

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**OMURİLİK HASARLARININ TEDAVİSİNDE KULLANILABİLECEK
DOKU İSKELELERİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

BÜŞRA BAŞKAPAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. CEM BÜLENT ÜSTÜNDAĞ**

İSTANBUL, 2017

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OMURİLİK HASARLARININ TEDAVİSİNDE KULLANILABİLECEK
DOKU İSKELELERİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

Büşra BAŞKAPAN tarafından hazırlanan tez çalışması 15.06.2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Sevil YÜCEL
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Melek Mümine EROL TAYGUN
İstanbul Teknik Üniversitesi



Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2016-07-04-YL09 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Bilgi ve tecrübeleriyle çalışmalarımın yönlendirilmesi ve yürütülmesi konusunda beni sonsuz destekleyen, iş disiplininden bilimsel etiğe kadar gerçek bir bilim insanı kimliğini kazandıran ve hayatım boyunca örnek almaya devam edeceğim çok değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Cem Bülent Üstündağ'a

Tez çalışmama 2016-07-04-YL09 numaralı proje ile maddi destek sağlayan YTÜ BAPK'na, Biyomühendislik Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Sevil Yücel'e

UV ve FTIR karakterizasyon çalışmalarında destek sağlayan Sayın Doç. Dr. Didem Özçimen'e

Tez çalışmam boyunca sevgi ve desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşım Betül Gürbüz'e,

İlgi ve desteklerini eksik etmeyen değerli arkadaşlarım ve sevgili aileme,

Teşekkür ederim.

Haziran, 2017

Büşra BAŞKAPAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	viii
KISALTMA LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ	xiii
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	2
1.3 Hipotez	3
BÖLÜM 2	
OMURİLİK HASARI	4
2.1 Omuriliğin Anatomisi	4
2.2 Omurilik Hasarının Aşamaları	6
2.3 Mevcut Tedavi Yaklaşımları	8
2.4 Doku Mühendisliği Uygulamaları	10
2.4.1 Hücre Transplantasyonu	11
2.4.2 Doku İskeleleri	12
2.4.3 Büyüme Faktörleri.....	15
2.4.4 Kombine Tedaviler	16
BÖLÜM 3	
OMURİLİK HASARI İÇİN DOKU İSKELELERİ	17
3.1 Kendiliğinden Birleşen Peptitler.....	17

3.2	Asellüler Doku İskeleleri.....	19	
3.3	Kılavuz Kanallar	21	
3.4	Elektroiletken Doku İskeleleri	23	
BÖLÜM 4			
GRAFEN			27
4.1	Grafenin Yapısı	27	
4.2	Grafenin Sentezi.....	28	
4.2.1	Katman Ayırma	29	
4.2.2	Epitaksiyel Büyütme	29	
4.2.3	Kimyasal Buhar Biriktirme.....	30	
4.2.4	Kimyasal Ayrıştırma.....	30	
4.3	Nöral Doku Mühendisliğinde Kullanımı	31	
4.4	Grafenin Biyogüvenliği	35	
BÖLÜM 5			
DENEYSEL ÇALIŞMA			36
5.1	Malzemeler.....	36	
5.2	Grafen Oksit Sentezi	36	
5.3	Grafen Oksitin İndirgenmesi.....	37	
5.4	Elektriksel İletkenlik Analizi	37	
5.5	Doku İskelesi Eldesi.....	39	
5.6	Doku İskelesinin İndirgenmesi	39	
5.7	Karakterizasyon.....	39	
BÖLÜM 6			
DENEYSEL BULGULAR ve TARTIŞMA			41
6.1	Grafen Oksit Sentezi	41	
6.1.1	FTIR.....	40	
6.1.2	AFM	42	
6.1.3	UV Spektrofotometre	43	
6.1.4	SEM-EDS.....	44	
6.2	Elektriksel İletkenlik Analizi	45	
6.3	Doku İskelesi Eldesi	48	
6.3.1	SEM.....	49	
BÖLÜM 7			
SONUÇ VE ÖNERİLER			51
KAYNAKLAR.....			52
EK A			

ELEKTRİKSEL ANALİZ	60
A-1 Grafen Oksit.....	61
A-2 Termal İndirgenmiş Grafen Oksit	62
A-3 Kimyasal İndirgenmiş Grafen Oksit	65
ÖZGEÇMİŞ.....	68



SİMGE LİSTESİ

°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
Cu	Bakır
g	Gram
Hz	Hertz
K	Potasyum
kPa	Kilopaskal
mL	Mililitre
μA	Mikroamper
μm	Mikrometre
Na	Sodyum
nm	Nanometre
SiC	Silisyum karbür
Siemens	Elektrik iletkenliği
TPa	Terapaskal
W	Isıl iletkenlik

KISALTMA LİSTESİ

3B	Üç boyutlu
BDNF	Beyin türevli nörotrofik faktör
CVD	Kimyasal buhar biriktirme
ÇSS	Çevresel sinir sitemi
ECM	Ekstrasellüler matriks
EKH	Embriyonik kök hücre
GDNF	Glial hücre hattı türevli nörotrofik faktör
GM-1	Monosialotetraheksosil gangliozid
GO	Grafen oksit
iPKH	İndüklenmiş pluripotent kök hücre
MP	Metilprednizolon
MSC	Mezenkimal kök hücre
MSS	Merkezi sinir sistemi
NASCIS	National Acute Spinal Cord Injury Study
NGF	Sinir büyüme faktörü
NSC	Nöral kök hücre
NT-3	Nörotrofin 3
NT-4/5	Nörotrofin 4/5
OGH	Olfaktör glia hücresi
OH	Omurilik hasarı
PANI	Polianilin
PC-12	Rat adrenal phaeochromocytoma
PCL	Poli-ε-kaprolakton
PLA	Poli(laktik asit)
PLGA	Poli(laktik-ko-glikolik asit)
PPy	Polipirol
SAP	Kendiliğinden birleşen peptitler
Sh	Schwann hücresi
TSH	Tirotrofin salıcı hormon

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2. 1	Spinal sinirler	5
Şekil 2. 2	Omuriliğin enine kesiti	6
Şekil 2. 3	Hasarlı omuriliğin şematik gösterimi	8
Şekil 2. 4	MSS rejenerasyonunda kullanılan malzemelerin topografik motifleri A) Dış kanal ve iç matrikse dayalı OH ve periferel sinir rejenerasyonu için tipik kanal yapısı. B) PC-12 hücrelerinin büyüdüğü mikroyapılı substrat. C) Multikanallı poli(etil akrilat) doku iskelesi. D) Mikro ekstrüzyonla elde edilen PCL mikrofilament. E) Birbiri ile bağlantılı poroz yapılı, çapraz bağlı hiyalüronik asit doku iskelesi. F) İç içe geçmiş mikrokanallar içeren poli(etil akrilat-bazlı doku iskelesi. G) Hizalı elektro-eğrilmış PLA fiberler	14
Şekil 3. 1	Kendiliğinden birleşen peptid bazlı doku iskelesi	18
Şekil 3. 2	Asellüler omurilik ve normal omurilik. Omurilik doku iskelesi fildişi beyazı rengine dönmüş ve yarı saydam olmuş, ancak silindir şeklini korumuş. Normal omuriliğin yarı çapı 2/3-4/5 oranında küçülmüş, dayanımı az oranda azalmış, çekme kuvveti değişmeden kalmış ve vizkozitesi az oranda azalmış	20
Şekil 3. 3	Omuriliğin kılavuz kanalla köprülenmesi	21
Şekil 3. 4	Kesik ve ezik çevresel sinirlerdeki Wallerian dejenerasyonunun cerrahi mikroskop ile 100 kat büyütülmüş şekli. Sol kolon, hasarın proksimal bölümü, sağ ise distal bölümüdür. A ve B: kesikten 37 saat sonrası. C ve D: ezikten 40 saat sonrası. E ve F: kesikten 42 saat sonrası. G ve H: ezikten 44 saat sonrası	22
Şekil 3. 5	Yönlendirilmiş aksonal büyüme. PC-12 hücrelerinin (A) kollajen tip 1 kaplı PLGA film ve (B) laminin peptid kaplı PLGA üzerinde büyümeleri	23
Şekil 3. 6	48 saatlik farklı elektrik uyarım rejimleri uygulandıktan sonra PC12 hücrelerinin 10x ve 40x büyütme oranında floresans mikroskopi görüntüleri	25
Şekil 4. 1	Grafen ve türevlerinin yapısı	27
Şekil 4. 2	Katman ayırma yöntemi ile grafen sentezi	29
Şekil 4. 3	Epitaksiyel büyütme yöntemi ile grafen sentezi	30
Şekil 4. 4	CVD yöntemi ile grafen sentezi	30
Şekil 4. 5	Farklılaşan hNSC'lerin cam (solda) ve 2B grafen platform (sağda) üzerinde farklılaşmadan 30 gün sonraki parlak alan (üstte) ve floresans (altta)	

	görüntüsü. Mavi hücre çekirdeğini, yeşil nöral hücreleri ve kırmızı astroglial hücreleri göstermektedir	33
Şekil 4. 6	Üstte 3B grafen doku iskelesinin düşük (a) ve yüksek (b) büyütme oranlarında SEM görüntüsü. Altta (a, b) doku iskelesi üzerinde farklılaşan nöral kök hücrelerin floresan görüntüsü: yeşil (a) nöronları, kırmızı (a, b) astrositleri, yeşil (b) oligodendrositleri, mavi (a, b) çekirdeği göstermektedir	34
Şekil 5. 1	Grafen oksitin vakum filtrasyon yöntemi ile eldesinin şematik gösterimi	37
Şekil 5. 2	Elektrik iletkenliğinin ölçümü için hazırlanan grafen oksit filmin (A) şerit halinde kesilmesi (B), cam üzerindeki bakır elektrotlar (C).....	38
Şekil 5. 3	Direnç ve iletkenlik ölçümünde kullanılan GO filmin şematik gösterimi...	38
Şekil 6. 1	Grafen oksitin FTIR görüntüsü	41
Şekil 6. 2	Grafen oksitin AFM görüntüsü	42
Şekil 6. 3	Grafen oksitin UV spektrası	43
Şekil 6. 4	Grafen oksitin elementel analiz grafiği	44
Şekil 6. 5	Termal indirgenmiş grafen oksitin elementel analiz grafiği	44
Şekil 6. 6	Kimyasal indirgenmiş grafen oksitin elementel analiz grafiği	44
Şekil 6. 7	Film yapılı grafen oksitin SEM görüntüsü	46
Şekil 6. 8	Farklı C/O oranlarına sahip grafen oksitin akım-voltaj grafiği	46
Şekil 6. 9	Doku iskelelerinin üstten görünüşü; (A) 2 mg/mL, (B) 1 mg/mL.....	48
Şekil 6. 10	İndirgenmiş doku iskeleleri; (A) 2 mg/mL, (B) 1 mg/mL.....	48
Şekil 6. 11	3B grafen doku iskelesinin SEM görüntüsü; 1 mg/mL'lik doku iskelesi (üstte), 2 mg/mL'lik doku iskelesi (altta)	49

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2. 1 İkincil hasar mekanizmaları	7
Çizelge 2. 2 Omurilik hasarı onarımında kombine tedavi çalışmaları.....	16
Çizelge 3. 1 İletken polimerler	24
Çizelge 4. 1 Tek tabakalı grafenin özellikleri.....	28
Çizelge 5. 1 Malzeme listesi.....	36
Çizelge 6. 1 Grafen oksitin SEM-EDS sonucu	45
Çizelge 6. 2 Farklı C/O oranlarına sahip grafen oksitin iletkenliği	47

OMURİLİK HASARLARININ TEDAVİSİNDE KULLANILABİLECEK DOKU İSKELELERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Büşra BAŞKAPAN

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ

Omurilik, beyin ve vücudunuzun kalanı arasında sinir iletimini sağlayan bağlantı yoludur. Omurilik hasarları genellikle spor veya araba kazaları gibi ani travmalar sonucunda, omurganın kayarak veya parçalanarak omurilik dokusunun içine girmesi ve nöral hücrelere zarar vermesi nedeniyle elektrokimyasal dolaşımın kesilmesine sebep olur. Bu durum, yaralanmanın olduğu yerden aşağıda kalan tüm vücutta duyu ve motor kontrolünün kaybolmasına yol açar. Travmanın ikincil etkisine bağlı olan kan ihtiyacındaki değişiklik, bağışıklık yanıtı, serbest radikallerin ve uyarıcı nörotransmitterlerin artması gibi sebeplerden dolayı, omurilik yaralanmasının olduğu yer ve çevresinde birçok hücre ölür. Merkezi sinir sisteminde nörojenez var olmasına rağmen aşırı hücre ölümü ve kronik safhada ortaya çıkan glial yara nedeniyle endojen rejenerasyon yetersizdir. Omuriliği hasar almış kişiye uygulanan mevcut tedavi yöntemleri fonksiyonel onarımdan ziyade komplikasyonları önlemeye yöneliktir. Hasarın birincil ve ikincil fazında uygulanan ilaç tedavileri sonrası hasta aylar ya da yıllar süren fizik tedavi ve rehabilitasyon sürecine tabii olmaktadır. Psikolojik ve ekonomik açıdan ağır olan bu hastalıkta iyileşme oranı % 1'in altındadır. Doku mühendisliği bu hastalığın tedavisinde en umut verici alandır. Uygun bir biyomalzeme doğal omuriliğin yapısına benzer özellikler göstererek nörojenez için uygun mikroçevre sağlayabilir.

Grafen üstün özelliklere sahip karbon allotroplarından biridir. Çok iyi elektrik iletkenliği ve mekanik dayanım göstermektedir. Sinir sistemi elektriksel faaliyetlere dayanan fonksiyonlar gösterdiğinden grafen nöral modeller için ideal bir malzemedir.

