidrojel oluşumunu engellemek için çözeltinin oda sıcaklığına gelmesi beklenmiştir. Bu çözeltilere polimer konsantrasyonunun %5'i oranında da GA eklenir eklenmez 2,5 ml şırıngalara koyularak, donma işleminin gerçekleşmesi kriyostata koyulmuştur. Kriyostat sıcaklığı -12 °C'dir. Burada 4 saat bekletilmiş daha sonra -16°C buzluğa alınarak 20 saat dondurma işlemine devam edilmiştir. Bundan sonra ise oda sıcaklığına alınarak 3 saat çözündürme işlemi yapılmıştır. Bu bölümde sadece bir kere FT işlemi mevcuttur.

Numuneler arasından PVA/Jelatin, 70:30 oranına sahip doku iskelesinin ilk gözlemler neticesinde, istenilen doku iskelesi özelliklerini sağladığı görülmüştür. Bu doku iskelesi farklı oranlarda GA ile çapraz bağlanarak, karakteristik özellikleri incelenmiştir. Aynı şekilde, GA, toplam polimer konsantrasyonunun % 2,5 ve 15'i değişen aralıklarında eklenmiştir.

Çizelge 3.2. PVA/Jelatin (PVA/Jelatin, 70:30) kompozitinde farklı GA oranları tablosu, polimer konsantrasyonu % 10

% 10 Polimer konsantrasyonu (W/V)		GA % 2,5	GA % 10	GA % 15
PVA %	Jelatin %			
70	30	PVA/Jelatin 70;30 ,% 10, GA % 2,5	PVA/Jelatin 70;30 ,% 10, GA % 10	PVA/Jelatin 70;30 ,% 10, GA % 15

Bütün işlemlerden sonra hazırlanan örnekler 1000 ml beherlerde distile su ile yıkanmıştır. Mekanik karıştırıcının yardımı ve birkaç defa değiştirilen su ile birlikte; ortamdaki bağlanmamış polimerler ve GA'in giderilmesi sağlanmıştır.

Yıkanmış olan numuneler -80°C dondurucuda bekletilmiş ve daha sonra 1 tam gün süre ile liyofilizerde (FreeZone 2.5 Liter Benchtop Freeze Dry System - 7670531, Labconco, Amerika) kurutulmuştur. Bu şekilde çökmenin engellenmesi hedeflenmiştir.

### 3.2.3. PVA/Jelatin Doku İskelelerinin Karakterizasyonu

#### 3.2.3.1. Şişme çalışmaları

Farklı yöntemlerle hazırlanan kriyojeller, şişme davranışlarının ve oranlarının belirlenmesi için bir gün süreyle -80°C dondurucuda bekletilmiş ve daha sonra bir gün süreyle liyofilizerde kurutulmuştur. Bu şekilde hazırlanmasındaki amaç, üç boyutlu yapının çökmesinin engellenmesidir. Bütün örnekler aynı işleme tabi tutulmuştur ve analizler bu işlemde geçen ürünlere uygulanmıştır. Bu analizde kuru ağırlıklar ölçülmüş ve daha sonra örnekler distile suya konularak belirlenen zaman değerlerinde ağırlık ölçümleri yapılmıştır. Yüzey üzerindeki fazla suyun alınması için, her tartımdan önce filtre kâğıdı kullanılarak örneklerin fazla suyu alınmıştır. Örnek sayısı üç adet olarak belirlenmiş (n=3), şişme değerlerinin ortalaması hesaplanmış ve standart sapmaları belirlenmiştir.

Eşitlik 3.1'de şişme oranının hesaplanması için kullanılan formül belirtilmiştir. Mt: Şişme oranı, Mi: ilk ağırlık ve Mf: son ağırlık olarak tanımlanmıştır [36].

$$Mt (\%) = [(Mf-Mi)/Mi] \times 100 \quad (3.1)$$

#### 3.2.3.2. SEM ile analiz

Doku iskelelerinin morfolojisini (gözenek yapısı ve boyutu, gözenek duvarlarının kalınlıkları ve homojenitesi) belirlemek için taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM Zeiss/Supra55, Quanta 400F Field Emission, ABD) kullanılmıştır. Doku iskelesi örneklerinin yüzeyi, elektrik iletkenliğini sağlayabilmek için, platin/karbon ile kaplanmıştır ve SEM görüntüleri elde edilmiştir. SEM, 5 kV da çalıştırılmıştır.

SEM görüntüleri, Taramalı elektron mikroskobuyla 100, 1000 ve 10000 büyütme oranlarında elde edilmiştir.

#### 3.2.3.3. FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) analizi

FT-IR analizi PerkinElmer - Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrometre analizi (FT-IR/FIR/NIR Spectrometer Frontier - ATR, ABD). Farklı konsantrasyonlarda üretilen PVA ve PVA/Jelatin doku iskelelerinin kimyasal yapısı

bu yöntemle analiz edilmiştir. Analizler 450 - 4000 cm<sup>-1</sup> dalga boyları arasında yapılmıştır.

#### 3.2.3.4. In vitro degradasyon çalışmaları

Üretilen doku iskelelerinin degradasyonu, su banyosunda (Daihan Scientific CO. LTD., WiseBath WB-22, Kore) 37°C’ de distile su içerisinde takip edilmiştir. Doku iskeleleri tüplere koyularak su banyosunda sabit sıcaklıkta bekletilmiştir. Belirlenen zaman aralıklarında (4. hafta, 8. hafta, 12. hafta) örnekler kurutulmuş ve tekrar ağırlık ölçümleri yapılarak doku iskelelerinin degradasyon davranışları tespit edilmiştir. Örnek sayısı üç adet olarak belirlenmiş (n=3), degradasyon sonuçlarının ortalaması hesaplanmış ve standart sapmaları belirlenmiştir.

Eşitlik 3.2.’de belirtilen eşitlikte Wi: ilk ağırlık, Wf: kurutulduktan sonraki ağırlık ve DD ise degradasyon derecesi olarak tanımlanmıştır [38].

$$DD (\%) = [(W_i - W_f) / W_i] \times 100 \quad (3.2)$$

#### 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu bölümde, üretilen PVA ve PVA/Jelatin doku iskelelerinin analiz sonuçları farklı başlıklar altında incelenmektedir. Değişen konsantrasyonlarda ve iki farklı çapraz bağlama yöntemi ile hazırlanan doku iskelelerinin şişme davranışları, SEM analizleri, FT-IR sonuçları ve degradasyon değerleri karşılaştırılmalı olarak yorumlanmıştır.

##### 4.1. DONDURMA/ÇÖZDÜRME (FT) İLE ÇAPRAZ BAĞLAMA YÖNTEMİ

###### 4.1.1. Dondurma/Çözdürme Sayısının Doku İskeleleri Üzerindeki Etkisi

###### 4.1.1.1. Şişme çalışmaları

Yapılan çalışmada; iki farklı çapraz bağlama yöntemi kullanılarak ve değişen PVA/Jelatin konsantrasyonlarına sahip çözeltilerden kriyojeller üretilmiştir. Belirlenen ölçüde kesilen kuru kriyojeller (0,5 cm boyunda ve 0,9 cm çapında, üç adet örnek kullanılmış ve standart sapma hesaplanmıştır.), belirlenen zaman ağırlıklarında tartılmış ve kriyojellerin şişme kapasiteleri ölçülmüştür. Su alarak şişen kriyojellerin, hacimlerindeki değişiklikte, bu analizle gözlemlenebilmiştir. Hacim değişikliği, doku iskelesinin, implante edilen bölgede kaplayacağı alanı öngörebilmek için önem teşkil etmektedir [9].

Bu bölümde aynı konsantrasyon oranında hazırlanan çözeltiler, farklı sayıda FT prosesine tabi tutulmuş ve bu durumun kriyojelin karakterizasyonu üzerindeki etkisi incelenmiştir.

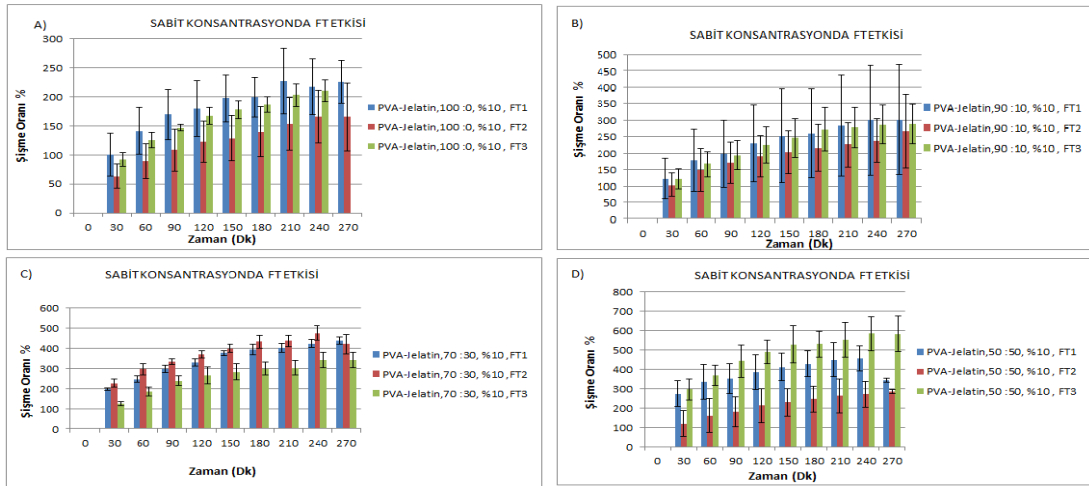
Değişen PVA/Jelatin konsantrasyonunun şişme oranı üzerindeki etkisi Şekil 4.1'de A, B, C ve D olarak belirtilen grafikler ile gösterilmiştir. Şekil 4.1'de toplam %10 polimer konsantrasyonu içerisinde en düşük PVA/Jelatin konsantrasyon oranı % 50:50 olarak gösterilmektedir. Bu konsantrasyondan düşük PVA miktarında kriyojelleşme görülmemiştir. Fiziki durumunu koruyamayan kriyojel, deiyonize su içerisinde çözülerek kaybolmuştur. Bu durumun nedeni ise konsantrasyonu artan jelatinin kimyasal çapraz bağlayıcı olmadan, sadece dondurma yöntemiyle jelleşme göstermemesidir.

Sadece PVA kullanılarak, (PVA/Jelatin ,%100:0, A)) üretilen doku iskelesi grafiğinde, şişme kapasitesi 1,2 ve 3 FT değerlerinde, diğer kriyojellerle

karşılaştırıldığında en düşük oranı göstermektedir (Şekil 4.1., A). Ancak sabit PVA/Jelatin konsantrasyonları kendi içine değerlendirildiğinde, değişen FT sayısının çarpıcı bir değişikliğe neden olmadığı da grafiklerden anlaşılmaktadır.

Ayrıca PVA konsantrasyonu azaldıkça artan dondurma çözündürme sayısı ile birlikte su tutma kapasitesinin arttığı gözlemlenmiştir. Bu durumun muhtemel nedeni ise, PVA-PVA bağ sayısının azalması buna bağlı olarak, kristalleşmenin azalması ve şişme kapasitesinin artmasıdır [29]. Bu duruma ek olarak Liu ve ark., yaptıkları bir çalışmada Grafit/PVA hidrojelere üretilmiş ve kristalin yapılarını incelemiştir. Sadece PVA kullanılarak üretilen hidrojellerin, XRD sonuçlarına göre;  $2\theta = 20^\circ$  değerinde açıkça, oluşan pik görülmektedir. Ortorombik kristal yapısını gösteren bu değer, Grafit/PVA kompozitinde düşmüştür. Bu durum, grafit ile PVA arasındaki oluşan hidrojen bağlarını göstermektedir [30].

Bajpai ve ark., yaptıkları çalışmada üç ve dokuz arasında değişen FT denemeleri yapmış ve bunun şişme kapasitesi üzerindeki etkisini incelemiştir. PVA/Jelatin kriyojellerinin; şişme kapasitesinin, artan FT ile birlikte azaldığı görülmüştür. Ayrıca PVA ve Jelatin arasındaki O=H grupları hidrojen bağları, jelatin varlığında artarken, PVA-PVA arasında oluşan  $\text{CH}_2$  bağlarının kaybolduğu gözlemlenmiştir. Bu duruma paralel olarak, PVA/Jelatin arasındaki kriyojelleşme sonucunda daha büyük gözenekli yapılar oluşmuş ve şişme oranı artış göstermiştir. [29].



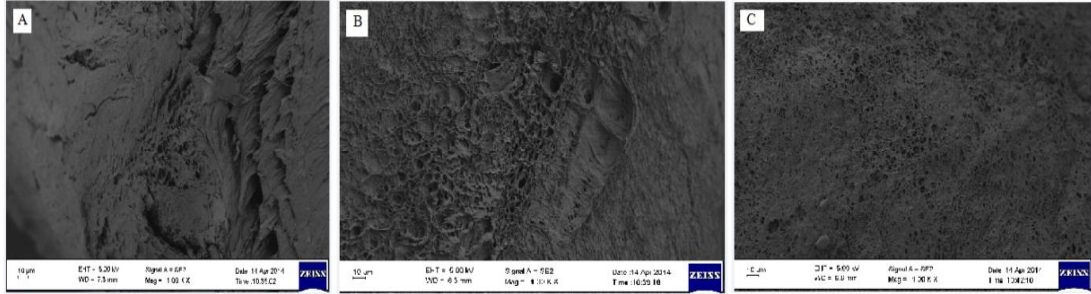
Şekil 4.1. Farklı sayıda ve konsantrasyonda FT uygulanarak hazırlanmış, doku iskelelerinin şişme oranı karşılaştırması A) PVA/Jelatin, 100:0, B) PVA/Jelatin, 90:10, C) PVA/Jelatin, 70:30, D) PVA/Jelatin, 50:50, %10 toplam polimer konsantrasyonu



#### 4.1.1.2. SEM ile analiz

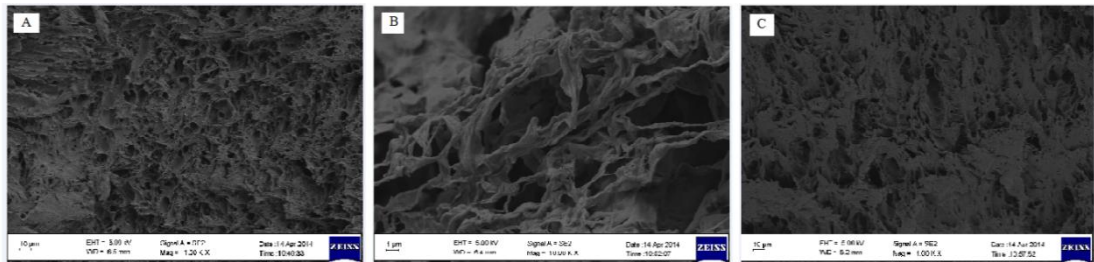
Bu tez kapsamında, SEM analizleri için kullanılan tüm doku iskeleleri, yıkama işleminden sonra, ilk önce  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de bir gün süreyle dondurulmuş ve daha sonra bir gün süreyle liyofilizerde kurutulmuştur.

Sabit konsantrasyonda, farklı sayıda FT uygulanan doku iskelelerinin SEM görüntüleri Şekil 4.2.'de gösterilmektedir. PVA/Jelatin, 100:0 ve PVA/Jelatin, 90:10 oranlarında hazırlanan doku iskelelerinin morfolojik yapılarındaki değişikliğin, azalan PVA konsantrasyonu ile birlikte artan gözenek yapısı yönünde olduğu Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'de ki görüntülerle doğrulanmaktadır.



Şekil 4.2. Farklı sayıda FT uygulanan doku iskelelerinin SEM görüntüleri, PVA/Jelatin, 100:0, %10 polimer konsantrasyonu, sırasıyla A ): FT 1, B): FT 2 ve C): FT 3 (x1000)

Şekil 4.2 ve Şekil 4.3 karşılaştırıldığında jelatin bulunmayan doku iskelelerindeki gözeneksiz yapı dikkat çekmektedir. Jelatin varlığında, PVA/Jelatin molekülleri arasında çapraz bağlanma neticesinde gözenekli bir yapı oluştuğu gözlemlenmiştir.



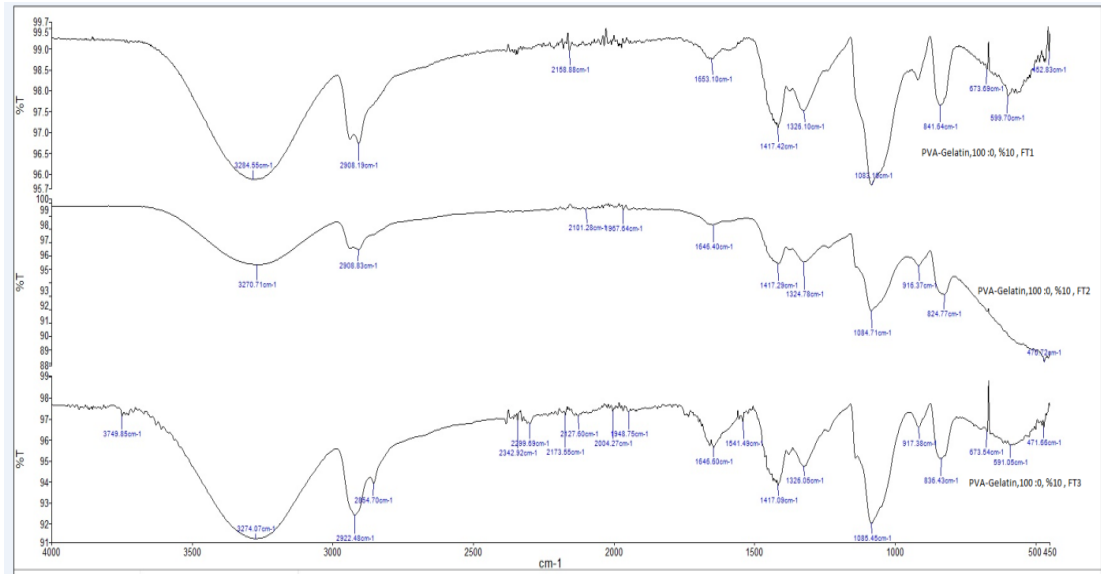
Şekil 4.3. Farklı sayıda FT uygulanan doku iskelelerinin SEM görüntüleri, PVA/Jelatin, 90:10, %10 polimer konsantrasyonu, sırasıyla A ): FT 1, B): FT 2 ve C): FT 3 (x1000)

Benzer bir çalışmada Lozinsky ve ark., farklı konsantrasyonlarda PVA çözeltilerini dondurma/çözdürme tekniği ile çapraz bağlamışlardır. SEM

görüntülerinde, artan PVA oranı ile birlikte gözeneklerin küçüldüğü ve gözenek duvarlarının kalınlaştığı belirtilmiştir [49].

#### 4.1.1.3. FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) analizi

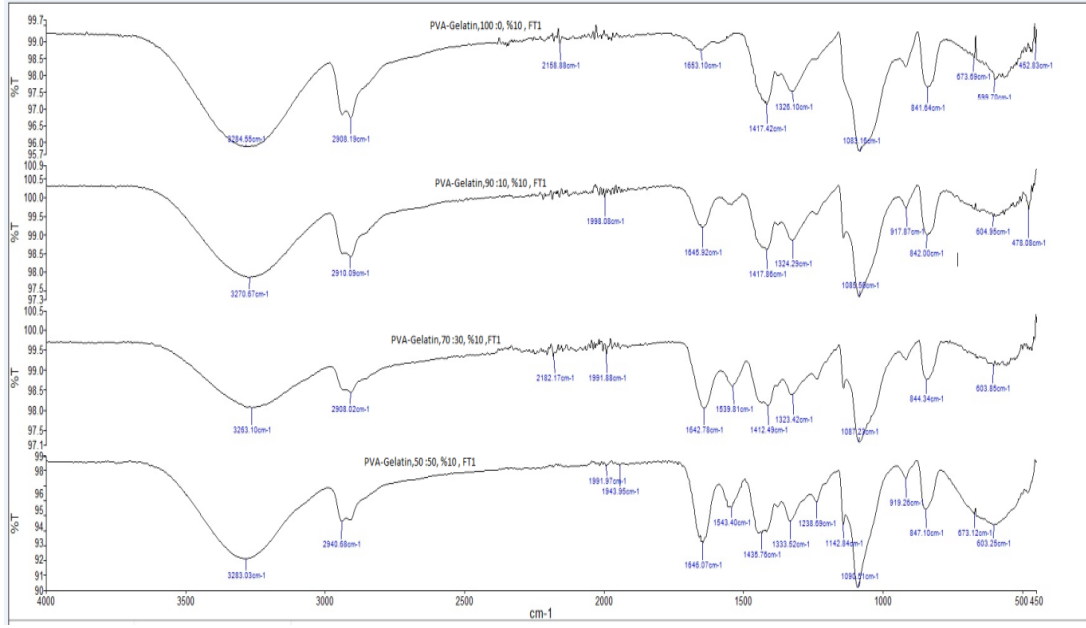
PVA/Jelatin doku iskelelerine farklı sayıda FT uygulandıktan sonra, doku iskelesinin kimyasal yapısında meydana gelen değişimlerin belirlenebilmesi için FTIR analizi yapılmıştır. Farklı sayıda FT işlemi uygulanan PVA/Jelatin doku iskelelerine ait spektrumlar Şekil 4.4’de gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Farklı sayıda FT uygulanarak hazırlanmış, doku iskelesinin (PVA/Jelatin, 100:0) FTIR spektrumu, %10 polimer konsantrasyonu

Sonuçlar incelendiğinde, PVA/Jelatin (100:0) konsantrasyonunda hazırlanan doku iskelesinde 3200 ve 3550  $\text{cm}^{-1}$  dalga boylarında pik oluşumu görülmektedir. Bu pik intermoleküler ve intramoleküler O-H grupları arasındaki hidrojen bağlarını doğrulamaktadır [29, 43].

Spektrumda sırasıyla 1141  $\text{cm}^{-1}$  ve 1085  $\text{cm}^{-1}$  dalga boylarında gözlemlenen pikler ise, PVA molekülleri arasındaki C-O (crystallinity) ve C-O-C arasındaki karakteristik pikleri göstermektedir [29, 44].



Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonda hazırlanmış, doku iskelelerinin FTIR spektrumları A) PVA/Jelatin, 100:0, B) PVA/Jelatin, 90:10, C) PVA /Jelatin, 70:30, D) PVA/Jelatin, 50:50, %10 polimer konsantrasyonu

Liu ve ark., yaptıkları çalışmada PVA ve Jelatin kompozitlerini FT tekniği ile üretmiş ve kimyasal analizinde, sadece PVA (Şekil 4.4) polimerinin bulunduğu spektrumda  $1658\text{ cm}^{-1}$  dalga boyundaki pikin, jelatin varlığında derinleştiğini belirtmişlerdir [51]. Bu eğilim, aynı şekilde, Şekil 4.5’de belirtilen spektrumda da görülmektedir. Bu sonuç, PVA/Jelatin kriyojellerinde, Jelatin bulunduğunu göstermektedir. Artan jelatin miktarı ile birlikte, su absorblama miktarı artmış ve pikin derinlemesine sebep olmuştur [51].

#### 4.1.1.4. In vitro degradasyon çalışmaları

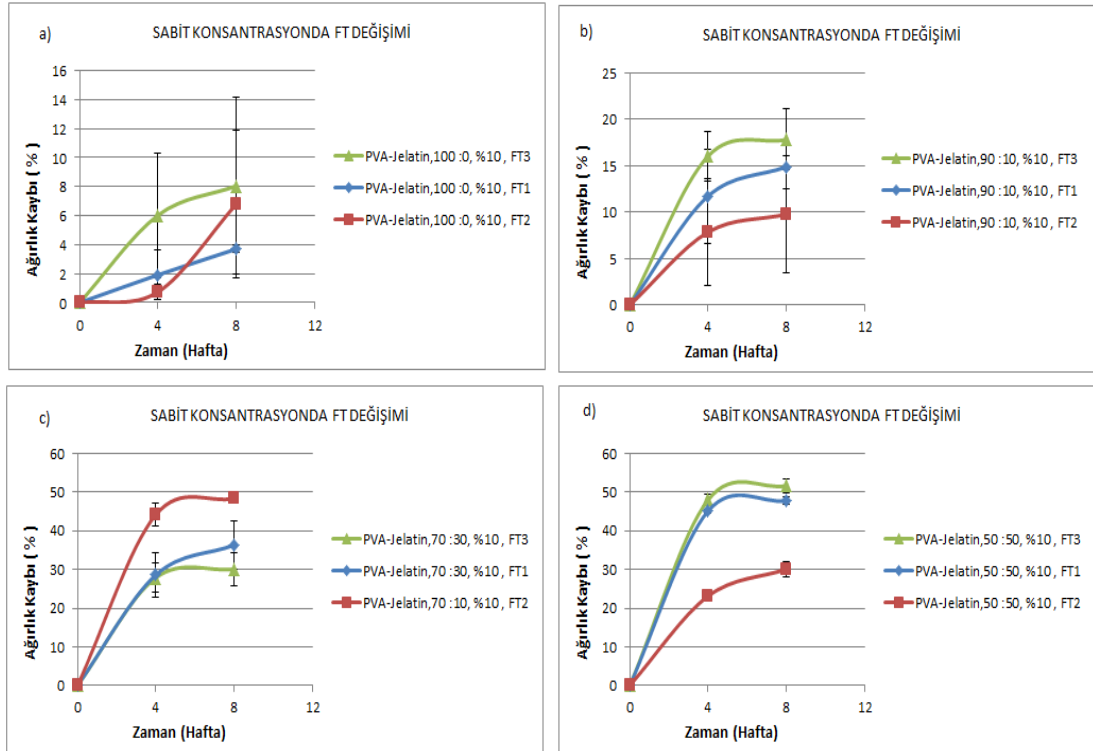
Bu bölümde kriyojellerin degradasyon davranışları incelenmiştir. Su banyosunda  $37^{\circ}\text{C}$ ’de distile su içerisinde takip edilen tüm örnekler belirlenen zaman aralıklarında yıkanmış, bir gün süreyle  $-80^{\circ}\text{C}$ ’de bekletilmiş ve liyofilizerde kurutulmuştur. Kurutulan örneklerin tartımları yapılmış ve tekrar su eklenmiştir.