Bu tez çalışmasında grafen bazlı doku iskelesi hazırlandı ve karakterize edildi. Grafitten kimyasal eksfoliasyonla elde edilen grafen oksit freeze-drying yöntemi ile üç boyutlu yapıda doku iskelesi elde edilmesinde kullanıldı. Farklı karbon/oksijen oranına sahip grafen oksit elde edilmesi amacıyla termal ve kimyasal indirgeme gerçekleştirildi. Vakum filtrasyon tekniği ile hazırlanan film yapılı (iki boyutlu) grafen oksitlerin elektriksel iletkenliği ölçüldü. Sentezlenen grafen oksit FTIR, AFM, UV spektrofotometre ve SEM-EDS ile karakterize edildi. Doku iskelesinin SEM görüntüleri üç boyutlu ve poroz yapıda doku iskelesi elde edildiğini göstermektedir. Termal ve kimyasal indirgeme ile elde edilen grafen oksitlerin C/O oranı sırasıyla 9,52 ve 27,93; iletkenlik değerleri ise 190,5 ve 2831,65 S/m olarak belirlendi. Elektrik iletkenlik analiz sonucu grafen oksitin omurilik dokusuna benzer iletkenlik değerine sahip olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Omurilik hasarı, doku mühendisliği, doku iskelesi, grafen oksit, elektrik iletkenliği

DEVELOPMENT OF SCAFFOLDS FOR TREATMENT OF SPINAL CORD INJURY

Büşra BAŞKAPAN

Department of Bioengineering

M.Sc. Thesis

Adviser: Asst. Prof. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ

Spinal cord is the connection that provides the nerve conduction between the brain and the rest of the body. Spinal cord injuries usually cause the interruption of electrochemical circulation due to the vertebrae to slip or break into the spinal cord and damage the neural cells by sudden traumas such as sports or motor-vehicle accidents. This leads to the loss of sensory and motor control in the entire body below the injury site. Because of the secondary effects of trauma such as changes in blood requirements, immune response, increased free radicals and stimulating neurotransmitters, many cells die in the area and around the spinal cord injury. Although central nervous system has neurogenesis, endogeneous regeneration is insufficient due to the massive cell death and emerging glial scar in cronic phase. Current treatment methods for spinal cord injured individuals are aimed at preventing complications rather than functional repair. After the drug treatments applied in the primary and secondary phase of the injury, the patient is subjected to physical therapy and rehabilitation for months or years. In this psychologically and economically severe disease, the cure rate is below 1%. Tissue engineering is the most promising field in the treatment of this disease. A suitable biomaterial can provide the appropriate microenvironment for neurogenesis by displaying properties similar to that of the native spinal cord.

Graphene is one of the carbon allotropes with superior properties. It has very good electrical conductivity and mechanical strength. As the nervous system shows functions based on electrical activities, graphene is the ideal material for neural models.

In this thesis study, a graphene-based tissue scaffold was prepared and characterized. The graphene oxide obtained by chemical exfoliation from graphite, which was used to obtain scaffold with three dimensional structure by freeze-drying method. Reducing process by thermal and chemical was made to obtain graphene oxide with different carbon/oxygen ratio. The electrical conductivity of the film-structured (two-dimensional) graphene oxide prepared by the vacuum filtration technique was measured. Synthesized graphene oxide was characterized by FTIR, AFM, UV spectrophotometer and SEM-EDS. SEM images of the scaffold showed that the scaffold with three-dimensional and porous structure was obtained. C/O ratio of thermal and chemical reduced graphene oxide was determined 9,52 and 27,93 respectively; and electrical conductivity of it was determined 190,5 and 2831,65 S/m, respectively. Electrical conductivity analysis showed that graphene had the similar conductivity value as the spinal cord tissue.

Keywords: Spinal cord injury, tissue engineering, scaffold, graphene, electrical conductivity

1.1 Literatür Özeti

Omurilik beyinle vücudun geri kalan bölgeleri arasında bilgi akışını sağlayan, merkezi sinir sisteminin (MSS) bir parçasıdır. Omuriliğe alınan hasarlar çoğunlukla kişinin motor ve duysal fonksiyonlarını kaybetmesine neden olur. Dünyada binlerce insanı etkileyen bu durumun sebeplerinin başında motorlu araç kazaları, düşme ve şiddet gelmektedir. Omurilik hasarı (OH), kişilere ağır ekonomik ve psikolojik bir yük getirmektedir. Omuriliği de içeren merkezi sinir sisteminin yapısı diğer dokulardan farklı olduğu ve hasarın patofizyolojisi karışık olduğundan henüz etkili bir tedavi bulunamamıştır. Hasar alan nöral dokuda endojen rejenerasyon gerçekleşmesine rağmen, kişinin hasar almadan önceki durumuna dönmesi neredeyse imkansızdır. İyileşme oranı % 1'in altındadır. Mevcut farmakolojik tedaviler fonksiyonel onarımdan ziyade komplikasyonları gidermeye yöneliktir. Fizik tedavi ve rehabilitasyon tedavileri ise kısıtlı iyileşme sağlamaktadır.

Nöral rejenerasyonla ilgili üç ana sorun; kaybolan nöral hücrelerin yerini alabilecek hücreler, uygun hedeflere doğru aksonal rejenerasyonun desteklenmesi ve fonksiyonel olarak etkili sinaptik bağlantıların yapılmasıdır. Hasarın akut fazında başlayan immün istila ve kronik fazda oluşan kistik doku rejenerasyonun önünde kimyasal ve fiziksel bariyerler oluşturmaktadır. Fonksiyonel onarım için çok fazla kısıtlayıcı etken olduğundan tek bir tedavi çeşidinin sıralanan problemleri çözmede yetersiz kalacağı düşünülmektedir. Bu nedenle hücreleri, matriksi ve indükleyici faktörleri içeren doku mühendisliğinin omurilik hasarının onarımında en etkili yöntem olduğu görüşü baskındır.

Nöral doku mühendisliği henüz yeni bir alan olsa da umut verici birçok çalışma literatürdeki yerini şimdiden aldı. Kök hücrelerin nöral hücre hatlarına farklılaşabileceği, farklı malzemelerden hücre davranışlarını etkileyebilen doku iskeleleri yapılabileceği ve bunlara indükleyici faktörler eklenebileceği birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Omurilik hasarının fonksiyonel onarımı için doku mühendisliği çalışmaları sıklıkla in vitro ve in vivo düzeyde kalsa da, az sayıda klinik çalışma da bulunmaktadır.

OH için kullanılacak doku iskelesinde, konak doku ile entegrasyonun kolaylaşması ve kök hücrelerin onarım fonksiyonunun kullanılabilmesi için optimize fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip biyomalzeme seçimi önemlidir. Nöral doku iskelelerinin üretiminde kullanılan malzemenin biyoyumlu, biyobozunur, gözenekli, elastik modülü omuriliğe benzer ve iletken olması gerekir. Birçok araştırmacı nöral dokular için doğal ve sentetik malzemelerden farklı özelliklere sahip doku iskelesi üretmiştir. Bunlar arasında kendiliğinden birleşen yapılar, aselüler doku iskeleleri, kılavuz kanallara sahip doku iskeleleri ve elektroaktif doku iskeleleri bulunmaktadır. Kılavuz kanalların ve elektroiletken doku iskelelerinin omurilik için daha uygun olduğu düşünülmektedir.

Grafenler karbon atomlarından oluşan tek bir atom kalınlığına sahip düzlemsel levha yapılı nanomalzemelerdir. Sıradışı fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle özellikle elektronik sektöründe kullanılmakta; biyosensör, kanser gibi biyolojik uygulamalar için araştırılmaktadır. Nöral hücreler elektriksel faaliyetlere dayanan fonksiyonlara sahip olduğundan, grafenin uyguladığı iyi elektrik iletkenliği nöral modeller için idealdir. Hem tek başına hem de kompozit olarak grafenden elde edilen doku iskelelerinin hücre kültüründe ve hayvan çalışmalarında iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir.

1.2 Tezin Amacı

Bu tezin amacı omurilik hasarının tedavisinde kullanılacak, iletken bir doku iskelesi üretilmesidir. Doku iskelesi, grafitten Hummer's metodu ile üretilecek olan grafen oksit kullanılarak sentezlenecek. Grafen oksit termal ve kimyasal olarak indirgenerek farklı karbon/oksijen oranına sahip olması sağlanacak. Bunun yanısıra, doku iskelesinin elektrik iletkenliği analiz edilecek. Çalışmada hem hazırlanan grafen oksitlerin hem de doku iskelelerinin karakterizasyonu yapılacak. Tez çalışmasının, sonraki zamanlarda yapılacak in vitro hücre testlerinde kullanılması hedeflenmektedir.

1.3 Hipotez

Bu tez çalışmasında omurilik hasarlarının tedavisinde kullanılacak elektroaktif doku iskelelerinin sentezi hedeflenmektedir. Nöral hücreler elektriksel faaliyetlere dayanan fonksiyonlara sahip olduğundan, grafenin uyguladığı iyi elektrik iletkenliğinin nöral modeller için ideal olduğu düşünülmektedir. Bu yüzden çalışmada grafen türevi olan grafen oksit kullanılacaktır. Hücre tutunması ve proliferasyonu için optimum elektrik iletkenliği önemlidir. Karbon/oksijen oranının değişmesi grafen oksitin elektrik iletkenliğinin değişmesine neden olacaktır. Grafen oksitin karbon/oksijen oranının değişmesi kimyasal ve/veya termal indirgeme ile gerçekleştirilecektir. Karbon/oksijen oranının artması grafen oksitin elektrik iletkenliğini artıracaktır. Bilindiği üzere hücrelerin gelişimi için yapının hidrofilik olması gerekmektedir. Grafen oksit üzerinde bulunan oksijenli fonksiyonel gruplar sayesinde süper-hidrofilitir. İndirgeme işlemi hidrofili özelliğini kısmen azaltmaktadır. Gözenekli yapıya sahip doku iskeleleri hücre hareketine olanak sağladığından, doku iskelesi üç boyutlu ve gözenekli yapıya sahip olacaktır. Bu tez çalışmasının esas amacı nöral dokular için kullanılacak doku iskelesinde, elektrik iletkenliği ve hidrofili özelliklerinin hücre proliferasyonunda optimum noktalarının belirlenmesidir. Grafen oldukça hafif bir malzemedir. Grafenin tek başına doku iskelesi olarak nöral dokulara uygun mekanik dayanımı gösterememesi söz konusu olduğundan, çalışmanın grafen bazlı kompozit doku iskelesi çalışmalarına temel teşkil etmesi düşünülmektedir.

OMURİLİK HASARI

Omurilik hasarı (OH), sıklıkla kalıcı motor ve duysal disfonksiyonla sonuçlanan tahrip edici bir rahatsızlıktır. Kişinin yaşam kalitesinde düşüş ile birlikte sosyoekonomik sonuçlar doğurmaktadır. Amerika’da OH yıllık toplam maliyetinin 7.735 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir [1]. Ulusal Omurilik Hasarı İstatistik Merkezi’ne göre Amerika’da omurilik hasarına sahip kişi sayısı 2016 için yaklaşık 282 bin kişidir; bu sayıya her sene yaklaşık 17 bin yeni vaka eklendiği tahmin edilmektedir [2]. Bu vakalarda omuriliği hasar alan kişilerin % 45 inkomplet tetrapleji, % 21.3 inkomplet parapleji, % 20 komplet parapleji ve % 13.3 komplet tetrapleji kategorisindedir¹ [2].

Yetişkin MSS nöral kök ve progenitör hücrelere sahip olmasına rağmen endojen rejenerasyon, lezyon bölgesindeki inhibitör çevre nedeniyle çok kısıtlı ve yetersiz olmaktadır [3]. Klinik tedaviler nöral rejenerasyondan ziyade komplikasyonları önlemeye yöneliktir. İyileşme oranının % 1’in altında olduğu OH’nın bugüne kadar etkili bir tedavi rejimi olmadığından, fonksiyonel onarımı en zor klinik problemlerden biridir.