Şekil 4.6 değişen PVA/Jelatin oranının ve FT sayısının degradasyon oranı üzerindeki etkisi görülmektedir. PVA/Jelatin (100:0) ve PVA/Jelatin (50:50) kriyojellerinde degradasyon oranları sırasıyla %8 ve %50 olarak görünmektedir. Artan jelatin oranı ile birlikte, degradasyon oranının artması beklenen bir durumdur.

Jelatinin suda çözünebilen yapısı, çözünme oranının arttırarak, degradasyon profilini pozitif yönde etkilemiştir.

Bu duruma ek olarak, PVA insan vücudu içerisinde enzimlerle parçalanamaz, vücudumuzda PVA polimerini parçalayan enzim bulunmamaktadır. PVA hidrolitik parçalanma ile degrade olmaz. Degradasyon tamamen fiziksel erozyon ve kriyojelin çözünmesi ile gerçekleşir [18]. Jelatin oranı arttıkça degradasyon oranının arttığı (Şekil 4.6) görülmektedir. Jelatinin hidrolitik parçalanmaya uğraması nedeniyle, artan jelatin miktarının artması ile birlikte degradasyon oranı artmıştır [31].

FT sayısının arttırılması ile birlikte PVA/Jelatin doku iskelelerinin daha sıkı veya sert bir yapıya dönüştüğü daha önceki çalışmalarda da belirtilmiştir [18, 29]. Ancak bu durumun degradasyon üzerindeki etkisinin fazla olduğu söylenemez (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Farklı sayıda FT uygulanarak hazırlanmış, doku iskelelerinin degradasyon oranı karşılaştırması a) PVA/Jelatin, 100:0, b) PVA/Jelatin, 90:10, c) PVA/Jelatin, 70:30, d) PVA/Jelatin, 50:50, %10 polimer konsantrasyonu

PVA oranının artması ile birlikte şişme oranının azaldığını, gözenek yapısının küçüldüğünü (Şekil 4.1) daha önce belirtmiştik. Bu duruma paralel olarak, PVA oranı yüksek kriyojellerin, stabilitesi artmakta ve degradasyon oranı düşmektedir.

## 4.2. GLUTERALDEHİT (GA) İLE ÇAPRAZ BAĞLAMA YÖNTEMİ

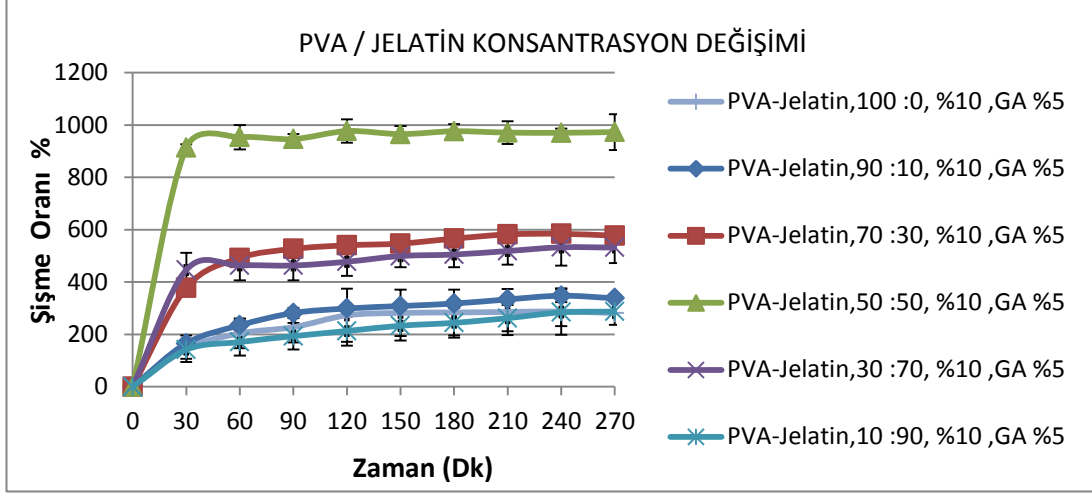
### 4.2.1. PVA/Jelatin Konsantrasyon Değişiminin Doku İskeleleri Üzerindeki Etkisi

#### 4.2.1.1. Şişme çalışmaları

Burada Şekil 4.7 görüldüğü gibi PVA/Jelatin, 50:50 konsantrasyonu ile üretilen doku iskelesi, en yüksek şişme oranına sahiptir. PVA oranı arttıkça, su tutma kapasitesinin azaldığı gözlemlenmiştir. Ayrıca bu sonuçların ışığında, %50 PVA konsantrasyonunun kritik bir değer olduğu görülmektedir. Şöyle ki, su alma kapasitesi, yüksekten düşük değere doğru, eşit konsantrasyon değerinden itibaren, % 50 PVA, %30 PVA ve en son %10 PVA olarak sıralanmaktadır. Burada Jelatin-gluteraldehit bağ oranının artması nedeniyle su tutma kapasitesinin azaldığı gözlemlenmektedir. Bu doku iskelelerinde, çok fazla hacim değişikliği gözlemlenmezken, en yüksek gözenek çapı PVA/Jelatin,10: 90, %10, GA %5 doku iskelesinde görülmüştür.

Choi ve ark., yaptıkları bir çalışmada, GA kullanarak, dondurarak kurutma yöntemi ile, değişen PVA/Jelatin konsantrasyonlarında doku iskeleleri üretmiş ve artan jelatin miktarı ile birlikte gözenek boyutlarının arttığını belirtmişlerdir. Ayrıca gözeneklerin birbiri ile bağlantısının oluşmasına ek olarak, gözeneklerin homojenitesinin arttığı belirtilmiştir [38].

Bu çalışmada en yüksek şişme kapasitesi, %973 oranı ile PVA/Jelatin, 50:50 konsantrasyon değerinde görülürken; en düşük şişme kapasitesi PVA/Jelatin, 100:0 ve PVA/Jelatin, 10:90 oranlarında hazırlanan polimer karışımlarında görülmüştür. Bu duruma ek olarak dengeye gelme noktasında ise; PVA/Jelatin, 50:50 konsantrasyonundaki doku iskelesinin otuzuncu dakikada dengeye geldiği gözlemlenmiştir.



Şekil 4.7. Sabit miktarda (%5) GA çapraz bağlayıcı kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PVA/Jelatin doku iskelelerinin şişme oranı karşılaştırması, % 10 polimer konsantrasyonu

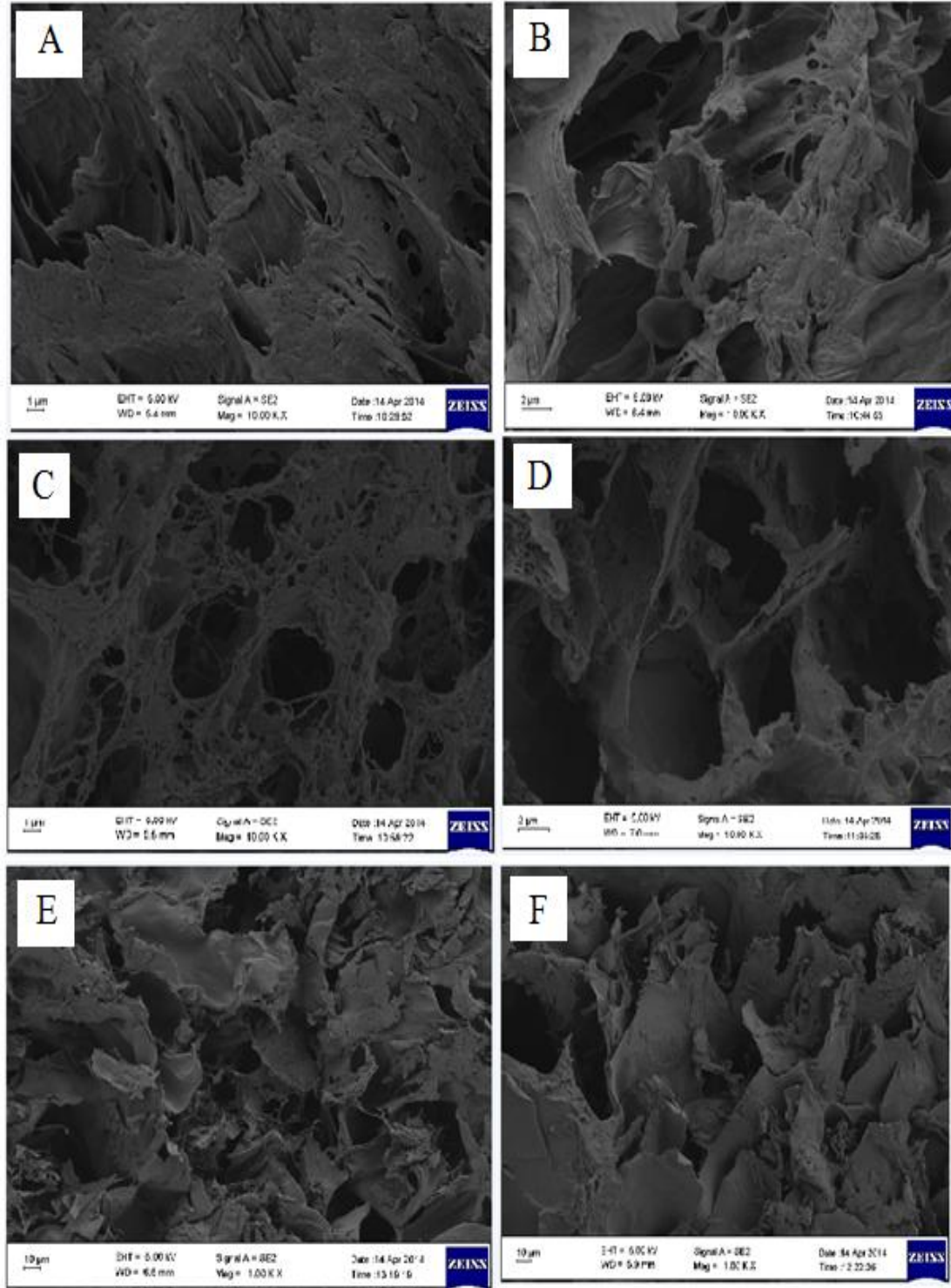
Kriyojeller PVA ve Jelatinin hidrofilik yapısı nedeniyle şişme özelliği göstermişlerdir. Literatürde PVA ve PVA/Jelatin kriyojelleri dondurma/çözdürme prosesi ile üretilmiştir [18, 29]. Aynı anda GA çapraz bağlayıcı ekleyerek dondurma prosesine literatürde rastlanmamıştır.

#### 4.2.1.2. SEM analizleri

Farklı konsantrasyonda PVA/Jelatin polimerleri ile sabit miktarda glutraldehitin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı bu bölümde, doku iskelelerinin morfolojik değerlendirmesi için SEM analizi yapılmıştır.

Doku iskelelerinde, PVA konsantrasyon oranı azaldıkça, gözenek boyutlarının büyüdüğü açıkça fark edilmektedir. PVA/Jelatin oranı 100:0 ve 90:10 olarak belirlenen kriyojellerde, gözenek duvarları kalın olmakla birlikte; gözenek boyutlarının da küçük olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun bir sonucu olarak, bu doku iskelelerinin şişme oranlarının da düşük olduğu bir önceki bölümde görülmektedir.





Şekil 4.8. Sabit miktarda (%5) GA çapraz bağlayıcı kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PVA/Jelatin doku iskelelerinin SEM görüntüleri (A,B,C,D x10000; E,F x1000), A) PVA/Jelatin, 100:0, B) PVA/Jelatin, 90:10, C) PVA/Jelatin, 70:30, D) PVA/Jelatin, 50:50, E) PVA/Jelatin, 30:70, F) PVA/Jelatin, 10:90, %10 polimer konsantrasyonu

Çizelge 4.1. Sabit miktarda (%5) GA çapraz bağlayıcı kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PVA/Jelatin doku iskelelerinin gözenek boyutları

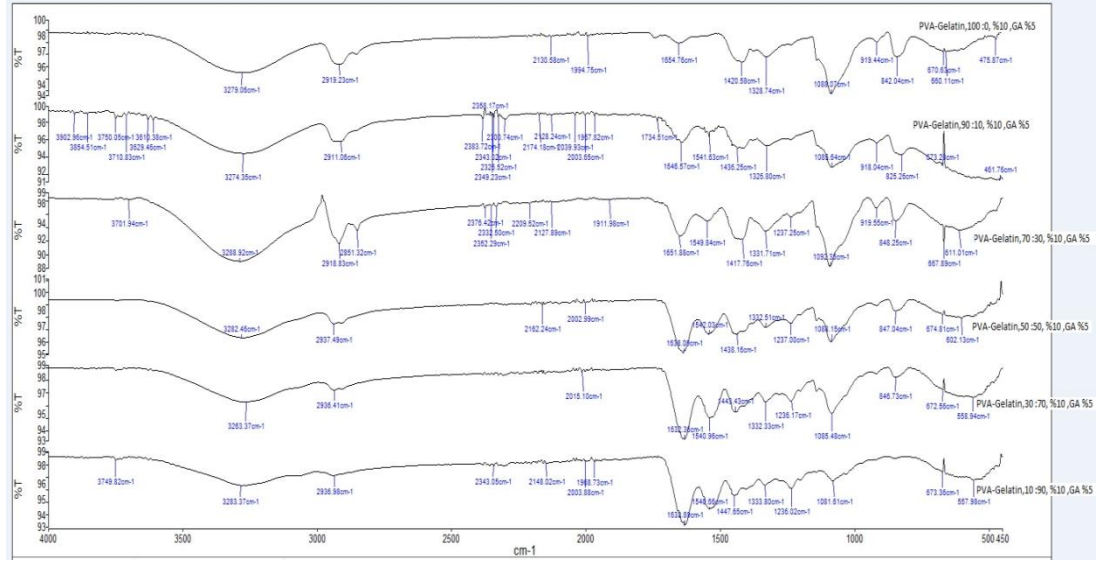
Doku İskelesi	Gözenek Boyutu ( $\mu\text{m}$ )
PVA/Jelatin,100 :0, %10 ,GA %5	3,71 $\pm$ 1,28
PVA/Jelatin,90 :10, %10 ,GA %5	4,06 $\pm$ 1,57
PVA/Jelatin,70 :30, %10 ,GA %5	5,11 $\pm$ 1,83
PVA/Jelatin,50 :50, %10 ,GA %5	7,55 $\pm$ 1,12
PVA/Jelatin,30 :70, %10 ,GA %5	38,41 $\pm$ 9,69
PVA/Jelatin,10 :90, %10 ,GA %5	45,75 $\pm$ 11,14

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan kriyojellerin, önce  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulan daha sonra liyofilizerde kurutulduktan sonra çekilen SEM görüntüleri, Şekil 4.8'de ve Çizelge 4.1'de belirtilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki doku iskelelerinde, gözenek boyutları yaklaşık olarak 3,7 - 45,75  $\mu\text{m}$  arasında değişmektedir.

#### 4.2.1.3. FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) analizi

Bu bölümde, GA ile çapraz bağlanan PVA ve PVA/Jelatin doku iskelelerinin FTIR spektrumları Şekil 4.9'da gösterilmiştir. PVA ve GA arasındaki bağlar sırasıyla O-H, C=O ve C-O-C olarak sıralanırken, bu bağları işaret eden pikler sırasıyla 3200-3500  $\text{cm}^{-1}$ , 1735 - 1750  $\text{cm}^{-1}$ , 1085 - 1150  $\text{cm}^{-1}$  dalga boylarında gözlemlenmektedir [43].



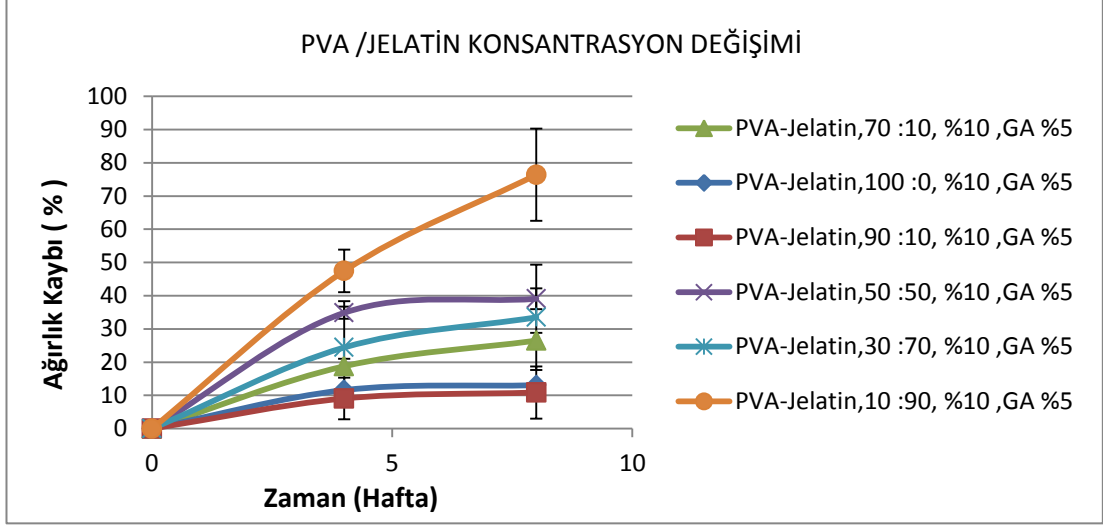


Şekil 4.9. Sabit miktarda (%5) GA çapraz bağlayıcı kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PVA/Jelatin doku iskelelerinin FTIR spektrumları, % 10 polimer konsantrasyonu

PVA molekülleri arasındaki karakteristik (C-O (crystallinity) ve C-O-C ) bağ yapılarını gösteren pikler spektrumlarda sırasıyla 1141 cm<sup>-1</sup> ve 1085 cm<sup>-1</sup> dalga boylarında gözlemlenmektedir [24, 39]. Bu piklerin Şekil 4.9’da, azalan PVA miktarı ile birlikte kaybolduğu görülmektedir (Şekil 4.9, PVA/Jelatin 10:90). Ancak PVA ile GA arasındaki C-O-C bağları sırasıyla PVA/Jelatin, 90:10, 70:30, 50:50 konsantrasyonlarında görülmektedir.

#### 4.2.1.4. In vitro degradasyon çalışmaları

PVA ve jelatin polimerleri gluteraldehit ile reaksiyona girerek çapraz bağ oluştururlar. Jelatin tarafında gluteraldehit, bitişik lizin kalıntılarının her ε-NH<sub>2</sub> fonksiyonel grubu ile reaksiyona girerken, PVA tarafında ise iki komşu hidroksil grubu ile reaksiyona girerek asetal köprüler oluşturur [52].

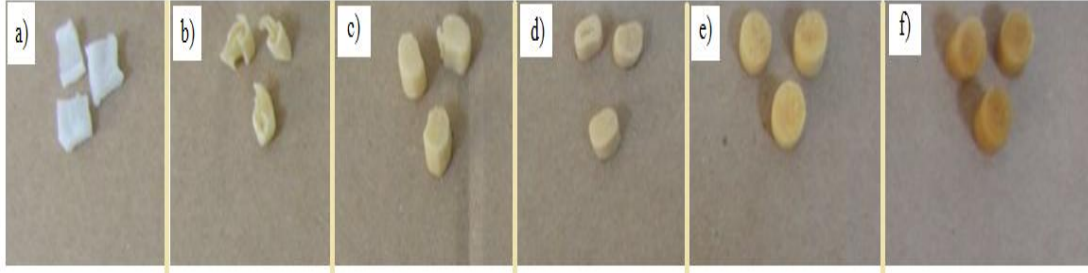


Şekil 4.10. Sabit miktarda (%5) GA çapraz bağlayıcı kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PVA/Jelatin doku iskelelerinin degradasyon oranı karşılaştırması, %10 polimer konsantrasyonu

Şekil 4.10'da PVA/Jelatin (10:90) olan doku iskelesinin %76 değeriyle en yüksek degradasyon oranına sahip olduğu görülmektedir. Bu durum, jelatinin, PVA'ya göre daha amorf bir yapıda olması ile açıklanabilir. Jelatin oranı arttıkça, başka bir deyişle PVA oranı azaldıkça degradasyon oranı düşmüştür. Jelatinin hidrolitik parçalanmaya uğraması nedeniyle, jelatin oranı arttıkça degradasyon oranı artmıştır [38].

Buna ek olarak PVA'ün kristalinitesinin yüksek olması nedeniyle, su tutma kapasitesi düşük ve hidrolizi yavaştır [29].

Burada dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta ise en büyük gözenek çapına sahip doku iskelesi PVA/Jelatin (10:90) kriyojelidir. Ancak şişme oranı diğer kriyojellerle kıyaslandığında %287 oranıyla en düşük seviyededir (Şekil 4.7). Bu durum kriyojellerin sadece büyük çaplı gözeneklerine su aldığını göstermektedir, hacimsel değişiklik minimum seviyededir. Büyük gözenekler ise degradasyonu arttırmıştır.



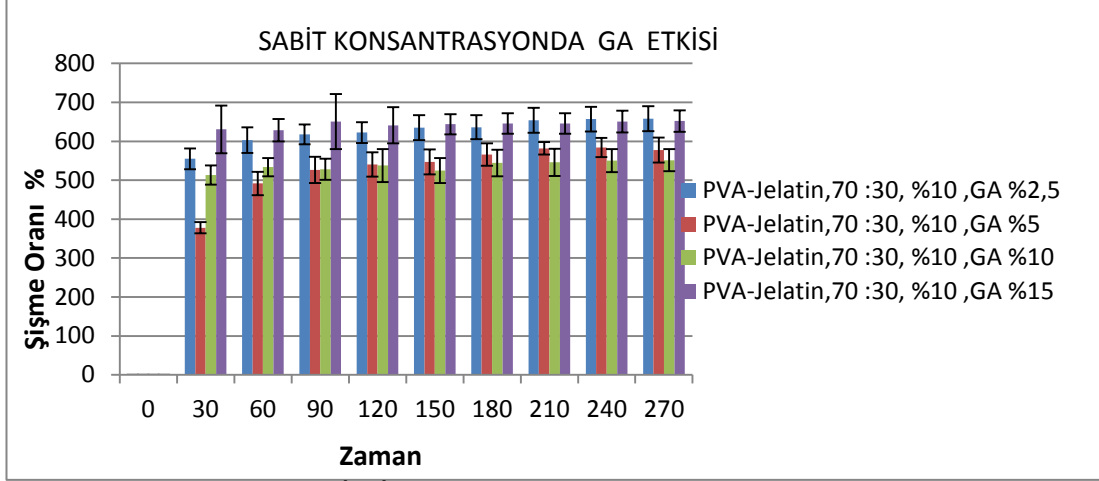
Şekil 4.11. Sabit miktarda (%5) GA çapraz bağlayıcı kullanılarak, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PVA/Jelatin doku iskelelerinin görüntüleri (a) PVA/Jelatin, 100:0, b) PVA/Jelatin, 90:10, c) PVA/Jelatin, 70:30, d) PVA/Jelatin, 50:50, e) PVA/Jelatin, 30:70, f) PVA/Jelatin, 10:90, %10 polimer konsantrasyonu

PVA ve Jelatin konsantrasyonunun değişimi ile birlikte, doku iskelelerindeki fiziksel değişim Şekil 4.11’de açıkça görülmektedir. PVA/Jelatin, 100:0 ve PVA/Jelatin, 90:10 konsantrasyonlarındaki doku iskeleleri, çökmüş ve yassı bir görüntüye sahipken, sırasıyla PVA/Jelatin, 70:30, 50:50, 30:70 ve 10:70 sahip doku iskeleleri, içinde üretildikleri şırınganın silindirik yapılarını korumaktadır.

#### 4.2.2. GA Konsantrasyon Değişiminin Doku İskeleleri Üzerindeki Etkisi

##### 4.2.2.1. Şişme çalışmaları

Yapılan gözlemlerde PVA/Jelatin oranı 70:30 olarak hazırlanan kriyojelin, gözeneklerinin büyük olduğu ve su tutma kapasitesinin yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum üzerine, farklı oranlarda GA eklenerek değişim gözlemlenmiştir. Şekil 4.12’de görüldüğü gibi, su tutma kapasitesi GA oranı ile ters orantılıdır. Bu duruma bağlı olarak GA oranı arttıkça polimerler arasındaki bağ sayısı artıyor ve su tutma kapasitesi azalıyor sonucuna varılabilir [27]. Ancak denge noktasına ulaşıldığında, %15 GA oranında hazırlanan kriyojelin su tutma kapasitesinin, %2,5 GA oranında hazırlanan doku iskelesinin su tutma kapasitesine eşit olduğu gözlemlenmiştir. Dengeye gelme süreleri karşılaştırıldığında ise, tümünün, altmışıncı dakikada dengeye geldiği görülmektedir. Toksik bir madde olan gluteraldehitin artmış olması, doku iskelelerinin şişme oranı üzerinde çok büyük bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu duruma istinaden, nihai amacın, bu doku iskelelerinin vücuda implante edilmesi olması sebebiyle, bu doku iskelesi çeşidinde, fazla GA kullanımının, doku mühendisliği beklentilerini arttırmadığı için, faydalı olmayacağı görülmüştür.