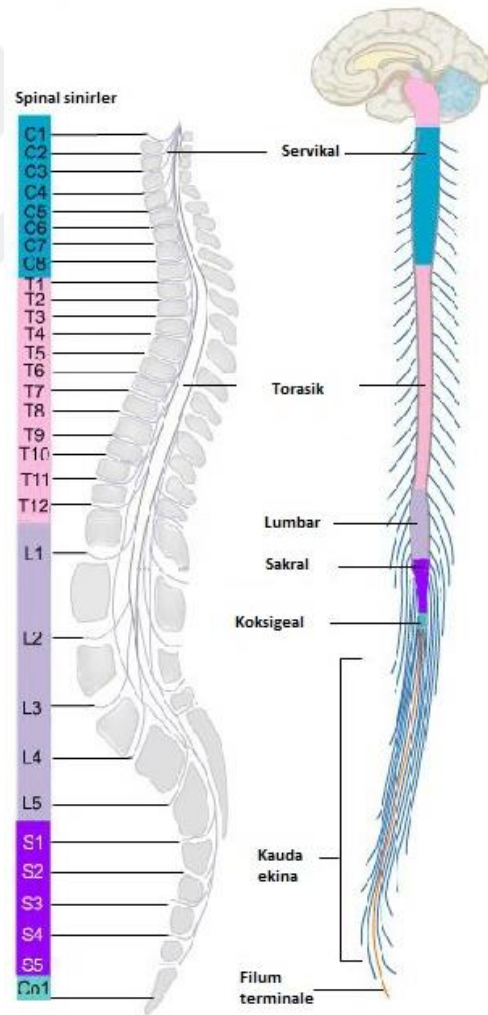
2.1 Omuriliğin Anatomisi

Omurilik (medulla spinalis), merkezi sinir sisteminin önemli bir parçasıdır. Beyin ve periferal (çevresel) sinir sistemi arasında motor ve duysal bilgi akışını sağlar. Omurilik kanalı içinde uzanan omurilik, kafatasının alt kısmındaki boyun deliğinden başlayıp

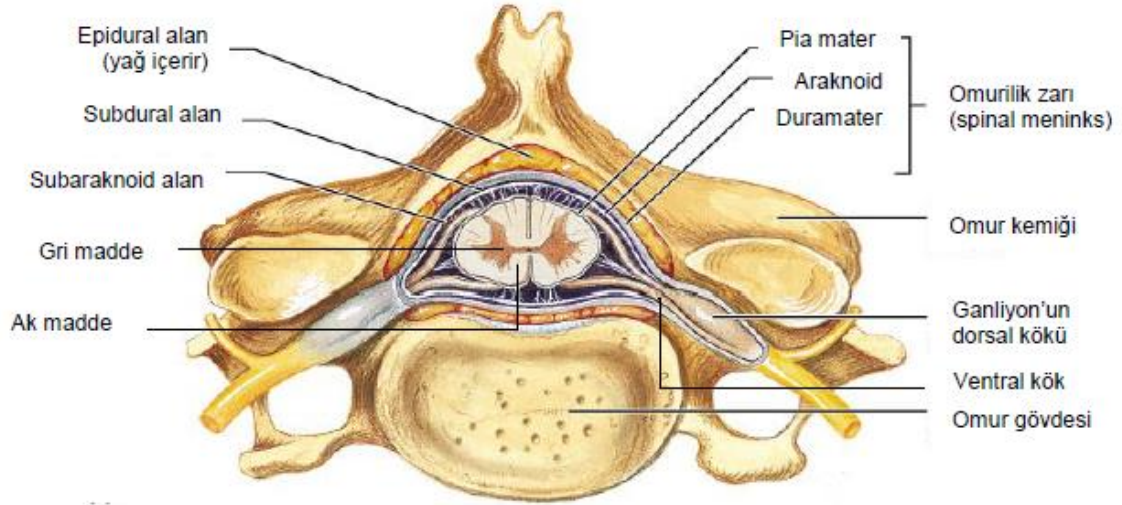
¹ Tetrapleji alt ve üst ekstremitelerin disfonksiyonu; parapleji alt ekstremitelerin disfonksiyonudur.

birinci ya da ikinci lumbar (bel) omuruna kadar devam eder [4]. İnsanlarda uzunluğu ortalama 42-45 cm, çapı 1-1,5 cm arasında değişir. Omur kemiği içinde bulunan omurilik 3 farklı zar ile kaplıdır: sert zar (duramater), örümceksi zar (araknoid) ve ince zar (pia mater). Omurgayı oluşturan 33 omurda toplam 31 çift spinal sinir bulunmaktadır (Şekil 2.1). Bunların 8'i servikal (boyun), 12'si torasik (sırt), 5'i lumbar (bel), 5'i sakral ve 1'i koksigeal sinirlerdir [5].

Omuriliğin enine kesitine bakıldığında; gri maddeyi çevreleyen ak madde görülür. Gri madde nöron (sinir hücresi) ve gliaların (sinir destek hücresi) hücre gövdesini, dendrit ve aksonları (sinir hücresi uzantıları) içerirken; ak madde çoğunlukla miyelinli aksonları ve gliaları içerir [6]. Omurilik ayrıca duysal sinirleri alan dorsal kökleri ve motor sinirleri alan ventral kökleri içerir (Şekil 2.2).



Şekil 2.1 Spinal sinirler [4]



Şekil 2.2 Omuriliğin enine kesiti [7]

2.2 Omurilik Hasarının Aşamaları

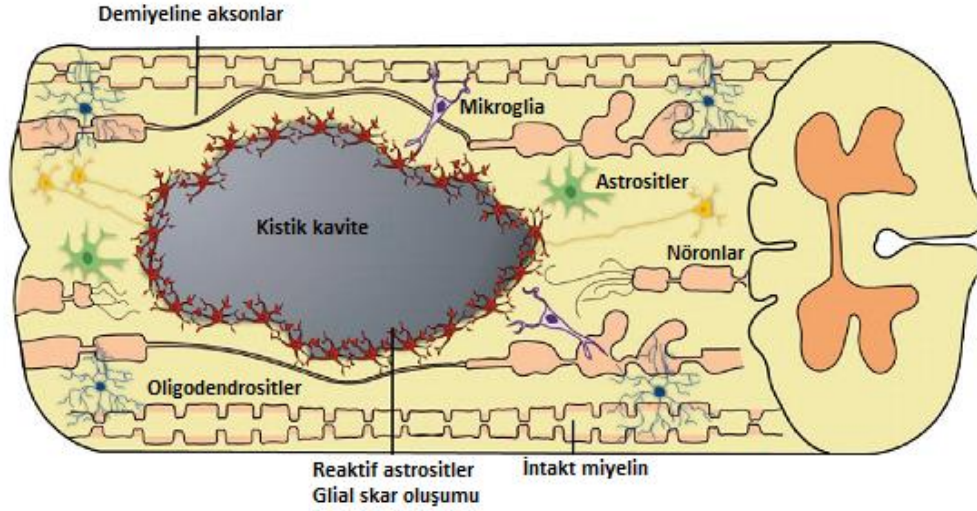
Omurgaya alınan travmatik etki omurun kırılmasına ve dislokasyonuna neden olur. Deplase omur, aksonları yok edecek şekilde omuriliği yaralayabilir veya yırtabilir. Kesit alanındaki tüm aksonların yok olması komplet OH ile sonuçlanır ve hasar bölgesinin altındaki tüm fonksiyonlar kaybolur. Tüm aksonların hasar almadığı durumda inkomplet OH oluşur. İnkomplet OH'da fonksiyon kaybı olmakla birlikte hasarın boyutu korunan/hasarlanan hücrelere ve spesifik sinyal yollarına bağlıdır [8].

OH sonrası patofizyolojik değişiklikler birincil ve ikincil hasar mekanizmalarını içerir. Birincil hasar akut fazda ve doğrudan travma sonucu oluşur. İç mekanik kuvvetler nedeniyle oluşan birincil hasar omurilik dokusunun mekanik olarak bozulmasına, nöral hücrelerin ölümüne, nöral fiberlerin kopmasına, hemorajik nekroz ve ödeme neden olur [9]. Saniyeler içinde gerçekleşen bu mekanizmaların engellenmesi neredeyse mümkün değildir. Akut fazda gerçekleşen olaylar, birbirine bağlı hücrel kaskadları ve günler hatta haftalar sürebilen sistemik olayları içeren ikincil hasarı tetikler. İkincil hasar mekanizmaları omurilik iskemisi, inflamasyon, eksitoksisite, mikrovasküler perfüzyonda değişim, serbest radikal üretimi, nekrotik/apoptotik hücre ölümü ve iyonik hemostazın bozulmasını içerir [10].

Hasar bölgesindeki nekrotik nöral doku ve miyelin kılıfı zarar görmüş nöral fiberler çevre dokuya çeşitli sitokinler ve kemokinler salar. Bunun sonucunda çevre omurilik segmentlerine inflamasyon yayılır ve bu, reaktif astrositlerin hasarlı dokuya penetrasyonuna neden olur [6]. Reaktif astrositlerin hasar bölgesine göçü ve kondroitin sülfat proteoglikan gibi büyüme inhibitörü moleküllerinin birikimi, hasar bölgesinde yoğun glial skar dokusu (kistik kavite) oluşturur [11]. Tüm bu kimyasal ve fiziksel bariyerler lezyon bölgesinde inhibitör çevre oluşturarak omuriliğin endojen rejenerasyonuna engel olmaktadır.

Çizelge 2.1 İkincil hasar mekanizmaları [12]

Sistemik etkiler (Nörojenik şok)	Kalp hızında kısa süreli artış, daha sonra uzun süreli bradikardi
	Kalp basıncı kısa süreli hipertansiyon, daha sonra uzun süreli hipotansiyon
	Periferik dirençte azalma
	Kalp debisinde azalma
Omurilik mikrodolaşımında lokal vasküler hasar	Kapiller ve venüllerde mekanik bozulma
	Hemoraji: özellikle gri cevherde
	Mikrodolaşımda kayıp: mekanik, tromboz, vazospazm
Biyokimyasal değişiklikler	Serbest radikal üretimi
	Lipid peroksidasyon
	Eksitotoksisite: glutamat
	Nörotransmitter birikimi
	Endojen opioidler
	Katekolaminler: noradrenalin, dopamin
	Araşidonik asit salınımı
	Eikozanoid üretimi
	Prostaglandinler
Sitokinler	
Elektrolit kaymaları	İntraselüler kalsiyumda artış
	Ekstraselüler potasyumda artış
	Sodyum geçirgenliğinin yükselmesi
Enflamatuar cevap	Serbest radikal üretimi
	Akson yıkımı
	Myelin artıklarının uzaklaştırılması
	Sitokinlerin salınımı
	Glial hücre aktivasyonu
	Oligodentrositlerde sitotoksik etkiler
	Wallerian dejenerasyon
Ödem/Apoptozis/Enerji metabolizmasında kayıp	



Şekil 2.3 Hasarlı omuriliğin şematik gösterimi [13]

2.3 Mevcut Tedavi Yaklaşımları

Geleneksel klinik tedavi yöntemleri stabilizasyon, inflamasyonu sınırlandırma, sekonder hücre ölümlerini engelleme, rehabilitasyon ve komplikasyonları önlemeye yönelik yaklaşımlara dayanmaktadır [11]. Bunlar endojen rejenerasyona yardımcı olsa da fonksiyonel onarım için yeterli olmamaktadır.

Acil tıbbi müdahale, baş veya boyunda herhangi bir travmatik etkiyi en aza indirmek için genellikle kaza mahallinde başlar. Omurilik travmasında tedavi stratejisi nörolojik muayene ve radyolojik değerlendirme sonuçlarına göre yapılır. Akut tedavide omurga bütünlüğünün ve sekonder hasarın önlenmesi amaçlanır. Akut fazda, nonspesifik serbest radikal tutucu etkisi ile sinir hücrelerinde oluşan zararı ve yaralanma olan bölgenin çevresinde lipid peroksidasyonunu inhibe eden, inflamasyonu sınırlandıran bir ilaç olan Metilprednizolon (MP) uygulaması yapılmaktadır [14]. MP serbest radikal tutucu olarak görev yapan sentetik bir kortikosteroiddir. Bu ilacın kullanımı inflamasyonu engelleyerek hasarın şiddetinin azaltılmasına yardımcı olabilir; ancak ilk 8 saat içinde uygulanmalı ve 24-48 saat uygulamaya devam edilmelidir [6]. Bununla birlikte tedavide MP kullanımı, yüksek dozun önemli yan etkileri olabileceğinden ve nörolojik sonuçları geliştirdiğine dair ikna edici bir kanıt bulunmadığından halen tartışmalıdır [15]. Akut tedavide MP uygulamasını takiben gerekliyse nöral dekompresyon ve/veya spinal stabilizasyon yapılır. Ayrıca kemik kırık-çıkıklarının uzaklaştırılması için ameliyat yapılmakta ve omurganın sabitlenmesi için çeşitli implantlar kullanılmaktadır. Akut omurilik

yaralanmasına maruz kalmış hastalarda, cerrahi tedavinin zamanlaması ve endikasyonları konusunda çeşitli fikirler olmasına rağmen, birçok cerrah farmakolojik tedavi sürecinde nörolojik kötüleşme gösteren inkomplet hasarlı vakalarda erken cerrahi tedavi seçeneğini savunmaktadırlar [16].

Sekonder fazda ise ilaç tedavisine ek olarak fizik tedavi ve rehabilitasyon çalışmaları uygulanmaktadır. Omurga kırıkları veya omurilik hasarlarına çoğunlukla farklı sistemik problemler eşlik ettiği için kullanılan ilaçlar bu sorunların çözümüne yöneliktir. Bu bağlamda kasların spastisitesinin artırılması için kas gevşeticiler, kemiklerin güçlendirilmesi için kalsiyum içerikli ilaçlar, antidepresanlar, üriner-kardiyovasküler sistem sorunlarını giderici ilaçlar ve ağrı kesiciler verilmektedir [17].

Fizik tedavi ve rehabilitasyonda kullanılan yöntemler ise fizyoterapistler tarafından uygulanan özel rehabilitasyon egzersizleri, elektrikli uyarım cihazları, ergo terapi adı verilen uğraşı tedavileri, çok özel sistemlerle uygulanan “robotik” yürüme ve el tedavileri, havuz içinde yapılan su içi egzersizler, konuşma tedavisi ve psikolojik destek tedavileri yer alır. Bu terapilerde öncelikli hedef inkomplet omurilik hasarlı hastaların günlük yaşamlarındaki temel aktiviteleri –yeme, giyinme, duş alma, kontinans, yer değiştirme vb.- gerçekleştirebilmelerini sağlamaktır. Çünkü motor rehabilitasyonun deneyim, idman ve öğrenme ile nöral çevrimi yeniden organize etmesi mümkündür [8]. Ayrıca egzersizin beyin ve omurilik hasarında beyin türevli nörotrofik faktör aktivasyonunu artırarak endojen iyileşmeyi kolaylaştırdığı bildirilmiştir [18].