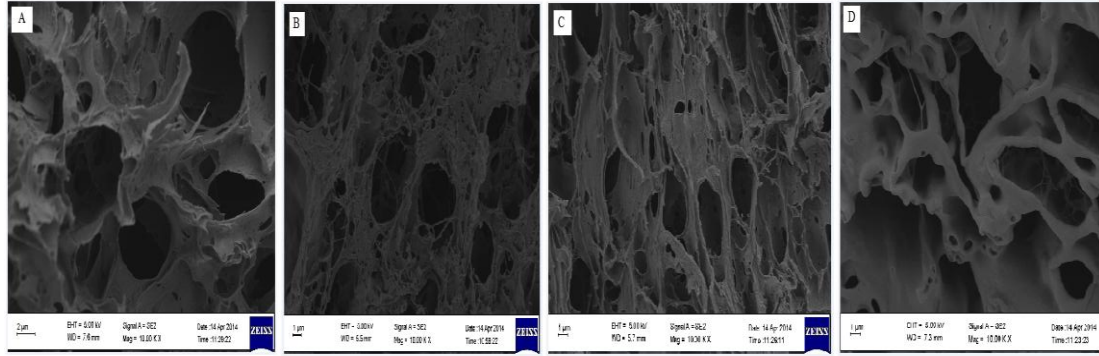


Şekil 4.12. Farklı oranda GA kullanılarak hazırlanan PVA/Jelatin, 70:30 doku iskelelerinin şişme oranı karşılaştırması, %10 Polimer konsantrasyonu

Kriyojellerin karakteristik özelliklerinden biri, bu doku iskelelerine bastırılarak su çıkışı sağlandıktan sonra, tekrar suyun içine bırakıldıklarında şişmeleridir. Bu işlemin tekrarlanması, kriyojelin yapısının bozulmasına neden olmaz. Bu yapı, PVA/Jelatin, 70:30 doku iskelesinde, değişen GA oranına istinaden tüm kriyojellerde görülmüştür.

#### 4.2.2.2. SEM ile analiz

Farklı oranlarda GA eklenerek üretilen PVA/Jelatin, 70:30 doku iskelesinin SEM görüntüleri Şekil 4.13’de görülmektedir.



Şekil 4.13. Farklı oranda GA kullanılarak hazırlanan PVA/Jelatin, 70:30 doku iskelelerinin SEM görüntüleri, (A : %2,5 GA, B : %5 GA, C : %10 GA ve D : %15 GA), %10 polimer konsantrasyonu

SEM fotoğraflarında, tüm doku iskelelerinin gözenekli bir morfolojiye sahip olduğu açıkça görülmektedir. Ancak %15 GA oranına sahip doku iskelesinin daha kalın gözenekleri bulunmaktadır. Bu doku iskelesinin kalın duvarları olmasına

rağmen, şişme kapasitesinin diğer doku iskeleleri ile aynı seviyede olduğu görülmektedir (Şekil 4.12, Şekil 4.13). Bu durum, kriyojellerin daha büyük gözeneklere sahip olması ile açıklanabilir.

Çizelge 4.2 Farklı oranda GA kullanılarak hazırlanan PVA/Jelatin, 70:30 doku iskelelerinin gözenek boyutları

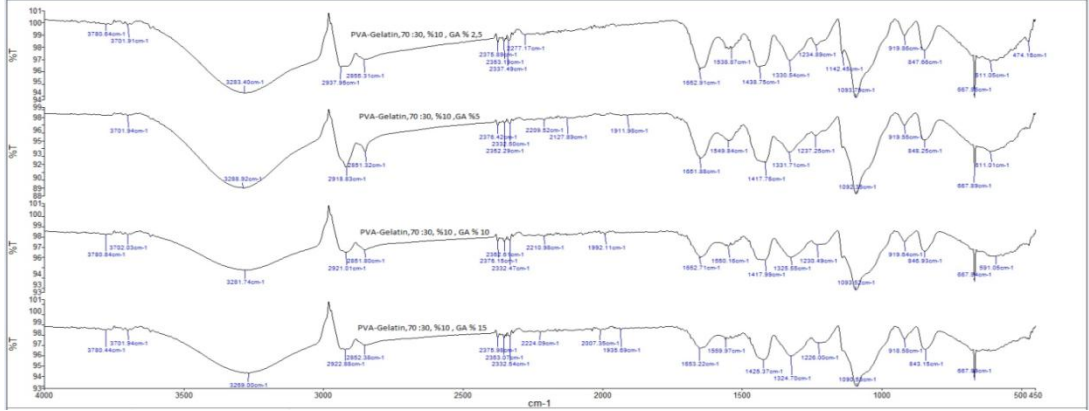
Doku İskelesi	Gözenek Boyutu( $\mu\text{m}$ )
PVA/Jelatin,70 :30, %10 ,GA % 2,5	7,89 $\pm$ 1,74
PVA/Jelatin,70 :30, %10 ,GA % 5	5,11 $\pm$ 1,83
PVA/Jelatin,70 :30, %10 ,GA % 10	5,92 $\pm$ 1,03
PVA/Jelatin,70 :30, %10 ,GA % 15	7,65 $\pm$ 1,91

Kriyojellerin standart sapmalarla birlikte gözenek çapını gösteren Çizelge 4.2'de, artan GA oranının gözenek boyutuna büyük bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Toksik bir çapraz bağlayıcı olan gluteraldehitin oranının arttırılması ile gözenek çapı değişmezken, gözenek duvarları kalınlaşmıştır.

#### 4.2.2.3. FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) analizi

PVA/Jelatin, 70:30 konsantrasyonunda, farklı GA oranlarında hazırlanan doku iskelelerinin FTIR analizlerinde PVA-GA arasındaki moleküller ve moleküller arası hidrojen bağlarını gösteren (O-H) 3200-3500  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyları gözlemlenmiştir (Şekil 4.14).

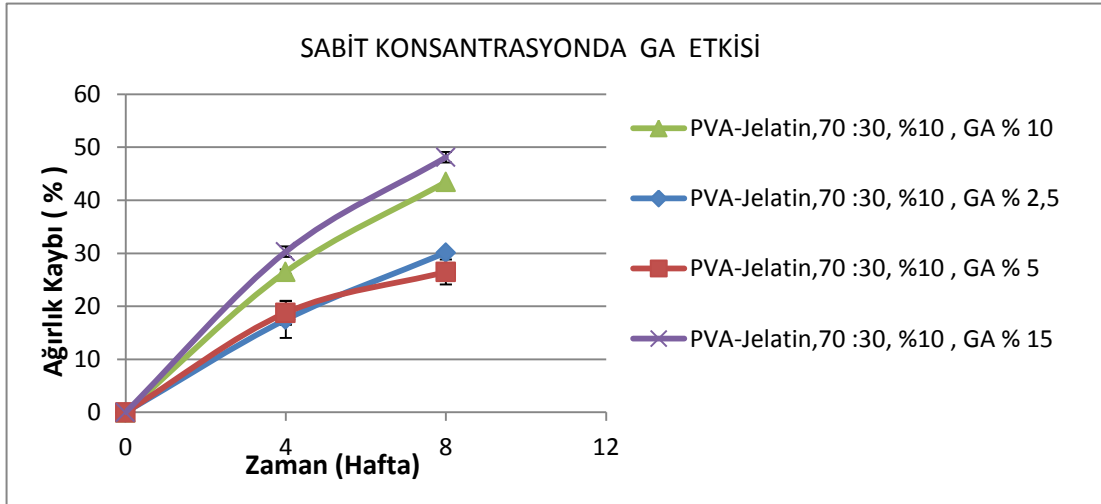
2840 - 3000  $\text{cm}^{-1}$  dalga boylarındaki titreşim ise PVA molekülündeki alkil gruplarından uzanan C-H bağlarını işaret etmektedir [43].



Şekil 4.14. Farklı oranda GA kullanılarak hazırlanan PVA/Jelatin, 70:30 doku iskelelerinin SEM görüntüleri ( C-2,5: %2,5 GA, C-5: %5 GA, C-10: %10 GA ve C-15: %15 GA), %10 polimer konsantrasyonu

#### 4.2.2.3. In vitro degradasyon çalışmaları

Degradasyon çalışmalarında, sabit konsantrasyonda değişen glutraldehit etkisi Şekil 4.15’de gösterilmiştir.



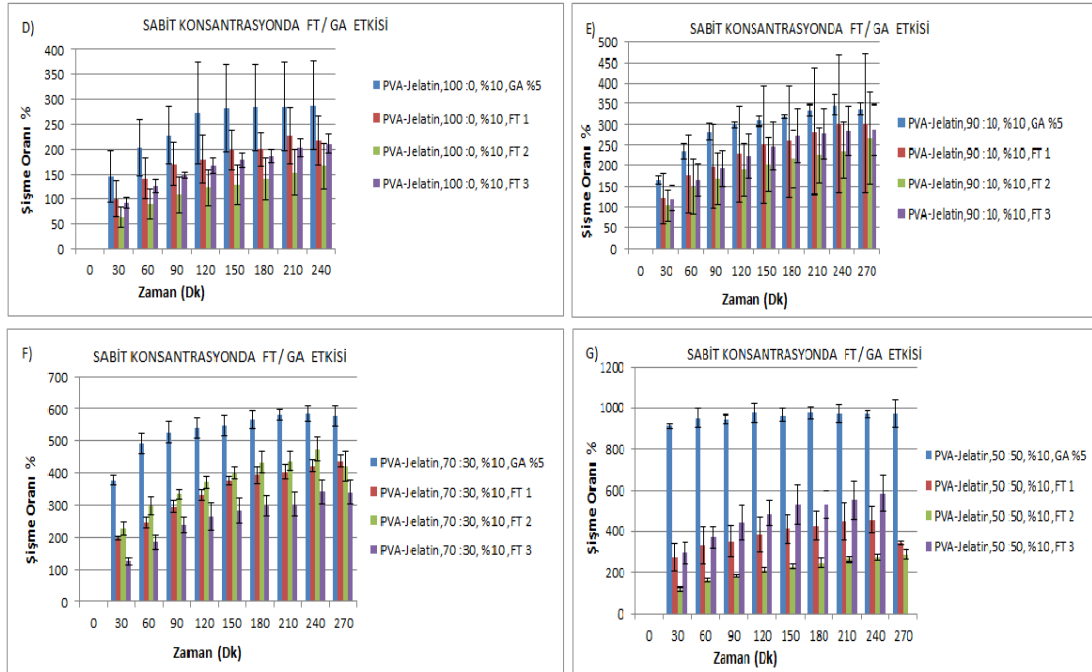
Şekil 4.15. Farklı oranda GA kullanılarak hazırlanan PVA/Jelatin, 70:30 doku iskelelerinin degradasyon oranı karşılaştırması ( C-2,5: %2,5 GA, C-5: %5 GA, C-10 : %10 GA ve C-15: %15 GA), %10 polimer konsantrasyonu

Glutraldehit ile çapraz bağlanan PVA ve jelatin polimerlerinin oluşturduğu kriyojellerin degradasyon profili farklılık göstermektedir. GA oranı arttıkça degradasyon oranı artmıştır. Bu sonuç, artan glutraldehit oranı ile birlikte GA/Jelatin bağ oranının artması ve PVA/PVA bağ yapısının (kristallinitesinin) azalması ile açıklanabilir. Ayrıca şişme oranı ve SEM özellikleri, degradasyon eğilimini doğrulamaktadır. Artan gözenek çapı ve şişme oranı ile birlikte malzemenin stabilitesi azalmıştır.

### 4.2.3. GA ve FT Çapraz Bağlayıcı Yönteminin Doku İskeleleri Üzerindeki Etkisinin Karşılaştırması

#### 4.2.3.1. Şişme çalışmaları

Bu bölümde, tez kapsamında kullanılan farklı iki çapraz bağlama yöntemi karşılaştırılmıştır. Tüm konsantrasyonlarda, gluteraldehit ile çapraz bağlamanın daha yüksek su tutma kapasitesine sebep olduğu görülmektedir. GA kullanılarak oluşturulan kriyojellerin su tutma kapasitesinin, FT yöntemi ile oluşturulan kriyojellerle karşılaştırıldığında iki katına varan bir fark olduğu Şekil 4.16'da da görülmektedir. Büyük gözenek oluşumu ve GA'in etkisi ile polimerler arasındaki homojen bağlanma, yüksek şişme oranının muhtemel sebepleridir.