Mevcut farmakolojik tedaviler içinde nörolojik sistemi direk etkileyerek rejenerasyon sağlayacak bir ilaç bulunmamaktadır. Ancak günümüzde randomize kontrollü klinik deneme aşamasında olan bazı farmakolojik ajanlar bulunmaktadır: Monosialotetraheksosil gangliozid (GM-1), Tirotropin salıcı hormon (TSH), Naloksan. GM-1 memelilerin hücre membranında doğal olarak bulunan -özellikle merkezi sinir sistemi membranında bolca bulunan- bir bileşendir. Deneysel hasar ve iskemi modellerinde akut nöroprotektif ve uzun-dönemli rejeneratif etkisi bildirilmiştir [19]. Nörolojik iyileşmenin yanısıra bağırsak/mesane fonksiyonlarında ve sakral duyuda gelişme olduğu raporlanmıştır [19]. Etki mekanizmaları büyüme faktörlerinin sentezi için protein kinaz-C modülasyonu, eksitatuar aminoasitlerin salınımını azaltmaları veya nitrik

oksite oluşumunu engelleme yetenekleri ile ilgilidir [17]. TSH'nin eksitotoksik aminoasitleri, endojen opiatları, platelet aktive edici faktörü, lökotrienleri ve gibi ikincil hasar mediatörlerini antagonize ettiği gösterilmiştir. TSH'un omurilik yaralanmasındaki spesifik etkisi iyi bilinmemekte ise de spinal refleksleri potansiyelize ettiği ve kolinerjik nöronlar (asetilkolin salgılayan) üzerinde trofik etkileri olduğu saptanmıştır. Bu nedenle TSH'nin, yaralanmanın gelişmesini önlemekten çok iyileşme fazında daha etkili olabileceği belirtilmiştir [12]. Naloksan, OH pre-klinik denemelerde güçlü terapötik etkileri olduğu gösterilen bir opiat (uyku ilacı) antagonistidir. NASCIS II çalışmalarında plaseboya üstünlüğü gösterilememiş, ancak daha sonra yapılan veri analizlerinin tekrar değerlendirmelerinde travma sonrası ilk 8 saat içerisinde verildiğinde, lezyon altında düzelmelerin plaseboya oranla çok daha belirgin olduğu tespit edilmiştir [20]. Bu farmakolojik ajanlar dışında; serbest radikal tutucular ve antioksidanlar, kalsiyum/sodyum kanal blokörleri, araşidonik asit modülatörleri gibi farklı metabolizma bileşenlerini hedef alan OH tedavi çalışmaları da yapılmaktadır. Ancak bunların kullanılabilmesi için daha geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç vardır.

2.4 Doku Mühendisliği Uygulamaları

Hasarlı ve aksotomize nöronların yaşamlarına devam etmeleri, kesilmiş aksonların uzaması, lezyon bölgesini geçmesi, uygun hedeflere ulaşması ve sonuçta fonksiyonel sinapsların oluşması ile nörolojik iyileşme rejenerasyon sürecindeki esas basamaklardır. Bu amaçla rejenerasyonu hızlandırıcı veya inhibitör işlemlerini bertaraf edici yaklaşımlar üzerinde çalışılmaktadır. Kök ve progenitör hücrelerin varlığı, transplantasyon, köprüleme ve ekzojen büyüme faktörlerinin uygulanmasının omuriliğin rejeneratif kapasitesini artırdığı bildirilmiştir [21]. Bu nedenle doku mühendisliğinin hasarlı omuriliğin onarımında en etkili yöntem olduğu düşünülmektedir.

2.4.1 Hücre Transplantasyonu

Omurilik yaralanmasında omurilik içine hücre transplantasyonu "hücre tedavisi" olarak adlandırılmaktadır. Bu amaçla kullanılacak hücreler in vitro ortamda başarılı bir şekilde çoğalabilme, hücre canlılığı ve fonksiyonu iyi olma, immün reddedilme oluşturmama gibi özellikleri taşımalıdır [22]. Omuriliğe transplante edilen bu hücrelerin pek çoğu nöron,

astrozit ya da oligodentrosit gibi omurilik hücrelerine dönüşmesi amaçlanan kök hücrelerdir. Bunun dışında yaralanma bölgesinde rejenerasyona destek verebilecek, nörotrofik faktörleri salgılayabilecek Schwann hücresi (Sh) ya da olfaktör glia hücresi (OGH) transplantasyonu da yapılabilir.

Embriyonik kök hücre (EKH) kullanımında etik sorunlar olduğundan OH onarım çalışmalarında çoğunlukla yetişkin kök hücreleri kullanılmaktadır. Bunlar herhangi bir vücut hücresine farklılaşabilen pluripotent kök hücreler, sadece bazı tip hücrelere farklılaşabilen ve nöral olmayan dokulardan elde edilen kök hücreler ve nöral kök hücrelerdir. Pluripotent kök hücreler, tümör oluşturabildiğinden nöral progenitör hücrelere farklılaşması için indüklenmektedir [23]. İndüklenmiş pluripotent kök hücreler (iPKH) teratoma oluşturma bakımından EKH'e benzemektedir; ancak nöral hücrelere dönüşme frekansı EKH'den daha düşüktür [24]. Nöral olmayan yetişkin kök hücreler kemik iliği, yağ dokusu ve plasenta gibi çeşitli dokulardan izole edilmektedir. Bu hücrelerin avantajları güvenilir olması ve izolasyonunun kolay olmasıdır. Nöral kök hücrelerde dahil olmak üzere tüm bu kök hücrelerle yapılan in vivo çalışmalarda hücrelerin nöral hücrelere farklılaştığı, nörotrofik faktör salgıladıkları, hasarlı bölgede akson uzaması ve miyelinleşme sağladıkları görülmüştür. Ayrıca klinik çalışmalarda (Faz I/II) kök hücre transplantasyonunun bazı hastaların duyu fonksiyonlarında iyileşme sağladığı raporlanmıştır [13].

SH'i çevresel sinir sistemindeki (ÇSS) aksonların miyelinlerini oluşturan hücrelerdir. Bunların hasarlı omurilikte aksonların tekrar büyümesini ve miyelinleşmesini sağlayacağı düşünülmektedir. Bunla birlikte astrositce zengin bir ortamda SH'inin dokuyla entegre olamayacağı öne sürülmektedir [25]. Bunu destekleyen kanıtlar olsa da Sh ile yapılan çalışmalarda lezyon bölgesinde rejenerasyonu teşvik ettiği ortaya koyulmuştur. OGH olfaktör nöronların aksonlarının miyelin kılıfla kaplanmasında görevlidir. Ayrıca aksonal kalıntıları fagositozla temizleyebilir. Bu hücreler hem Sh hem astrositlerin fenotipik özelliklerini eksprese edebildiğinden, gerektiğinde transplante edilen bölgede bir hücre tipinden diğerine dönüşebildiğine ya da her iki rolü birleştirebildiğine inanılmaktadır [26-27]. In vivo yapılan OGH çalışmaları, bu hücrelerin lezyon bölgesine göç edip olfaktör olmayan nöronları miyelinleyebildiğini ortaya koymuştur [28]. Hastalar üzerinde yapılan

klirik çalışmalar her iki hücre transplantasyonunun da güvenilirliğini gösterse de etkinliğini gösterememiştir [28].

2.4.2 Doku İskeleleri

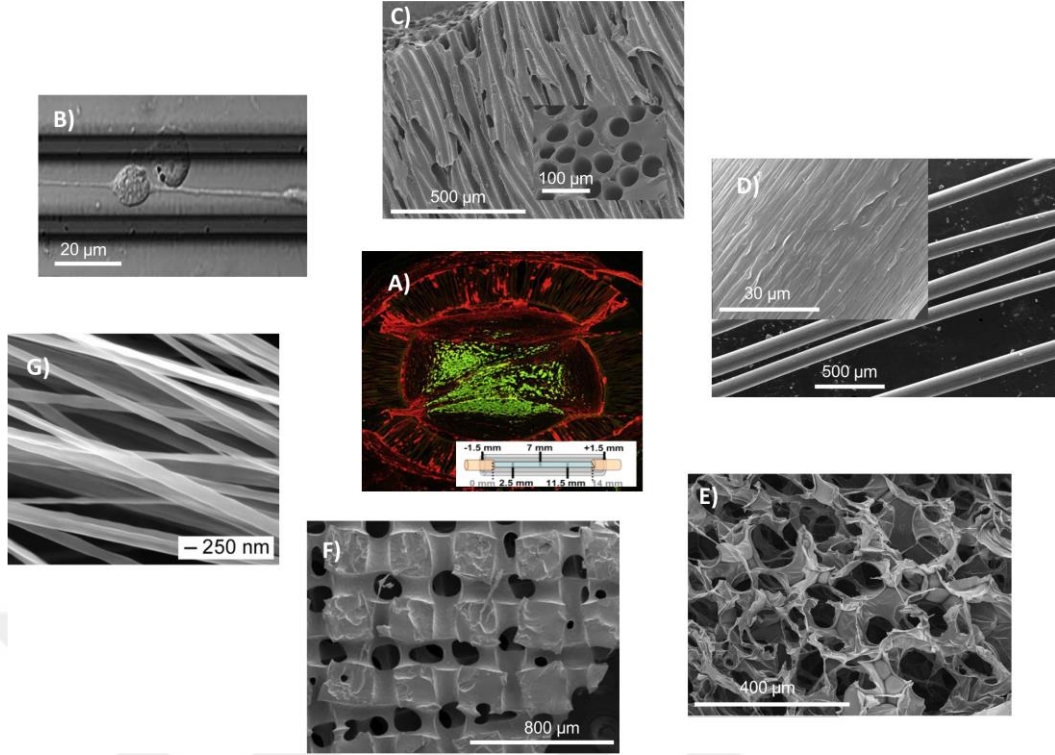
Hücreler hasarlı bölgeye direk enjekte edilirse dokuya tutunup burada varlıklarını sürdürmeleri zordur. Ayrıca büyük doku kayıplarında hasarlı bölgenin köprülenmesi gerekmektedir. Bu yüzden hücre terapilerine ek olarak doku iskelelerinin kullanımının OH onarımında potansiyel kullanımı yıllardır söz konusudur. Doku mühendisliği yaklaşımı kullanılarak oluşturulan nöral doku iskeleleri sinir hücresinin proksimal ucundan distal ucuna doğru akson filizlenmesini kolaylaştırmalı, rejenere olan sinir fiberlerine yeterli mekanik dayanım sağlamalı, besinlerin ve atık ürünlerin değişimine olanak sağlamalıdır [29]. Ayrıca klinik kullanım açısından kolay üretilbilir, sterile edilebilir ve implante edilebilir olmalıdır. Nöral doku iskeleleri bulunduğu bölgede sadece fiziksel matriks olarak kullanılmaz; aynı zamanda nörotrofik faktörlerin ya da ilaçların lokal gönderiminde taşıyıcı olarak kullanılabilirler [30].

Hücre tutunması ve hareketinin doku iskelesinin kimyasal yapısı kadar fiziksel yapısına da bağlı olduğu bilinmektedir. Hızlı ve düzenli akson rejenerasyonu için topografik yapı önemlidir. Farklı mikro/nano fabrikasyon teknikleri ile çeşitli üç boyutlu (3B) doku iskelesi elde etmek mümkündür. Örneğin; nanofiberler elektro lif çekimi ile, mikrofiberler ekstrüzyon ile elde edilebilir [31]. Mikrokanallar fiber şablonlar kullanılarak kalıplama ya da lazer ışınlama, dondurarak kurutma, iyon kapileritesi gibi diğer tekniklerle retilbilir [32]. Nano ve mikro yapılar ayrıca litografi, fotolitografi, kalıplama ve reaktif iyon dağlama gibi aynı tekniklerle de elde edilebilir [33]. Konak doku ile implant arasındaki mekanik özelliklerin uyuşması da OH onarımında kullanılacak doku iskelesi için önemli bir parametredir; aksi halde negatif sonuçları olacağı düşünülmektedir. Omuriliğin elastik modülünün meninkslerin (zar) varlığına bağlı olarak 3-300 kPa arasında değiştiği raporlanmıştır [6]. Yapılacak doku iskelesinin bu değerlere yakın olması rejenerasyonda avantaj sağlayacaktır.

15 yılı aşkın süredir OH onarımında biyobozunur/biyobozunmaz, sentetik/doğal birçok malzemedен doku iskelesi elde edilmiş ve birçoğunun etkinliği in vitro ve/veya in vivo testlerle gösterilmiştir. Doku iskelesi üretiminde en çok kullanılan doğal malzemeler

kolajen, aljinat, agaroz, kitosan, hiyalüronik asit, fibrin, metilselüloz ve doğal ekstrasellüler matris (ECM) vb. iken; sentetik malzemeler poli(laktik asit) (PLA), poli(glikolik asit) (PGA), poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), poli-ε-kaprolakton (PCL), poli-N-(2-hidroksipropil)-metakrilamit (PHPMA), poli(2-hidroksietil metakrilat) (PHEMA), bozunabilir PLA-b-PHEMA kopolimeridir [30]. Doğal polimerler vücut içerisinde bulunan makromoleküler yapılara benzer olduklarından avantaj sağlamaktadırlar. Ancak bu malzemelerin modifiye edilmeleri sentetik polimerlere göre daha zordur. Sentetik polimerlerin mekanik özellikleri ve bozunma süreleri geniş bir ölçekte ayarlanabilmektedir. Biyomalzemenin kimyası, immün hücreler ile etkileşen proteinler üzerinde etkili olduğundan, bu immün aktivasyona sebep olmaktadır. genellikle hidrofobik ya da nötral malzemeler hidrofiliklere göre, implant bölgesinde lokal immün yanıt oluşturan monosit adezyonunu artırmaktadır [34]. Bu yüzden hidrofilik malzeme kullanımı önerilmektedir. Doku iskelesi üretiminde kullanılan malzemenin seçimi hasara göre değişse de hepsinde bulunması gereken temel bazı özellikler vardır [35];

- ✓ Biyouyumluluk; implantasyon sonrası biyomalzeme ya da bozunma ürünleri toksik yan etki göstermemeli, immün yanıt/reddedilme oluşturmamalıdır.
- ✓ Mekanik dayanım; biyomalzeme hem boşlukları doldurmak için hem de implante/konak hücrelerin tutunması, göçü ve aksonal uzama için yeterli mekanik dayanıma sahip olmalıdır.
- ✓ Plastisite; biyomalzeme klinik ihtiyaçlar çerçevesinde çeşitli şekillerde ayarlanabilir olmalıdır.
- ✓ Biyobozunurluk; biyomalzeme oluşacak rejenere dokuya yer açmak için degrades olabilmelidir.
- ✓ Yüzey özellikleri; malzemenin topolojik yapısı hücre adezyonuna olanak sağlamalı ve dokunun onarımına yardımcı olmalıdır.



Şekil 2.4 MSS rejenerasyonunda kullanılan malzemelerin topografik motifleri [33] A) Dış kanal ve iç matrikse dayalı OH ve periferel sinir rejenerasyonu için kanal yapısı. B) PC-12 hücrelerinin büyüdüğü mikroyapılı substrat. C) Multikanallı poli(etil akrilat) doku iskelesi. D) Mikro ekstrüzyonla elde edilen PCL mikrofilament. E) birbirini ile bağlantılı poroz yapılı, çapraz bağlı hiyalüronik asit doku iskelesi. F) İç içe geçmiş mikrokanaallar içeren poli(etil akrilat) bazlı doku iskelesi. G) Hizalı elektro-eğrilmiş PLA fiberler

Doku iskelesi içinde farklı doğrultularda birbirini ile bağlantılı porların olması rejenerasyon için önemli başka bir özelliktir. Bur tür yapıya sahip malzemeler, rejenere doku başlangıç yapısını kararlı hale getirene kadar, başlangıç mekanik dayanımını ve transplante hücreler için 3B ortamı sağlamaktadır. Doku iskelesi vasıtasıyla gerçekleşecek rejenerasyon doku iskelesinin yüzey alanı, por boyutu ve bağlantısı ile ilgilidir. Bu nedenle doku iskelesinin hücre ekimi ve adezyonunu, ECM salgısını ve sonraki doku rejenerasyonunu kolaylaştırması için yüksek poroziteye ve birbirini ile bağlantılı porlara sahip olması istenmektedir [36]. 10-1000 µm arasındaki por boyutlarının doku hacmini koruyarak, geçici mekanik fonksiyon sağlayarak ve bazen de biyoaktif faktör ileterek doku rejenerasyonunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Dahası makro ve mikro porların kombinasyonunun doku iskelesini, yeni doku damarlaşmasında protein ve besin alımı, hücre çoğalması ve göçü için uygun hale getirmektedir [37]. Eğer porlar birbirleri ile iyi bağlantı kuramamışsa doku iskelesinin porozitesi yüksek olsa bile iletim olayları,

3B hücre kolonizasyonu ve doku büyümesi inhibe edilebilir [38]. Bimodal por yapılı doku iskelesinin hücre infiltrasyonunu kolaylaştırdığı; 34 günlük hücre kültürü sonrası test edilen doku iskelesi içindeki hücrelerin birbirleri arasında bağlantı kurarak doku benzeri bir yapı içinde organize oldukları görülmüştür [39].

2.4.3 Büyüme Faktörleri

Nörotrofik faktörler nöronal canlılığı, çoğalmayı, farklılaşmayı, göçü, aksonal uzamayı ve sinaptik plastisiteyi geliştiren proteinlerdir. Bunların dışında ayrıca merkezi sinir sistemi onarımını da desteklemektedirler. Bu büyüme faktörleri sinir büyüme faktörü (NGF), beyin-türevli nörotrofik faktör (BDNF), nörotrofin-3 (NT-3), nörotrofin-4/5, glial hücre-hattı türevli nörotrofik faktör (GDNF), and siliyer nörotrofik faktör (CNTF) ve diğerlerini içermektedir [40]. NGF, BDNF, NT-3 ve NT-4/5 yapısal nörotrofinlerdir. Nöral hücrelerin transmembran reseptörlerine bağlanıp gen ekspresyonunu değiştirecek hücre içi transkripsiyon faktörlerini aktive edebilirler [41].

Bu nörotrofik faktörlerin uzun dönemli uygulanmasının hasarlı omurilikte aksonal rejenerasyona ve fonksiyonel iyileşmeye katkı sağladığı gösterilmiştir [42]. BDNF, MSS nöronları için NGF'den daha geniş bir trofik aktiviteye sahiptir. Her ikisi de omurilikteki duysal ve motor aksonların gelişimini destekler [43]. NT-3 ise kortikospinal aksonların gelişimini destekler, özellikle insanlarda üst motor nöronlarda önemlidir. Bununla birlikte, NGF ve GDNF nosiseptif (ağrı reseptifi) aksonların gelişimini teşvik ettiği için disfonksiyonel akson gelişimine ve aşırı ağrı duyulmasına neden olabilir [43].

Nörotrofik faktörlerin sistemik gönderimi, kan-beyin bariyeri (KBB) sebebiyle mümkün değildir. Bu faktörler hasarlı omurilik bölgesine direk enjeksiyonla, genetik olarak modifiye hücrelerle ya da doku iskelesine emdirilerek verilebilir. Bu yöntemlerden uzun dönemli, lokal gönderim için en etkilisi olanının genetik modifikasyon olduğu düşünülmektedir. Ancak konsantrasyon, zaman gibi parametrelere dikkat edilmemesi aşırı akson gelişimine, aksonların graft bölgesini terk etmesine ve omuriliğin distal ucuna inerve olmasına neden olabilir [44].

2.4.4 Kombine Tedaviler

Tamamlayıcı tedavilerin OH onarımında en etkili yol olduğu düşünülmektedir. Birçok çalışma nörokoruyucu ajanlar, büyüme faktörleri, büyüme inhibitörü moleküllerin nötralizasyonu ve sindirimi, farklı hücre tiplerinin transplatasyonu ve gen terapileri ile kombine edilmiş doku iskelelerini içermektedir (Çizelge 2.2). Ayrıca fonksiyonel restorasyonu maksimize etmek için belirli terapilerin zaman noktaları, hasarın uygun zamanı süresince düzenlenmelidir. Örneğin, anti-inflamatuar ve nörokoruyucu tedaviler akut fazda kullanışlı olabilirken kronik fazda inhibitör çevrenin nötralizasyonu ile birlikte aksonal büyümeyi ve miyelinleşmeyi uyaran tamamlayıcı tedaviler kullanılmalıdır. Bununla birlikte son veriler aksonal filizlenmenin, rehabilitasyon çalışmalarının eklenmesi ile fonksiyonel lokomotor işlevleri restore edebileceğini göstermiştir. [45]

Çizelge 2.2 Omurilik hasarı onarımında kombine tedavi çalışmaları [11]

Doku iskelesi	Hücre tipi	Biyoaktif faktör	Hasar modeli	Davranışsal iyileşme
PCL	NT-3 eksprese NSC	ChABC	Hemiseksiyon	Evet
Laminin kaplı kitosan kanallar	NSPC	NgR, bFGF, EGF, PDGF	Transeksiyon	Hayır
Kitosan kanalda fibrin	NSPC	dbcAMP	Transeksiyon	Evet
Kolajen	NPC	Cetuximab	Hemiseksiyon	Evet
PLGA (paralel kanallar)	NT-3 ve TrkC eksprese NSC	-	Transeksiyon	Evet
Jelatin	NT-3 ve TrkC eksprese NSC	-	Transeksiyon	Evet
PAN/PVC (paralel kanallar)	GDNF eksprese SC	GDNF	Hemiseksiyon	-
Agaroz	BDNF salgılayan SC	-	Transeksiyon	-
Oligo([PEG]fumarat) hidrojel	SC veya MSC	PLGA mikrokürelere enkapsüle dbcAMP	Transeksiyon	Evet (MSC-dbcAMP)
PCLA	NSC	NT-3	Transeksiyon	Evet

OMURİLİK HASARI İÇİN DOKU İSKELELERİ

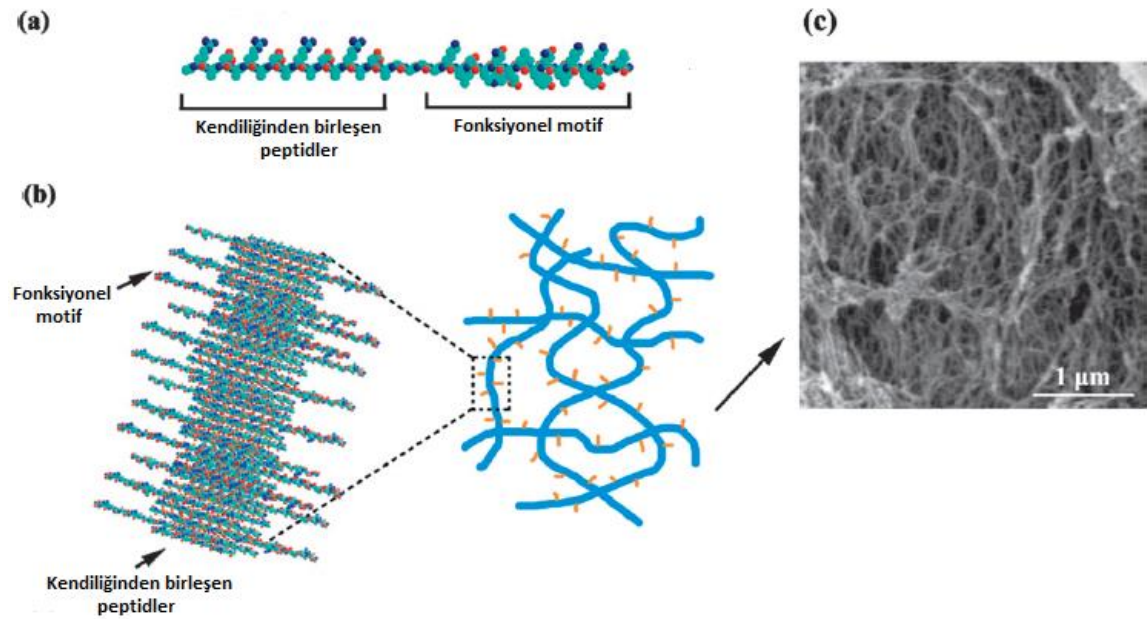
Omurilik onarımıyla ilgili zorluklar hücre canlılığı, akson rejenerasyonu ve gelişimi, gelişen aksonların doğru hedeflenmesi, doğru ve fonksiyonel sinaptik bağlantının kurulmasıdır [46]. Tüm bunları gerçekleşebilmesi için hasarlı bölgede rejenerasyona yardım edecek fiziksel bir matrikse ihtiyaç vardır. Fonksiyonel iyileşme için doku iskelesinin mümkün olduğunca nöral ECM'yi taklit etmesi gerekir. Literatürde çok farklı kimyasal ve fiziksel yapıda nöral doku iskelesi bulmak mümkündür. Ancak bunlar farklı şartlar altında üretildiklerinden birbirine üstünlüklerini yorumlamak kolay değildir. Bu bölümde hasarlı omuriliğin rejenerasyonu için hazırlanan bazı doku iskelesi çeşitleri ele alınacaktır.

3.1 Kendiliğinden Birleşen Peptitler

Moleküler kendiliğinden birleşme, belli termodinamik koşullar altında, moleküllerin kovalent olmayan bağlar sonucu spontane bir şekilde yapısal olarak daha düzenli ve kararlı oluşumlar doğurmasıdır [47]. Bu doğada sıkça rastlanan bir olaydır. Lipid moleküllerinin su içinde yağ damlacıklarını oluşturması, dört adet hemoglobin polipeptidinin işlevsel hemoglobin proteinini oluşturması, ribozomal proteinlerin ve RNA'nın işlevsel ribozomları oluşturması örneklerden yalnızca birkaçıdır [48]. Ayrıca, hücre zarının temel bileşeni olan fosfolipidler sulu çözeltilerde kendiliğinden düzenlenerek miseller, kesecikler (veziküller) ve tübüller gibi farklı yapılar oluşturmaktalar [48].

Kendiliğinden birleşen peptidler (SAP) sulu çözelti içerisinde, kovalent olmayan etkileşimler nedeniyle stabil nanofiber jel halinde kümelenen malzemelerdir. Kendiliğinden birleşim; enzim reaksiyonları ve çevresel koşullardaki değişimler (sıcaklık-pH-çözücü) ile olabilmektedir. Bunlardan en sık kullanılan pH değiştirilerek jelleşme sağlanmasıdır [47]. Peptidler değişen negatif ve pozitif amino asitlerin periyodik tekrarı ile karakterizedir. Bu yüzden fizyolojik tuz içeren çözelti varlığında sulu çözültiden stabil nanofiber matriks haline geçerler [49].

En büyük avantajları enjekte edilebilir olmalarıdır. Eğer fizyolojik şartlarda jelleşme sağlanabilirse ek cerrahi müdahaleye ihtiyaç duyulmadan hasarlı sinir dokusuna enjekte edilebilir ve rejenerasyona yardımcı olabilirler [49]. Ayrıca sentetik polimer fibrillerden 1000 kat daha küçük olduklarından hücreleri sararlar ve konak doku ile doku iskelesinin entegrasyonuna olanak sağlayabilen nanofibriler ve gözenekli yapılarıyla doğal ECM'ye daha benzerler. Dezavantajları ise mekanik dayanımlarının zayıf olmasıdır. Bu sorun daha uzun zincirli (200 amino asit) peptitler yapılarak çözülebilir [50].