Şekil 4.16. Farklı çapraz bağlama tekniği ile hazırlanan PVA/Jelatin, doku iskelelerinin şişme oranı karşılaştırması, %10 polimer konsantrasyonu

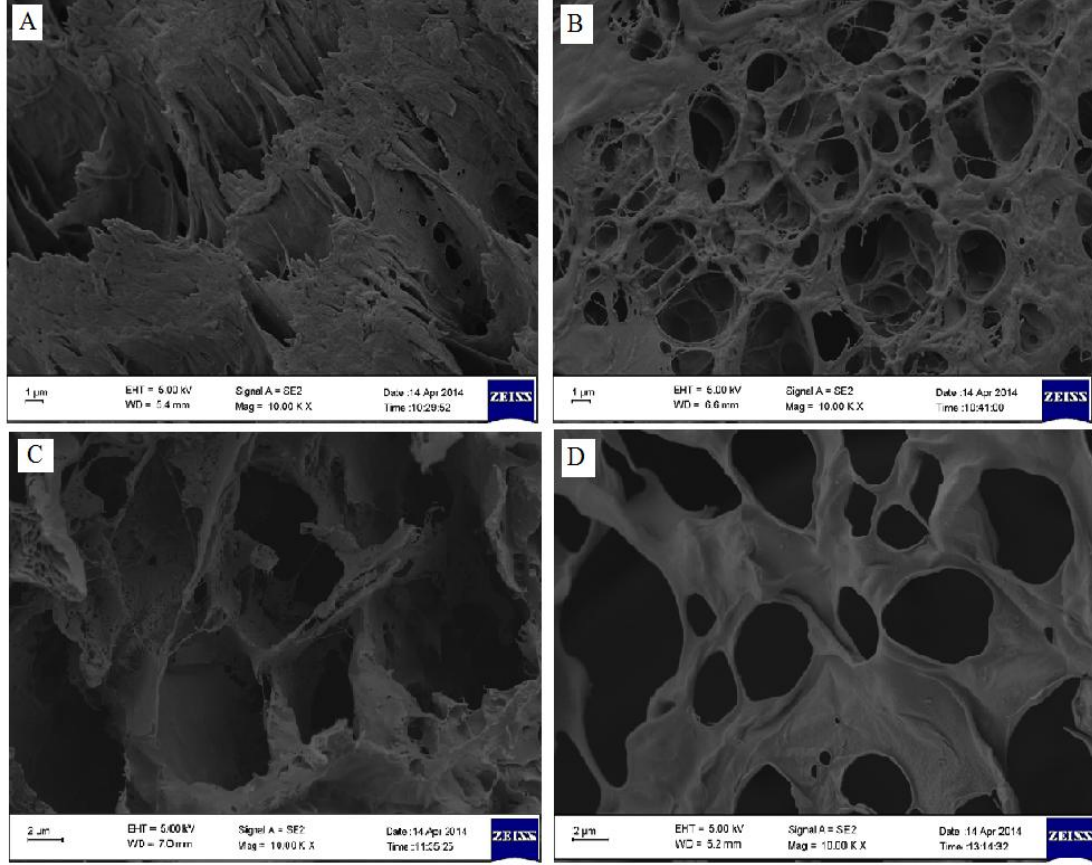
Bu duruma ek olarak iki farklı çapraz bağlam yönteminde de yüksek şişme oranının, azalan PVA miktarı ile ortaya çıktığı görülmüştür. GA yöntemi ile üretilen, PVA/Jelatin, 50:50 daha büyük gözeneklere ve daha ince duvarlara sahiptir. Bu durum, kriyojelin şişme kapasitesini de arttırmıştır (Şekil 4.16).

#### 4.2.3.2. SEM ile analiz

Doku iskelesi morfolojik yapıları, üretim yöntemi, çapraz bağlayıcı ve polimer çeşidi, sıcaklık gibi birçok fonksiyondan etkilenmektedir [47, 53].



Hücrelerin göçü, besin ve oksijenin difüzyonu için, doku iskelelerinin gözenek boyutları ve homojenitesi çok önemlidir. Küçük gözeneklere sahip doku iskelelerinde hücre geçişleri zorlaşırken, homojen gözenek yapısı degradasyon hızı ve oranını olumlu yönde etkiler.



Şekil 4.17. Farklı çapraz bağlama tekniği ile hazırlanan PVA/Jelatin, doku iskelelerinin SEM görüntüleri (A) PVA/Jelatin, 100:0, GA %5 ve B) PVA/Jelatin, 100:0, FT3, C) PVA/Jelatin, 50:50, GA %5 ve D) PVA/Jelatin, 50:50, FT3), %10 polimer konsantrasyonu

SEM görüntülerinde GA ve FT yöntemi ile üretilen doku iskelelerinin, gözenek boyutları ve duvar kalınlıkları görülmektedir. GA ile çapraz bağlanan ve Jelatin içeren doku iskelesinin (D), büyük ve homojen olarak oluşmuş gözenekli bir yapıya sahip olduğunu görmek mümkündür. Bu yapı, şişme oranlarındaki değerleri de doğrulamaktadır (Şekil 4.17). Büyük gözenekli ve ince duvarlı yapılara sahip doku iskelelerinin şişme oranı yüksektir [53].

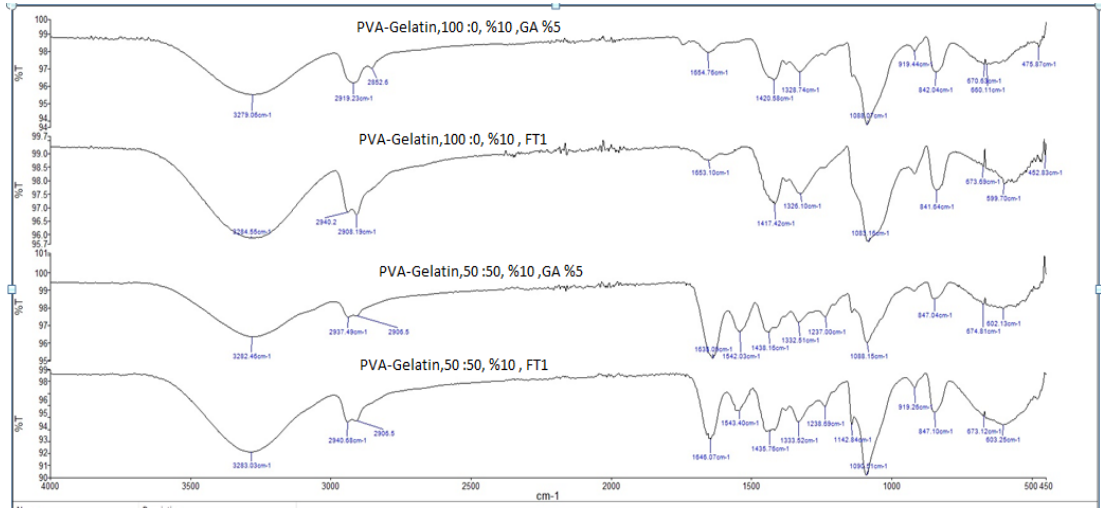
Literatürde aynı anda dondurma ve GA ekleme yöntemi ile üretilen, PVA ve PVA/Jelatin doku iskelelerine rastlanmamıştır. Ancak FT sayısının doku iskeleleri üzerine etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada ise bu iki yöntemle



birbirinden çok farklı doku iskeleleri üretilebilmiştir. PVA/Jelatin konsantrasyonunun optimum değerde seçilmesini takiben, GA ile birlikte büyük gözenekli sağlam yapılar üretilebilmiştir.

#### 4.2.3.3. FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) analizi

İki farklı çapraz bağlama yöntemi (GA, FT) sonucunda ortaya çıkan bağ yapıları Şekil 4.18’de iki farklı konsantrasyon için incelenmiştir.

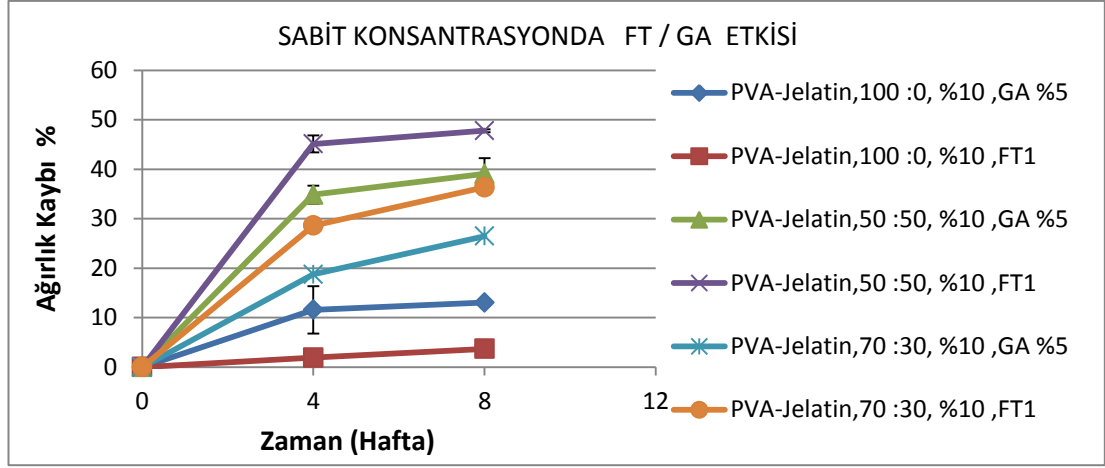


Şekil 4.18. Farklı çapraz bağlama tekniği ile hazırlanan PVA/Jelatin, doku iskelelerinin FTIR spektrumları (PVA/Jelatin, 100:0 ve PVA/Jelatin, 50:50), %10 polimer konsantrasyonu

PVA/Jelatin, 100:0 olarak belirtilen doku iskelesi spektrumunda GA ile bağlanan iki doku iskelesinde de hidroksil grupları arasındaki (O-H) bağın daha geniş bir alanı kapladığı görülmektedir.

#### 4.2.3.4. In vitro degradasyon çalışmaları

Dondurma/çözdürme fiziksel çapraz bağlama yöntemi ve glutaradehit ile çapraz bağlamanın degradasyon davranışı üzerindeki etkisi Şekil 4.19’da gösterilmiştir.



Şekil 4.19. Farklı çapraz bağlama tekniği ile hazırlanan PVA/Jelatin, doku iskelelerinin FTIR spektrumları (PVA/Jelatin, 100:0 ve PVA/Jelatin, 50:50), %10 polimer konsantrasyonu

Fiziksel çapraz bağlama yöntemi ile (zayıf hidrojen bağları) üretilen kriyojeller tersinir özelliğe sahiptir [49]. Ancak gluteraldehit kullanılarak kimyasal reaksiyon ile çapraz bağlama yöntemi ile oluşturulan yapılar ise, yeni özelliklere sahip kriyojellerdir. Burada aynı konsantrasyonda farklı iki çapraz bağlama yöntemi (GA, FT) karşılaştırıldığında; gluteraldehit kullanılarak üretilen kriyojellerin, degradasyon oranının daha düşük olduğu görülmektedir.

Burada dikkat edilmesi gereken nokta, tüm GA ile bağlanan PVA/Jelatin kriyojellerinde şişme oranı yüksek olmasına rağmen, degradasyon oranı daha düşüktür. Bu durum şişme oranlarının gösterildiği Şekil 4.16 ile açıklanabilir. GA ile oluşturulan kriyojeller, FT ile oluşturulan kriyojellere göre daha sağlam bağ yapıları ile bağlanmışlardır.

### 4.3. DEĞİŞEN POLİMER KONSANTRASYONUNUN DOKU İSKELELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Bu bölümde 4.1 ve 4.2’de üretilen tüm kriyojeller (değişen konsantrasyonlarda), toplam %8 polimer konsantrasyonunda da üretilmiştir. Toplam polimer konsantrasyonunun kriyojelin şişme oranı, degradasyon eğilimi ve gözenek boyutu üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Çizelge 4.3. %10 toplam polimer konsantrasyon değerinde şişme ve degradasyon oranı

% 10 polimer konsantrasyonu		
Doku İskelesi	Şişme Oranı	Degradasyon Oranı(8.hafta)
PVA/Jelatin, 100:0, % 10, FT 1	225,50 ± 36,88	3,70 ± 0,28
PVA/Jelatin, 90:10, % 10, FT 1	256,20 ± 28,46	14,90 ± 2,41
PVA/Jelatin, 70:30, % 10, FT 1	437,22 ± 19,57	36,34± 6,17
PVA/Jelatin, 50:50, % 10, FT 1	345,81 ± 10,51	47,79 ± 1,11

Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4’de yapılan karşılaştırmada %8 toplam polimer konsantrasyonunda şişme oranının daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durumun açıklaması azalan polimer konsantrasyonuna bağlı, çapraz bağlanma oranının düşmesidir. Çapraz bağlanma oranı azaldıkça, şişme oranı artar.