Şekil 3.1 Kendiliğinden birleşen peptid bazlı doku iskelesi [49]

Birçok peptid doku iskelesinin hücre tutunmasına ve farklılaşmasına olanak sağladığı görülmüştür. Bu peptidler, spesifik ligandları (RGD, IKVAV ya da RADA) içerecek şekilde kimyasal olarak dizayn edilebilmektedir. IKVAV zinciri içeren peptid amfifil moleküllerin kültürdeki nöranların dışı doğru geliştiğini ve nöral progenitör hücrelerin astrositik

farklılaşmasını engellediği gösterilmiştir [51]. Bu nanofibrillerin hasarlı omuriliğe in vivo enjeksiyonu lezyon bölgesinde hücre ölümünü azaltmış ve oligodendrositlerin sayısını artırmıştır. Dahası motor ve duysal fiberlerin rejenerasyonunu teşvik ederek davranışsal iyileşmeye yol açmıştır [52]. SAP'ların deney hayvanında optik trakt transeksiyonlu yara bölgesine enjeksiyonu görme fonksiyonunun geri gelmesini sağlamıştır [53]. Bir diğer SAP doku iskelesi modeli RADA16-I zinciri ile modifiye edilendir. Bu doku iskelesinin PC-12 hücrelerinin gelişimini ve rat ön hipokampal nöronları kullanılarak yapılan in vitro çalışmada fonksiyonel sinapsların oluşumunu desteklemiştir [54]. RADA16-I modifiye SAP'ların ayrıca hem in vitro hem in vivo nöral progenitör hücrelerin farklılaşmasını teşvik ettiği de gösterilmiştir.

3.2 Asellüler Doku İskeleleri

Asellüler matrisler hayvansal kaynaklardan ya da insan kadavralarından elde edilen, üretim sırasında görünür tüm hücrelerden arındırılan matrislerdir. ECM doku iskeleleri olarak da bilinirler. Hücrelerin uzaklaştırılması ile immünojenik yanıtın önlenmesi amaçlanmaktadır. Özellikleri kontrol edilememekle birlikte doğal kaynaklardan elde edildikleri için doğal ekstrasellüler matrikse benzer mekanik dayanıma, üç boyutlu yapıya ve ECM proteinlerine sahiptirler [55]. Halihazırda ticari asellüler doku iskeleleri bulunmaktadır.

Asellülerizasyon çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle yapılabilir [56]. Fiziksel yöntemler ajitasyon, sonikasyon, mekanik baskı ve donma-çözülme gibi proseslerdir. Bu işlemlerden sonra çeşitli iyonik çözeltiler ve deterjanlarla kimyasal prosesler uygulanır. Hücrelerin uzaklaştırılmasında ayrıca tripsin, esteraz, dispaz ve nükleazlar gibi enzimatik ajanlar da kullanılabilir. Bu aşamalardan sonra sterilizasyon ve karakterizasyon işlemleri uygulanmaktadır. Hangi yöntemin kullanılacağı dokunun hücre yoğunluğuna, lipid içeriğine, kalınlığına bağlıdır [57]. Mesane, bağırsak, perikardiyum, amniyon gibi ince doku laminaları için en çok kullanılan teknikler dondurma-çözülme, kas-submukoza gibi istenmeyen tabakaların mekanik ayrımı ve kolayca uzaklaştırılabilecek kimyasallara göreceli kısa süre maruz bırakma ve yıkamadır. Dermis gibi daha kalın doku laminaları için daha geniş biyokimyasal maruz bırakma ve uzun süreli yıkama gerekebilir. Adipoz

doku, beyin ve pankreas gibi yağlı ve amorf dokular için alkol gibi ek lipid çözücüler gerekir.

Kimyasal yöntemle kombine dondurma-çözülme tekniği, günümüzde asellüler sinir allograftlarının üretimi için en etkili yöntem olarak bildirilmiştir [58]. Bu yöntemde uygulanan tekrarlı dondurma-çözülme tekniği hücre membranının parçalanmasına ve hücre lizisine neden olmaktadır. Kimyasal ajan olarak uygulanan Triton X-100 ve sodyum deoksikolat/sodyum dodesil sülfat (SDS) hücre kalıntıları ve çekirdekleri uzaklaştırmaktadır. SDS, Triton X-100'den daha güçlü bir ajan olmakla birlikte doğal doku yapısına zarar vermektedir.

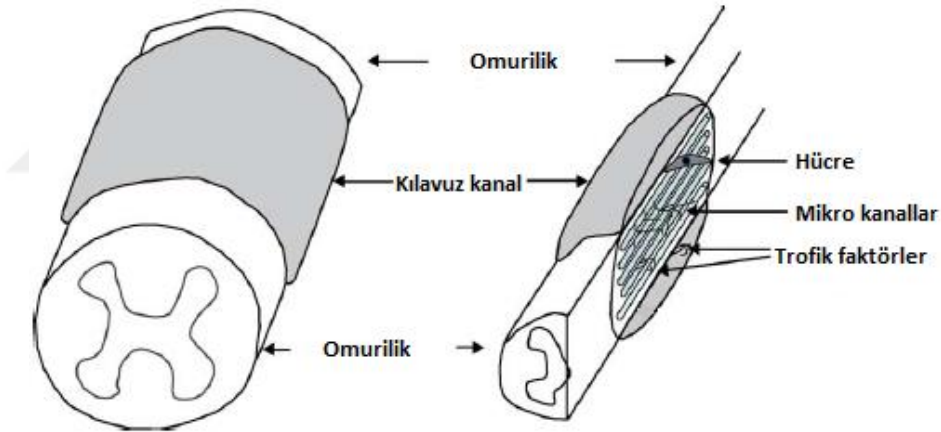


Şekil 3.2 Asellüler omurilik ve normal omurilik [59]. Omurilik doku iskelesi fildişi beyazı rengine dönmüş ve yarı saydam olmuş, ancak silindirik şeklini korumuş. Normal omuriliğin yarı çapı 2/3-4/5 oranında küçülmüş, dayanımı az oranda azalmış, çekme kuvveti değişmeden kalmış ve vizkozitesi az oranda azalmış

MSS kaynaklı ECM doku iskeleleri ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır; bunların da çoğunluğu organizmaya transplantasyonunda biyoyumluluk ile ilgilidir. Bu doku iskelelerinin çeşitli hücreler ve faktörlerle beraber transplantasyonu gündemdedir. Nordihidroguaiaretik asit ve Lityum klorür ekilen hücrelerin asellüler doku iskelesindeki yaşamını önemli oranda uzatmaktadır. Biyolojik aktivitenin devam etmesinin, in vitro PC-12 hücrelerinin kemotaksisini, hücre mitogenezi ve hücre farklılaşmayı indüklediği gösterilmiştir [60].

3.3 Kılavuz Kanallar

Hasarlı omuriliğin köprülenmesinde kullanılan bir diğer yaklaşım omurilik dokusunun kompleks yapısını yeniden üretebilecek doku iskeleleridir. Hasarlı aksonların; yara dokusu ile etkileşimi üzerine abortif, yanlış-yönlü ya da nöroma-benzeri oluşumla sonuçlanan akson filizlenmeleri gösterdikleri bilinmektedir [61]. Omurilik boyunca rejenerere olan aksonların lineer organizasyonunun devam etmesi için topografik kılavuzluk edebilecek mimaride doku iskeleleri gerekir. Bu bağlamda; farklı boylamsal doğrultularda yönlendirilmiş kanalları içeren poroz konduitler, fiberler ve tübüler formlar dizayn edilmiştir. Yönlendirilmiş kanallar rejenerere olan sinir hücrelerinin iki ucu arasında köprü görevi görmektedir. Bu sinir kılavuzları aksonların proksimal sinir ucundan filizlenmesini yönlendirir, yaralı sinir uçları tarafından salgılanan büyüme faktörlerinin difüzyonu için kanal sağlar, yara dokusunun infiltrasyonunu azaltır, aşırı dallanmayı önler [62].

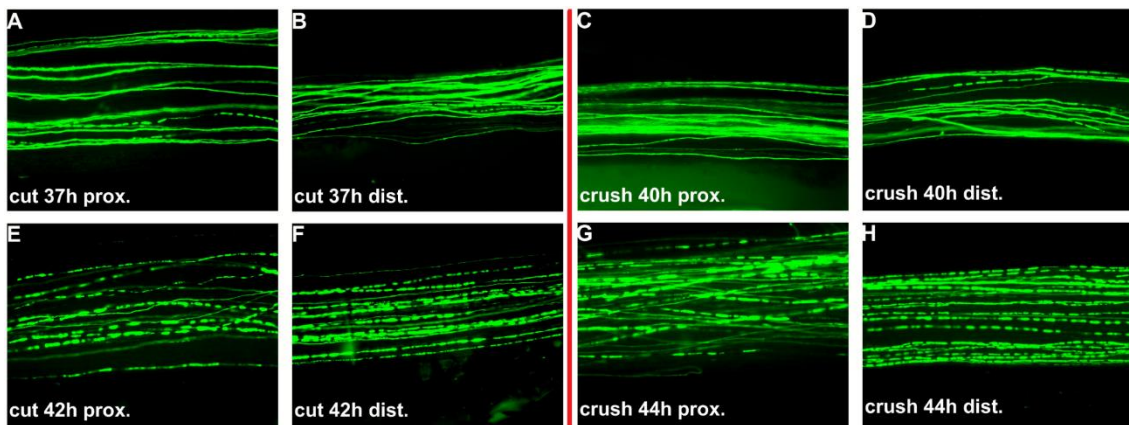


Şekil 3.3 Omuriliğin kılavuz kanalla köprülenmesi [61]

Bir sinir hasar aldığı zaman Wallerian dejenerasyonu olarak bilinen bir sürece maruz kalır [63]. Sinir hücre gövdesine bağlı akson kesildiği ya da ezildiği zaman; distal uçta dejenerasyon başlar ve sinapsa kadar devam eder, ancak diğer nörona geçmez. Aksonal dejenerasyonla beraber miyelin kılıf da degrades olur. Bu yıkım makrofajları bölgeye çeker ve dejenerasyonla birlikte yıkıntıların temizliği başlar. Schwann hücreleri hem miyelin debrisleri hem de makrofaj kökenli sitokinlere cevaben mitozla bölünmeye ve çoğalmaya başlar. Çoğalan Schwann hücreleri bir taraftan miyelin degradasyonuna yardımcı olurken, diğer taraftan bazal lamina içinde kaldığından boylamsal bir Schwann

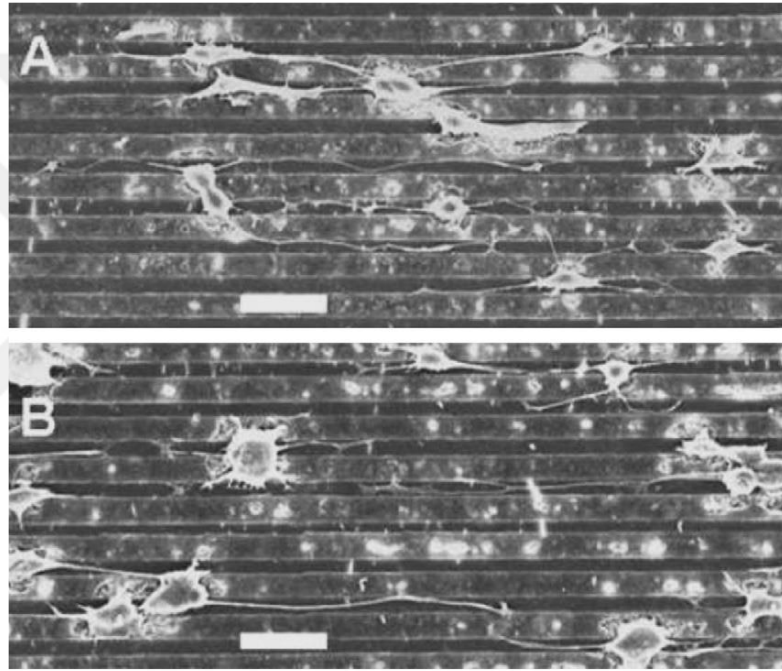
hücre bandı oluşturur. Dejenerasyondan sonar rejenerasyon başlar [63]. Hasarlı bölgenin proksimal ucundaki miyelinli ve miyelinsiz fiberler spontane bir şekilde yeni akson filizlenmeleri gösterir. Bu filizlenmeler proksimal uçta sağlam olan Ranvier düğümü seviyesindeki aksonlardan oluşur. Zamanla bu aksonların bir kısmı hedeflerine ulaşır ve olgunlaşır.

Wallerian dejenerasyonu çoğunlukla peripheral sinirler için anlatılan bir durum olmakla birlikte merkezi sinir sisteminde de görülmektedir. Ancak ÇSS ve MSS'nin yapıları farklılık gösterdiğinden Wallerian dejenerasyonu da farklılık göstermektedir [64]. Miyelin kılıf ÇSS'de Schwann hücreleri tarafından oluşturulurken, MSS'de oligodendrositler tarafından oluşturulur. Miyelin debrislerinin atılması ÇSS ile MSS'de farklıdır. MSS'ye göre ÇSS'de debris atılımı çok hızlı ve daha verimli olur; Schwann hücreleri bu farkın birincil nedenidir. Bu iki sistem arasındaki diğer fark kan-doku bariyerinin geçirgenliğindeki değişimdir. ÇSS'de geçirgenlik uçsal bölüme doğru artar, fakat MSS'de bariyerin bozulması yalnızca hasarlı bölgeye bağlıdır. İki sinir sistemi arasındaki bir diğer farklılık rejenerasyon hızıdır. ÇSS'de rejenerasyon hızlıdır ve günde 1 milimetreden daha fazla büyüme olur. Schwann hücreleri tarafından salınan büyüme faktörleri de rejenerasyonu destekler. MSS rejenerasyonu ise daha yavaştır. Bunun birincil nedeni, miyelin debrislerinin atılmasındaki gecikme olabilir. Lezyon bölgesindeki inhibitor çevre ve skar dokusu da rejenerasyonu engellemektedir. Radyolojik incelemeler omuriliği hasar alan kişilerde dejenerasyonun aylarca sürebileceğini göstermiştir [65].



Şekil 3.4 Kesik ve ezik çevresel sinirlerdeki Wallerian dejenerasyonunun cerrahi mikroskop ile 100 kat büyütülmüş şekli [64]. Sol kolonlar, hasarın proksimal bölümü, sağ ise distal bölümüdür. A ve B: kesikten 37 saat sonrası. C ve D: ezikten 40 saat sonrası. E ve F: kesikten 42 saat sonrası. G ve H: ezikten 44 saat sonrası

Fonksiyonel bağlantıların oluşumu için doku iskelesinin iç yapısının mikrokanallı olması gerekir. Aksonların bu kanallar içinde uzayıp doğru sinaptik bağlantılar kurması olasıdır. In vitro çalışmalar mikrokanalın optimal boyutlarının minimum 2 µm derinlikte olması gerektiğini göstermiştir [66]. Fonksiyonel onarımdaki bir diğer sorun aksonların doku iskelesinden dışarıya doğru geçememeleridir. Doku iskelesi ile konak arayüzeyi sebebiyle oluşan bu olay aksonların hedeflerine ulaşamamalarına neden olmaktadır. Doku iskelesinin yüzey morfolojisi mümkün olduğunca konağa benzerse sorun minimuma indirilmiş olur. Ayrıca nörotrofik faktörlerin varlığı da aksonlara hedeflerine doğru doğru oryantasyonda uzamaları için avantaj sağlayacaktır.



Şekil 3.5 Yönlendirilmiş aksonal büyüme [66]. PC-12 hücrelerinin (A) kollajen tip 1 kaplı PLGA film ve (B) laminin peptid kaplı PLGA üzerinde büyümeleri

3.4 Elektroiletken Doku İskeleleri

Nöronlar arasındaki bilgi akışı çevrelerinde meydana gelen elektriksel değişimlerle sağlanır. Bu olaya aksiyon potansiyeli denir. Nöron üzerindeki elektrik iletimi, hücre membranının mevcut voltajının membran üzerindeki iyon kanallarının açılıp kapanması ve membran çevresindeki iyonların değişimi ile sağlanır. Na⁺-K⁺ pompası olarak bilinen bu değişim hücre zarının depolarize ve repolarize olmasına ve elektrik uyarımının tek bir yönde gerçekleşmesine neden olur [33]. Nöral hücrelerin elektrik iletimi nöral doku

mühendisliği için yeni biyomalzelerin araştırılmasına yol açmıştır. Bu malzemeler doku iskelesi aracılığıyla hücrelere elektrik akımı iletebilme yeteneği olan malzemelerdir. Bu alanda en çok araştırılan malzemeler iletken polimerler ve karbon bazlı yapılar.

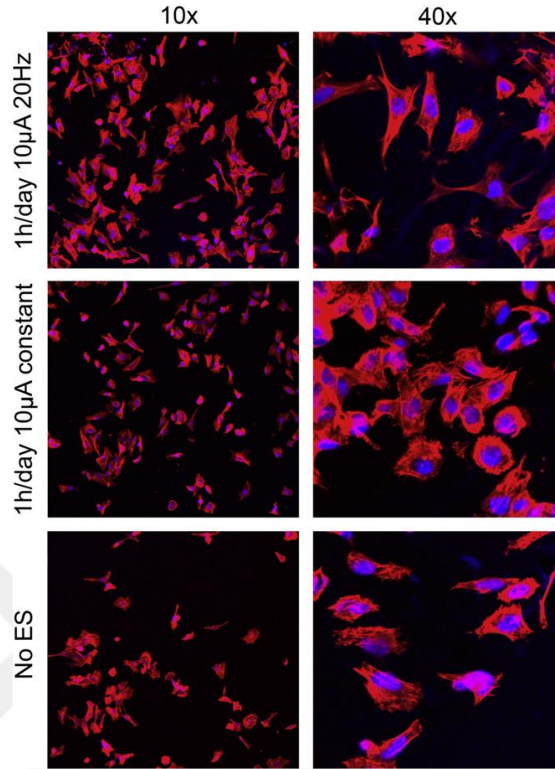
Ana zincirinde (polimer omurgası) gevşek elektronlar bulunduran polimerler sıklıkla iletken olarak sayılır. Omurga boyunca her bir atom sigma (σ) bağından daha zayıf olan pi (π) bağı içerir. Bu bağ sayesinde konjuge bir omurga elde edilir. Doping olarak bilinen proses sayesinde nötral polimerler pozitif ya da negative yüklü hale gelmek için yükseltgenebilir ve indirgenebilir [67]. Doping prosesi olmadan polimerler iletken özellik göstermezler. Doku mühendisliğinde en çok kullanılan iletken polimerler polipirol, poli(3-4-etilen dioksitiyofen) ve polianilindir. Elektrik iletkenliği olan polimerlerle ilgili en büyük zorluk bunların proses edilmelerinin zor olması ve vücut içerisinde bozunma yeteneklerinin olmamasıdır [68]. Bu sorunları aşmak için genellikle farklı polimerlerle blend edilirler.

Çizelge 3.1 İletken polimerler [69]

İletken polimerler	Maksimum İletkenlik (Siemens/cm)
Poliasetilen (PA)	200-1000
Poliparafenilen (PPP)	500
Poli(fenilen sülfid) (PPS)	3-300
Polivinilen (PPv)	1-1000
Polipirol (PPy)	40-200
Politiyofen (PT)	10-100
Poli(izotiyonaften) (PITN)	1-50
Polianilin (PANI)	5

Elektrik uyarımı hücrelerin bölünme, çoğalma, göç, farklılaşma, uzama ve protein ekspresyonu gibi davranışlarını etkilemektedir. İletken polimerlerden elde edilen doku iskelelerinin uyarımın gönderilmesi için çok etkilidirler. Doku iskelesi aracılığıyla elektrik uyarımı sağlanması çoğunlukla sinir hücrelerinin nöritlerindeki büyüme ile gösterilmiştir. PPy-PLGA, PPy-PDLLA, PLLA-PANI ve PANI-PG ile yapılan doku iskeleleri hem nörit sayısı hem nörit uzunluğunda başarılı sonuçlar vermiştir [70]. Uygulanan elektrik alanın kültürlenmiş nöronlarının nöritlerinin (dendrit ve akson) boyunu ve yönünü etkilediği gösterilmiştir. Benzer şekilde Moroder vd. [71] yaptığı çalışmada polikaprolakton-fumarat/polipirol nanokompozit doku iskelesi kullanılmış ve elektrik uygulandığında

hem akson taşıyan hücre sayısında hem de akson uzunluğunda artış gözlenmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 48 saatlik farklı elektrik uyarım rejimleri uygulandıktan sonra PC12 hücrelerinin 10x ve 40x büyütme oranında floresans mikroskopi görüntüleri [71]

Elektrik uyarımının sinirler üzerindeki etkisini açıklayan çeşitli teoriler bulunmaktadır. Bunlar; sitoplazmik malzemelerin dağılımının değişmesi, hücre membrane potansiyelindeki değişim nedeniyle membrane üzerindeki büyüme-kontrol transportunun aktivasyonu ve nörit uzaması ya da hücre-substratum adezyonundan sorumlu yüzey moleküllerinin elektroforetik birikimidir [68]. Büyüyen fiber uçlarının çevresindeki iyonik akımdaki değişimde bu teorilerden biridir. Ayrıca elektrik akımının protein sentezini, NGF'nin gen ekspresyonunu ve fibronektin adsorbsiyonunu artırarak rejenerasyonu etkilediği düşünülmektedir [68].

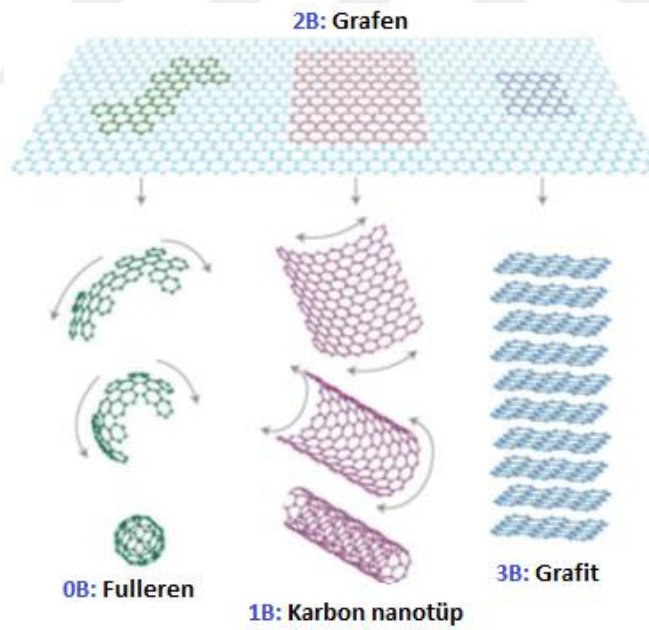
Elektrik uyarımı hem in vitro hem in vivo gerçekleştirilebilecek kolay bir yöntemdir. Sinir hücresi gibi uyarılabilir hücrelerin davranışları iki dış elektrot yardımıyla modifiye edilebilir [72]. Yüzey elektrotları klinik uygulamalar için kullanılmaktadır. Bunlar çoğunlukla gümüşten yapılmış olsa da altın ve platin elektrotlarda vardır. Uyarımın genliği önemli bir parametredir. Hücre zarının depolarize olması için gereken bir eşik

vardır. Bu eşik aşılmadığı sũrece hũcre uyarılamaz. Literatũrde hem elektrik alanın hem elektrik akımının hũcre davranışının modũlasyonunda etkili olduğu belirtilmiştir. Birkaç rapor direk elektrik alanın, direk elektrik akımından daha etkili olduğunu gũstermektedir [73]. Bazı hũcre tipleri elektrik alan uygulanmasına dikey oryantasyonla cevap vermektedir. Mekanizma tam anlaşılamamış olsa da yũklũ hũcrelerin yũzey reseptũrlerinin asimetrik yeniden-dağılımı etkili olabilir. Darbeli elektromanyetik alan formundaki elektrik uyarımı da doku mũhendisliđinde kullanılabilir. Darbeli elektromanyetik alan tedavisi gũnũmũzde yara iyileşmesinin desteklenmesinde, kronik ağrının azaltılmasında, Parkinson gibi hastalıkların tedavisinde ve sinir rejenerasyonunda kullanılmaktadır [68].



4.1 Grafenin Yapısı

Grafen, sp^2 hibritleşmesi yapmış karbon atomlarının tek bir tabaka halinde, iki boyutlu kafes yapısı şeklinde düzenlenmesiyle oluşan malzemedir. Bal peteği örgüsü şeklinde, karbon allotroplarından biridir.



Şekil 4.1 Grafen ve türevlerinin yapısı [74]

Grafen karbonun diğer allotropları olan grafit, nanotüp ve fullerenden (C₆₀) oldukça farklı özellik göstermektedir. Olağanüstü termal, mekanik ve elektriksel özellikler sergiler [75]. İdeal grafen yapısı tek tabakalı olmalıdır (Şekil 4.1). Fakat birkaç tabakaya sahip

yapılar da eşit öneme sahiptir. Daha önce varlığı bilinse de, grafen ancak 2004 yılında sentezlenebilmiştir. 2010 Nobel Fizik Ödülü, "iki-boyutlu grafen malzemesine ilişkin çığır açan deneyleri için" Manchester Üniversitesi'nden Andre Geim ve Konstantin Novoselov'a verilmiştir. Keşfedildiği tarihten beri grafenle ilgili yayın sayısı her yıl katlanarak artmaktadır.

Çizelge 4.1 Tek tabakalı grafenin özellikleri [76]

Özellikler	Değer
Hibrit şekli	sp^2
Tabaka sayısı	Tek tabakalı
Kristal yapısı	Hegzagonal
Boyut	İki
Safılık derecesi	(%) 99
Kütlesel (bulk) yoğunluk (g/cm^3)	~ 0.3
Gerçek yoğunluk (g/cm^3)	2.25
Kalınlık (nm)	$\sim 1-2$
Yüzey alanı (m^2/g)	2600
Yüksek sıcaklık direnci	-75 +200 °C
Termal iletkenliği (WK^{-1}/m)	4840-5300
Elektron hareketliliği $cm^2/(V.s)$	$\sim 2.5 \times 10^5$
Elastisite modülü (TPa)	~ 1

Grafen doğadaki iki boyutlu tek malzeme örneğidir. Elektronların grafen içindeki hızları, teknolojiye çokça kullanılan silisyumla karşılaştırıldığında 100 kez daha hızlı olduğu tespit edilmiştir [76]. Grafen bilinen en ince malzemedir ve güçlü karbon bağları grafeni bilinen en güçlü malzeme yapmaktadır. Grafenin elastisite modülü, çelikten yaklaşık 100 kat daha fazla olup, ısıyı iyi iletmediği düşünülen diğer bir karbon allotropu olan elmadan daha iyi bir ısıl iletkenidir [76]. Ayrıca grafen esnek olduğundan farklı formlardaki malzemelerin yüzeyine kolayca kaplanabilmektedir. Bu üstün özellikleri nedeniyle grafen yirmi birinci yüzyılın muhteşem malzemesi olarak görülmektedir.