Çizelge 4.4 %8 toplam polimer konsantrasyon değerinde şişme ve derivasyon oranı

% 8 polimer konsantrasyonu		
Doku İskelesi	Şişme Oranı	Degradasyon Oranı (8.hafta)
PVA/Jelatin, 100:0, % 8, FT 1	285,24 ± 15,01	10,02 ± 1,53
PVA/Jelatin, 90:10, % 8, FT 1	430,15 ± 53,09	28,1 ± 1,94
PVA/Jelatin, 70:30, % 8, FT 1	379,32 ± 4,81	41,7 ± 7,45
PVA/Jelatin, 50:50, % 8, FT 1	560,18 ± 7,21	64,58 ± 2,79

Degradasyon oranı karşılaştırmasında ise, %8 polimer oranına sahip tüm doku iskelelerinin daha yüksek oranda degrade olduğu görülmüştür. FT çapraz bağlama yöntemi ile hazırlanan bu doku iskelelerinin, artan şişme oranı ile birlikte stabilitelerini korumaları zorlaşmıştır.

Aynı şekilde GA ile çapraz bağlama, yöntemi ile üretilen %10 ve %8 toplam konsantrasyonuna sahip kriyojellerin karakterizasyonu da karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. %10 toplam polimer konsantrasyon değerinde şişme ve degradasyon oranı

% 10 polimer konsantrasyonu		
Doku İskelesi	Şişme Oranı	Degradasyon Oranı
PVA/Jelatin, 100:0, % 10, GA %5	281,41 ± 27,14	11,59 ± 4,81
PVA/Jelatin, 90:10, % 10, GA %5	338,07 ± 14,08	10,87 ± 7,85
PVA/Jelatin, 70:30, % 10, GA %5	577,01 ± 32,08	26,48± 2,37
PVA/Jelatin, 50:50, % 10, GA %5	973,20 ± 68,65	39,07 ± 3,16
PVA/Jelatin, 30:70, % 10, GA %5	565,64 ± 73,86	33,50 ± 15,84
PVA/Jelatin, 10:90, % 10, GA %5	287,17 ± 48,65	76,40 ± 13,85

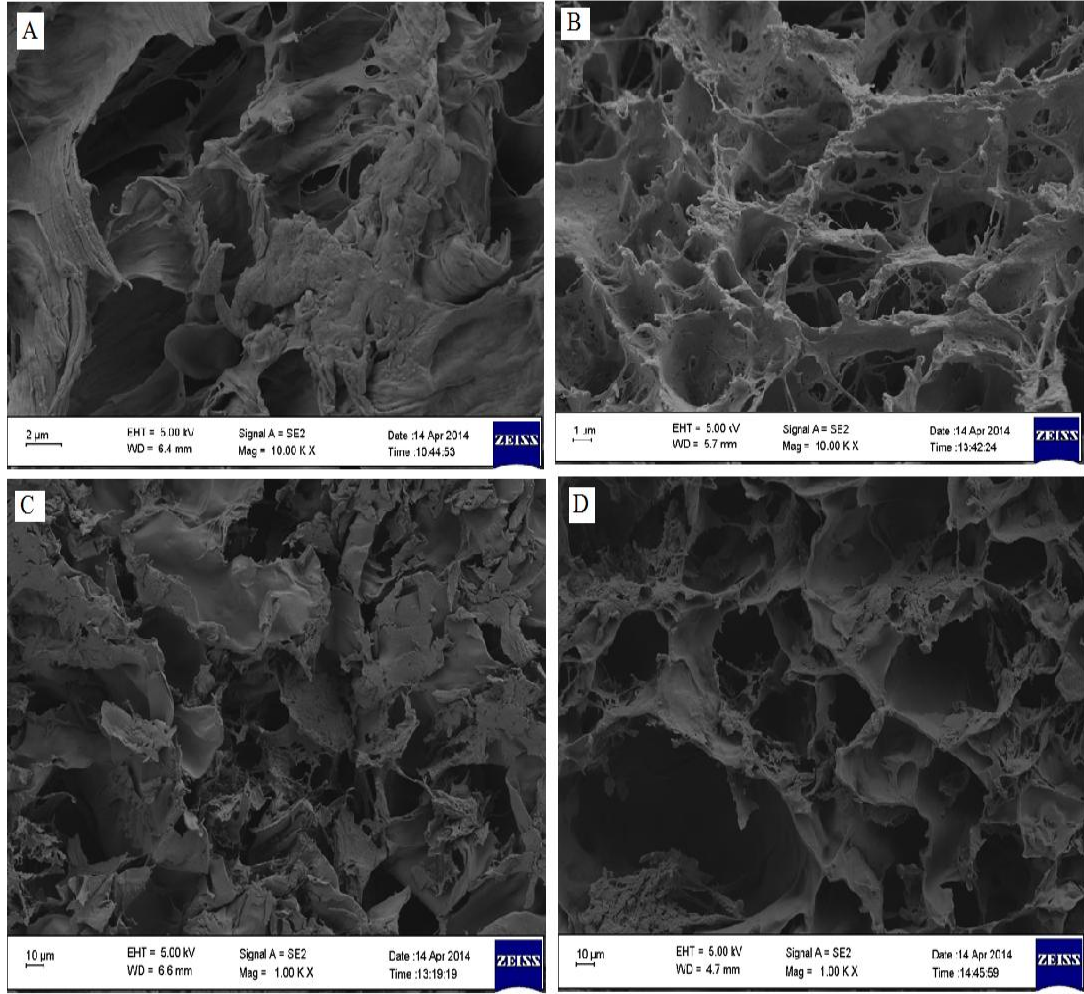
GA ile çapraz bağlamada birkaç kriyojelde aynı eğilim görülmemektedir. Şöyle ki ; %8 polimer konsantrasyonunda en yüksek şişme oranı PVA/Jelatin, 30:70, %8, GA %5 kriyojelinde görülürken, %10 polimer konsantrasyonunda en yüksek şişme oranı PVA/Jelatin, 50:50, %10, GA %5 kriyojelinde görülmüştür. Bu durum deney sırasındaki tartım farklılığı nedeniyle de ortaya çıkmış olabilir. Ancak dikkat edilmesi gereken diğer bir nokta ise, PVA/Jelatin, 10:90, GA %5 kriyojelinin, iki polimer konsantrasyonunda da en düşük şişme oranına sahip olmasıdır.

Çizelge 4.6. %10 toplam polimer konsantrasyon değerinde şişme ve degradasyon oranı

<b>% 8 polimer konsantrasyonu</b>		
Doku İskelesi	Şişme Oranı	Degradasyon Oranı
PVA/Jelatin, 100:0, %8, GA %5	401,41 ± 35,96	23,12 ± 2,12
PVA/Jelatin, 90:10, %8, GA %5	529,54 ± 77,19	28,91 ± 2,31
PVA/Jelatin, 70:30, %8, GA %5	674,56 ± 26,47	42,08 ± 12,67
PVA/Jelatin, 50:50, %8, GA %5	745,48 ± 136,23	41,83 ± 19,93
PVA/Jelatin, 30:70, %8, GA %5	1016,99 ± 58,79	31,09 ± 5,47
PVA/Jelatin, 10:90, %8,GA %5	338,52 ± 50,21	44,92 ± 41,84

Şekil 4.20’de azalan polimer konsantrasyonunun PVA/Jelatin doku iskelelerinin morfolojisinde ve yarattığı etkiler tartışılmıştır. Azalan polimer konsantrasyonu ile birlikte, şişme değerlerinin artması ve degradasyon değerlerinin yükselmesi, artan su tutma oranı ile açıklanabilir. Aynı şekilde PVA’ün azalması ile birlikte degradasyon oranı artmıştır.

Aynı şekilde SEM fotoğraflarını incelersek; azalan polimer konsantrasyonu ile birlikte, kriyojellerin gözenek duvarlarının incelendiğini görebiliriz. Fraya ve ark., yaptıkları bir çalışmada PVA konsantrasyonunun, doku iskelelerinin morfolojisini etkilediğini belirtmişlerdir [47].



Şekil 4.20. GA ile çapraz bağlama tekniği ile hazırlanan PVA/Jelatin, doku iskelelerinin SEM görüntüleri, A) PVA/Jelatin, 90:10, GA %5, B) PVA/Jelatin, 90:10, GA %5, %10 polimer konsantrasyonu C) PVA/Jelatin, 30:70, GA %5, D) PVA/Jelatin, 30:70, GA %5 %8 polimer konsantrasyonu (A,B x10000 ve C,D x1000)

Karakterizasyon çalışmaları, farklı polimer bileşimlerine sahip PVA/Jelatin doku iskelelerinin şişme, gözenek yapısı ve degradasyon profillerinin farklı olduğunu ortaya koymuştur. Yapılan değerlendirmeler sonrasında, İki çapraz bağlama yönteminde de PVA/Jelatin 70:30, 50:50, 30:70 ve 10:90 (FT ve GA) bileşimine sahip doku iskelelerinin, doku mühendisliği çalışmalarına daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu tez kapsamında, iki farklı yöntemle üretilen doku iskelelerinin doku mühendisliği uygulamalarında kullanılabilirliğinin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmış ve elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

- FT ve GA ile çapraz bağlama tekniği ile PVA temelli, 3 boyutlu doku iskeleleri üretilmiştir.
- Değişen toplam polimer konsantrasyonunda ve PVA ve PVA/Jelatin kompozit kriyojelleri üretilmiş, üretilen kriyojellerin karakterizasyonu yapılmış ve doku mühendisliği uygulamaları için uygulanabilirliği değerlendirilmiştir.
- Belirlenen konsantrasyonlara, FT ile çapraz bağlama yönteminde, bir ile üç arasında FT uygulanmıştır. Bu uygulamanın gözenek çapı, şişme değeri ve degradasyon oranı üzerinde dikkate değer bir farklılık oluşturmadığı görülmüştür.
- FT ile çapraz bağlama yönteminde artan jelatin miktarı ile birlikte, şişme ve degradasyon oranı artmıştır. Gözenek çapı artmış ve yıkama sonrası silindirik yapı korunmuştur.
- Gözenek çapı  $3,71 \pm 1,28 - 45,75 \pm 11,14 \mu\text{m}$  arasında değişen (PVA/Jelatin, 100:0, %10, GA %5 ve PVA/Jelatin, 10:90, %10 polimer konsantrasyonu, GA %5) doku iskeleleri üretilmiştir. Şişme oranı değerleri ise sırasıyla; %281,41 ve %287,17 olarak bulunmuştur.
- SEM görüntüleri ve analizleri, PVA miktarı arttıkça gözenek çapının küçüldüğünü göstermiştir. En küçük gözenek çapı  $3,71 \pm 1,28 \mu\text{m}$  değeriyle PVA/Jelatin, 100:0, %10 polimer konsantrasyonu ile üretilen kriyojelde görülmüştür.
- Jelatin polimerinin varlığında gerçekleştirilen FT-IR, SEM, şişme ve degradasyon deneylerine ait sonuçlar, doku iskelelerinin jelatin varlığında farklılaştığını ve PVA-Jelatin, PVA-Jelatin-GA bağ yapılarının oluştuğunu göstermektedir.
- En yüksek şişme değeri,  $\%973,20 \pm 68,65$  oranıyla, %10 toplam polimer konsantrasyonunda PVA/Jelatin, 50:50, GA %5 doku iskelesinde

görülmüştür. Ancak bu doku iskelesinin ortalama gözenek çapı 7,55 µm olarak ölçülmüştür. Bu durum, doku iskelesinin hidrofilik yapısı ve buna ek olarak gözeneklerine aldığı su ile açıklanabilir.

- Burada tüm GA ile bağlanan PVA/Jelatin kriyojellerinde şişme oranı yüksek olmasına rağmen, degradasyon oranı daha düşüktür. GA ile oluşturulan kriyojeller, FT ile oluşturulan kriyojellere göre daha sağlam bağ yapıları ile bağlanmışlardır.
- PVA/Jelatin 70:30 bileşimindeki doku iskelesine değişen oranlarda GA eklenerek, değişim gözlemlenmiştir. Artan GA oranının; gözenek çapı, şişme ve degradasyon değerlerinde çok büyük bir etki yaratmazken, gözenek duvarlarını kalınlaştırmıştır.
- Değişen toplam polimer konsantrasyonunun (%10 ve %8) doku iskeleleri üzerindeki etkisi incelenmiş ve azalan polimer konsantrasyonu ile birlikte şişme ve degradasyon oranının arttığı gözlemlenmiştir.
- Karakterizasyon çalışmaları, farklı polimer konsantrasyonlarına sahip PVA/Jelatin doku iskelelerinin şişme, gözenek yapısı ve degradasyon profillerinin farklı olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar ışığında, iki çapraz bağlama yönteminde de PVA/Jelatin 70:30, 50:50, 30:70 ve 10:90 (FT ve GA) bileşimine sahip doku iskelelerinin, homojen yapıları ve hücre/besin geçişini sağlayabilecek gözenek yapısı nedeniyle, doku mühendisliği çalışmalarına daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Bundan sonraki çalışma, bu doku iskelelerinin hücre deneyleri ve in vivo çalışmaları olarak düzenlenebilir.



## KAYNAKLAR

- [1] Lee K.Y., Mooney D. J., “Hydrogels for Tissue”, Chemical Reviews, 101: (7): (2001).
- [2] Sachlos E., Czernuszka J.T., “Making Tissue Engineering Scaffolds Work.Review on the Application of Solid Freeform Fabrication Technology to the Production of Tissue Engineering Scaffolds”, European Cells and Materials, Vol.5: 29-40, (2003).
- [3] Gümüşderelioğlu M., “Doku Mühendisliğinde Nanoteknoloji”,Yeni Ufuklar, Bilim ve Teknik TÜBİTAK, Ekim 2007.
- [4] Acar G. Ö., “Doku Mühendisliği ve Hücre Kültürü Kaynaklı Yeni Tedavi Seçenekleri”, Cerrahpaşa Tıp Derg; (38): 32-39, 2007.
- [5] Akcaca C., Dura D., “Doku Mühendisliği Uygulamalarında Tekstil Materyal Ve Teknolojilerinin Kullanımı”, Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi Cilt: 3, No: 1, (77-86), 2009.
- [6] Bock A.K, Cerezo E. R., Human tissue-engineered products:Potential socio-economic impacts of a new European regulatory framework for authorisation, supervision and vigilance, November 2005.
- [7] Kim B.S, Park In.K., Hoshiba T., Jiang H. L., Choi Y. J., Akaike T., Cho C., S., “Design of artificial extracellular matrices for tissue engineering”, Progress in Polymer Science, (36): 238-268, (2011).
- [8] Tran R. T., Naseri E., Kolasnikov A., Bai X., Yang J., “A new generation of sodium chloride porogen for tissue engineering”, Biotechnology and Applied Biochemistry, (58): 335-344, (2007).
- [9] Beşkardeş I.G., “Biyoseramik ve Biyosinyal Moleküllerle Desteklenmiş Poli(Kaprolakton) Doku İskeleleri: Sentez, Karakterizasyon ve Kemik Doku Mühendisliği Uygulamaları”, Hacettepe Üniversitesi Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi , 132 s., (2008).
- [10] Gümüşderelioğlu M., “Biyomalzemeler”,Yeni Ufuklar, Bilim ve Teknik TÜBİTAK, (2002).

- [11] Gualandi C., “Porous Polymeric Bioresorbable Scaffolds for Tissue Engineering”, Bologna Üniversitesi, Doktora Tezi, (2011).
- [12] Mansur H. S., Costa H. S., Mansur A. A.P., Pereira M., “3D-macroporous hybrid scaffolds for tissue engineering: Network design and mathematical modeling of the degradation kinetics”, *Materials Science and Engineering C*, (32): 404-415, (2012).
- [13] Okamoto M., John B., “Synthetic biopolymer nanocomposites for tissue engineering scaffolds”, *Progress in Polymer Science* , (38): 1487-1503, (2013).
- [14] Hutmacher D. W., “Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage”, *Biomaterials*, (21): 2529-2543, (2000).
- [15] Jiang S., Liu S., Feng W., “PVA hydrogel properties for biomedical application”, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, (4): 1228-1233, (2011).
- [16] Vrana N. E., Cahill P. A., McGuinness G. B., “Endothelialization of PVA/gelatin cryogels for vascular tissue engineering: Effect of disturbed shear stress conditions”, *Journal of Biomedical Materials Research A*, (94) (2010).
- [17] Senköylü A., Korkusuz F., “Kıkırdak Onarımında Doku Mühendisliği Uygulamaları, TOTB D (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi, Cilt: 3 Sayı: 3-4, (2004).
- [18] Vrana N. E., “Use of Poly Vinyl Alcohol (PVA) Cryogelation for Tissue Engineering: Composites, Scaffold Formation and Cell Encapsulation”, Doktora Tezi, (2009).
- [19] Lopez F.B., Byrne R., Raduta A. M., Vrana N. E., McGuinness G., Dermot D, *Lab on a Chip* Issue 2, (2010).
- [20] Ay B., “Organik Polimerler ve Kullanım Alanları”, Bitirme Tezi, (2007).

- [21] Jiang S., Liu S., Feng W., “PVA Hydrogel Properties for Biomedical Application”, *Journal of the Mechanical Behaviour of Biomedical Materials*, (4): 1228-1233, (2011 ).
- [22] Taboada O. M., Sobral P. J. do A., Carvalho R. A., Habitante A. M. B.Q., “Thermomechanical properties of biodegradable films based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol)”, *Food Hydrocolloids* (22): 1485-1492, (2008).
- [23] Kantoğlu Ö., “Poli(Vinil Alkol)/Kappa Karaginan ve Poli(Vinil Alkol)/İota Karaginan İnterpolimer Komplekslerinin Hazırlanması, Karakterizasyonu ve Radyasyonla Etkileşimi”, Gazi Üniversitesi, Doktora Tezi, (2006).
- [24] Değirmenci E., “Poli(Vinil Alkol) Membranlara İtakonik Asit Aşılması”, Gazi Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, (2006).
- [25] Moraes I. C. F., Carvalho R. A., Bittante A. M. Q.B. , Solorza-Feria J., Sobral P. J. A., “Film forming solutions based on gelatin and poly(vinyl alcohol) blends:Thermal and rheological characterizations”, *Journal of Food Engineering*, (95): 588-596, (2009).
- [26] Çırak T., “Oftalmolojik uygulamalarda Kullanılmak Üzere Etken Madde İçeren Polimerik Süngerimsi Yapıların Hazırlanması Ve Karakterizasyonu, Hacettepe Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, (2006).
- [27] Bolto B., Tran T., Hoang M., Xie Z., “Crosslinked poly(vinyl alcohol) membranes”, *Progress in Polymer Science*, (34): 969-981, (2009).
- [28] Kumari A., Yadav S. K., Yadav S. C., “Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, (75): 1-18, (2010).
- [29] Bajpai A., Saini R., “Preparation and characterization of biocompatible spongy cryogels of poly(vinylalcohol)–gelatin and study of water sorption behaviour”, *Polym Int*, (54): 1233-1242, (2005).
- [30] Liu K., Li Y., Xu F., Zuo Y., Zhang L., Wang L. J., “Graphite/poly (vinyl alcohol) hydrogel composite as porous ringy skirt for artificial cornea”, *Materials Science and Engineering C*, (29): 261-266, (2009).

- [31] Holloway J. L., Lowman A. M, Palmese G. R., “Mechanical evaluation of poly(vinyl alcohol)-based fibrous composites as biomaterials for meniscal tissue replacement”, *Acta Biomaterialia*, (6): 4716-4724, (2010).
- [32] Bichara D. A., Zhao . X., Hwang N. S, Bodugoz-Senturk H., Yaremchuk M. J., Randolph M. A., Muratoglu O. K., “Porous Poly(vinyl alcohol)-Alginate Gel Hybrid Construct for Neocartilage Formation Using Human Nasoseptal Cells”, *Journal of Surgical Research*, (163): 331-336, (2010).
- [33] Sinha A. , Das G., Sharma B. K., Roy R. P., Pramanick A.K., Nayar S., “Poly(vinyl alcohol)–Hydroxyapatite biomimetic scaffold for tissue regeneration”, *Materials Science and Engineering C*, (27): 70-74, (2007).
- [34] Jiang H., Campbell G., Boughner D., Wan W. K., Quantzd M., “Design and manufacture of a polyvinyl alcohol (PVA) cryogel tri-leaflet heart valve prosthesis”, *Medical Engineering & Physics*, (26): 269-277, (2004).
- [35] Chu K. C., Rutt B. K., “Polyvinyl Alcohol Cryogel: An Ideal Phantom Material for MR Studies of Arterial Flow and Elasticity”, *MRM* 3R, 314-319, (1997).
- [36] Gonzalez J.S., Maiolo A.S., Hoppe C.E. , Alvarez V.A., “Composite gels based on Poly (vinyl alcohol) for biomedical uses”, *Procedia Materials Science* (1): 483-490, (2012).
- [37] Poursamar S. A., Azami M., Mozafari M., “Controllable synthesis and characterization of porous polyvinyl alcohol/hydroxyapatite nanocomposite scaffolds via an in situ colloidal technique”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, (84): 310-316, (2011).
- [38] Choi S. M., Singhi D., Kumar A., OH T. H., Cho Y. W., Han S. S., “Porous Three-Dimensional PVA/Gelatin Sponge for Skin Tissue Engineering”, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, (62): 384-389, (2013).
- [39] Wang W., Chu B., Lin C., Chen S., Ru H., Yue X., Jia Q., “Preparation of 3D interconnected macroporous hydroxyapatite scaffolds by PVA assisted foaming method”, *Ceramics International* (40): 1789-1796, (2014).

- [40] Ino J. M.,Chevallier P., Letourneur D., Mantovani D., Visage C. L., “Plasma functionalization of poly(vinyl alcohol) hydrogel for cell adhesion enhancement”, *Biomatter*, (3): e25414, (2013).
- [41] Ma R., Xiong D., Miao F., Zhang J., Peng Y., “Novel PVP/PVA hydrogels for articular cartilage replacement”, *Materials Science and Engineering C*, (29): 1979-1983, (2009).
- [42] Jain D., Carvalho E., Banthia A. K.,Banerjee R., “Development of polyvinyl alcohol–gelatin membranes for antibiotic delivery in the eye”, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, , 37(2): 167-177, (2011).
- [43] Mansur H. S., Sadahira C. M., Souza A. N., Mansur A. A.P. “FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde”, *Materials Science and Engineering C*, (28): 539-548, (2008).
- [44] Nie L., Chen D., Suo J., Zou P., Feng S., Yang Q., Yang S., Ye S., “Physicochemical characterization and biocompatibility in vitro of biphasic calcium phosphate/polyvinyl alcohol scaffolds prepared by freeze-drying method for bone tissue engineering applications”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, (100): 169-176, (2012).
- [45] Martínez Y. N., Cavello I., Hours R., Cavalitto S., Castro G. R., “Immobilized keratinase and enrofloxacin loaded on pectin PVA cryogel patches for antimicrobial treatment”, *Bioresource Technology*, (145): 280-284, (2013).
- [46] Moscato S., Mattii L., D’Alessandro D., Cascone M. G.,Lazzeri L., Pio Serino L., Dolfi A., Bernardini N., “Interaction of human gingival fibroblasts with PVA/gelatine sponges”, *Micron*, (39): 569-579, (2008).
- [47] Fray E. M., Pilaszkievicz A., Swieszkowski W., Kurzydłowski K. J., “Morphology assessment of chemically modified and cryostructured poly(vinyl alcohol) hydrogel”, *European Polymer Journal*, (43): 2035-2040, (2007).
- [48] Leong K.F., Cheah C.M., Chua C.K, “Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs”, *Biomaterials*, 24: 2363-2378, (2003).

- [49] Lozinsky V. I., Plieva F. M., “Poly(vinyl alcohol) cryogels employed as matrices for cell immobilization. 3.Overview of recent research and developments”, *Enzyme and Microbial Technology*, (23): 227-242, (1998).
- [50] Emmanuel E., Hanna K., Bazin C., Keck G., Cle´ment B., Perrodin Y., “Fate of glutaraldehyde in hospital wastewater and combined effects of glutaraldehyde and surfactants on aquatic organisms”, *Environment International*, (31): 399-406, (2005).
- [51] Liu Y., Geever L. M., Kennedy J. E., Higginbotham C. L., Cahill P. A., McGuinness G. B., “Thermal behavior and mechanical properties of physically crosslinked PVA/Gelatin hydrogels”, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, (3): 203-209, (2010).
- [52] Alves P. M. A., Rosemary A. A., Moraes C. I. C.F., Luciano C. G., Ana Monica Q.B., Sobral B. P. J.A., “Development of films based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol) cross linked with glutaraldehyde”, *Food Hydrocolloids*, (25): 1751-1757, (2011).
- [53] Naasa M. H. E., Mourad A. I., Surkatti R., “Evaluation of the characteristics of polyvinyl alcohol (PVA) as matrices for the immobilization of *Pseudomonas putida*”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, (85): 413-420, (2013).

## ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

**Adı Soyadı:** SEDA CEYLAN

**Doğum Tarihi:** 13/10/1985

**Öğrenim Durumu:** Lisans

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise	Fen Bilimleri	İçel Anadolu Lisesi	1999-2003
Lisans	Kimya Mühendisliği	İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü	2004-2010
Yüksek Lisans	Kimya Mühendisliği	Mersin Üniversitesi	2011- Halen

**(Varsa) Görevler:**

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Stajyer	Frito lay A.Ş.	07.2008-08.2009
Stajyer	İskenderun Gübre A.Ş.	08.2009-09.2010
Kimya Mühendisi	Temsa Global A.Ş.	06.2011- 01-2014
Arş. Görevlisi	Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi	01.2014- Halen

## ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

**2005** : Biyosensörler Proje Sunumu

**2009** : Kardiyolojide Kullanılmak Amacıyla Üretilen Ultrason Ajanlarının Dizaynı ve Karakterizasyonu (Bitirme tezi)

**2009** : 5. Nanobilim Ve Nanoteknoloji Konferansı, Eskişehir. (Poster Sunumu)