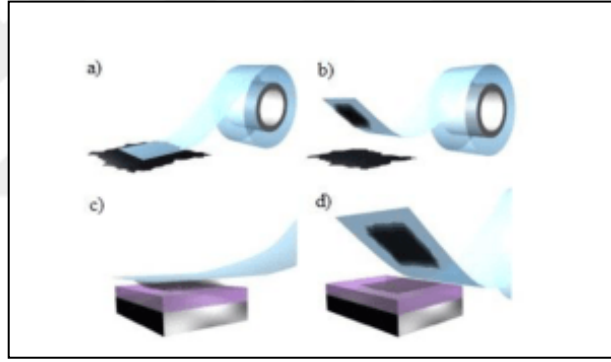
4.2 Grafenin Sentezi

Literatürde grafen sentezi ile ilgili önerilen yöntemler elde edilmek istenilen tabaka sayısına bağlı olarak değişmektedir. Bugüne kadar grafen hakkındaki çoğu araştırma mikromekanik ayrıştırma, grafit oksitin kimyasal indirgenmesi, grafitin sıvı faz ayrılması, epitaksiyel büyüme ve grafit oksitin kimyasal ya da termal dağılması gibi yöntemleri de

içine alan tek grafen tabakasının üretimi için etkili sentez teknikleri geliştirme üzerine odaklanmıştır. Belirtilen üretim yöntemleri arasında grafitin oksitleyicilerle etkileştirilmesiyle üretilen grafit oksitin kimyasal ya da termal indirgenmesi en popüler yöntemlerden biri olarak düşünülmektedir. Bu yöntem bir veya birkaç grafen tabakasının üretilmesinde de başarılıdır.

4.2.1 Katman Ayırma

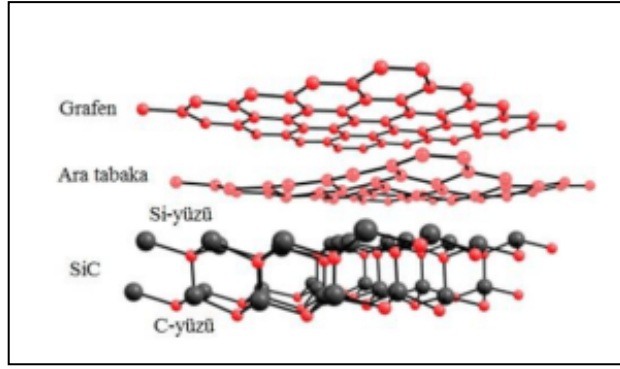
Eksfoliasyon da denen bu yöntemde grafit tabakaları arasındaki zayıf bağlar mekanik yöntemlerle kırılır [77]. Ayırma işlemi birkaç kez tekrar edilerek daha ince tabakalı yapılar elde edilebilir. Bu yöntemle büyük miktarlarda üretim yapılamaz. 100 µm büyüklükte grafen parçacıkları bu metot ile sentezlenebilmektedir. Mikromekanik ayrıştırmada başlangıçta yüksek kaliteli tek kristal grafit kaynağı kullanılırsa elde edilen grafenin elektriksel ve yapısal kalitesi en yüksek olmaktadır.



Şekil 4.2 Katman ayırma yöntemi ile grafen sentezi [78]

4.2.2 Epitaksiyel Büyütme

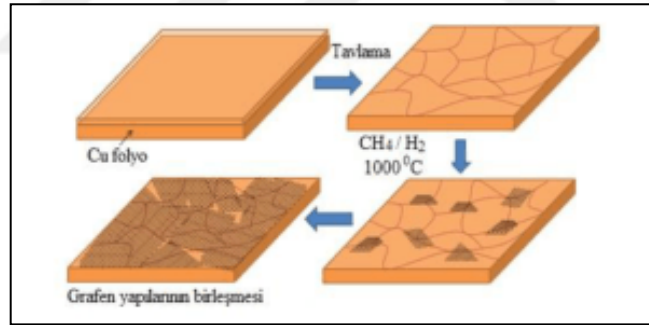
Bu yöntemde grafen tabakaları SiC tabakası üzerinde büyütülür. 1150-200 °C arasındaki sıcaklıklarda SiC'deki silisyum atomları süblimleşir ve geride kalan karbon atomları epitaksiyel bir tabaka oluşturur [77]. Ancak burada birkaç tabaka oluşuktan sonra Si atomları ortamdaki uzaklaşamayacağından saflık oranı yüksek değildir.



Şekil 4.3 Epitaksiyel büyütme yöntemi ile grafen sentezi [78]

4.2.3 Kimyasal Buhar Biriktirme

Kimyasal buhar biriktirme (CVD) tekniği geçiş metalleri üzerinde karbon atomlarının birikerek grafen tabakalarını oluşturmasına dayanır [79]. Bu teknik ile tek tabaka grafit veya grafen birçok metal yüzeyler üzerinde büyütülmektedir. Daha sonra grafen tabakası ayırıcı bir ajan yardımıyla alınır. CVD yönteminde en çok tercih edilen metal Cu'dur. Cu aşındırılması kolay, ucuz ve grafen ile etkileşiminin fiziksel düzeyde olduğu bir metaldir. Karbon kaynağı olarak genelde metan kullanılır.



Şekil 4.4 CVD yöntemi ile grafen sentezi [78]

4.2.4 Kimyasal Ayrıştırma

Bu teknikle grafen büyük miktarlarda üretilebilir. Grafitin asitlerle oksitlenerek tabakalarının ayrıştırılması işlemidir. Elde edilen malzeme yalıtkan olan grafen oksittir. Grafen oksitin (GO) yapısındaki oksitler termal ya da kimyasal proseslerle uzaklaştırılarak (indirgenerek) iletken hale getirilir. 1958'de Hummer potasyum permanganat ve derişik sülfirik asit ile grafiti oksitleyerek bugün de yaygın olarak kullanılan metodu bulmuştur [80].

GO, oksijen içeren çeşitli fonksiyonel gruplara (karboksil, hidroksil, epoksi) sahiptir. Yapı içerisinde bulunan bu oksijenli gruplar, grafen oksit farklı moleküllerle fonksiyonlandırılmasına olanak sağlar. Farklı laboratuvarlarda farklı yöntemlerle elde edilebilmesi ve karakterizasyonu için tek bir analitik yöntemin bulunmaması bugün grafen oksidin kesin moleküler yapısını anlamamızı engeller. Yapısı hakkında tartışmalar olmasına rağmen, karboksil gruplarının bazal düzlemin kenarlarında, hidroksil ve epoksi gruplarının ise bazal düzlemin içinde yer aldığı üzerine uzlaşma sağlanmış gibi görünmektedir [81].

4.3 Nöral Doku Mühendisliğinde Kullanımı

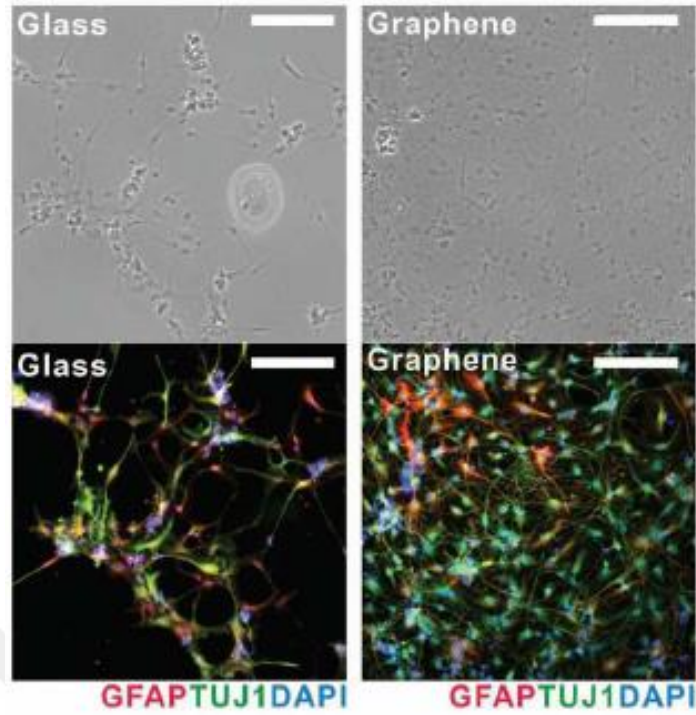
Grafen bazlı nanomalzemelerin ilaç taşınımı, biyosensör ve kanser gibi uygulamalarında kayda değer gelişmeler olsa da doku mühendisliğinde kullanımı yeni ama umut vadeden bir araştırma alanıdır. Grafen bazlı nanomalzemeler biyoyumlu, 2B ve 3B morfolojiye, kararlı fizikokimyasal yapıya, esnekliğe ve in vivo degradasyona sahip olduğundan kök hücrelerin belirli hücre hatlarına farklılaşmasında en iyi aday olarak görülmektedir. Tedavisi bugüne kadar mümkün olmayan omurilik hasarı, beyin travması, Alzheimer ve Parkinson gib hastalıkların nöral kök hücreler ve nöral farklılaşma ile çözümü büyük ilgi görmektedir.

CVD bazlı grafen yüksek elektrik iletkenliği ve sıradışı mekanik özellikleri nedeniyle doku mühendisliği uygulamalarında ilk olarak dikkati çekmektedir. Diğer taraftan, kimyasal ekfoliasyonla kolay ve çok miktarda grafen oksit elde etmek mümkündür. GO üzerindeki fonksiyonel gruplar nedeniyle, hücre tutunması ve büyümesi için daha etkili olduğu düşünülen hidrofilik yapıdadır. Ayrıca yüzey kimyası spesifik grupların bağlanmasına olanak sağladığından hücre farklılaşmasında önemli rol oynayabilir. Yapılan çalışmalar grafenin tutunma, büyüme, farklılaşma ve çoğalma gibi hücre davranışlarını etkileyebildiğini; en azından aromatik yapısı nedeniyle kollajen, laminin ve fibronektin gibi ECM üyelerinin lokal konsantrasyonunu artırdığını göstermiştir [82]. Ayrıca GO ve indirgenmiş GO üzerindeki defektler hücre tutunması, farklılaşması ve çoğalmasında aktif bölge gibi davranabilir.

Memeli canlılardan türetilmiş hücreler ile yapılan birçok çalışmada grafenlerin hücre büyümesi ve farklılaşması için uygun platformlar olduğu kanıtlanmıştır. Park vd. [83]

insan nöral kök hücrelerinin (NSC) glial hücrelerinden ziyade nöronlara farklılaşmasında grafenin etkili olduğunu göstermiştir . Biyokimyasal motiflerin ya da ko-kültürlemenin olmayışı daha fazla glial hücreye dönüşüme sebep olabilmektedir. Ancak nöral rejenerasyonda glial hücreden ziyade nörona farklılaşması istenir. Bu nedenle grafenin istenen hücre tipine indüklemeye kullanılacak ajanlardan biri olduğu düşünülmektedir. Li vd. [84] 2B grafen platform üzerinde fare hipokampal hücrelerinin gelişimini ve nörit filizlenmesini incelediler. Amaçları fare hipokampal kültürünün gelişimi süresinde, grafenin nöritleri nasıl etkilediğini görmektir. Grafenin nörit sayısını ve uzunluğunu, doku kültürü polistrene kıyasla artırdığını buldular. Ayrıca büyümeden sorumlu protein-43'ün ekspresyonunda da grafen ile birlikte artış gözlemlenmiştir. Nörit gelişimine bu faktör sebep olmuş olabilir.

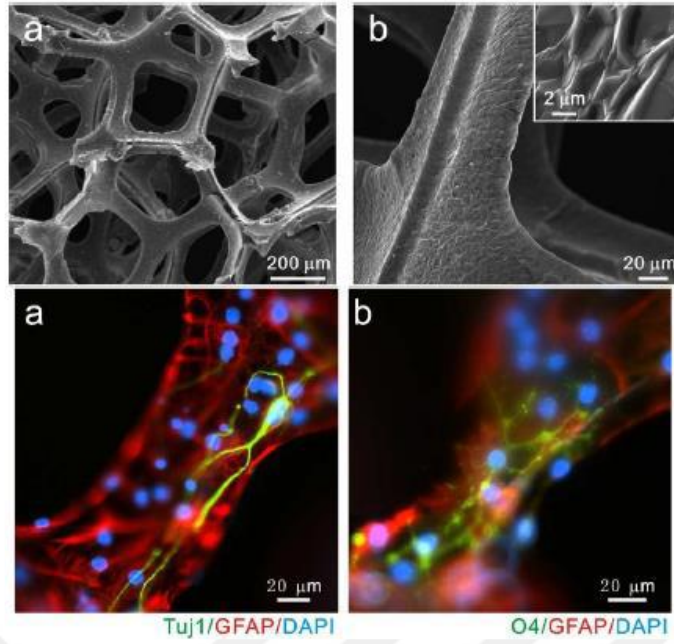
İnsan NCS'nin kullanımındaki en önemli engellerden biri bu hücrelerin beyin dokusunun derin kısımlarında bulunmasından dolayı zor ulaşılabilir olmasıdır. Bu yüzden kemik ya da yağ kökenli mezenkimal kök hücreler (MSC) önerilmektedir. Bu hücreler kullanışlı, güvenilir ve hastayı minimal rahatsız edecek şekilde ulaşılabilir olduğundan kök hücre bazlı nöral rejenerasyonda uygun adaylar olabilir. Ancak ektodermalden mezodermal hücre hattına dönüşümünü gerektirdiğinden prosesi zordur. Yine de, Kim vd. [85] MSC'yi grafen üzerinde fonksiyonel nöronlara dönüştürmeyi başarmışlar. Grafen kaplı cam üzerinde büyüyen MSC'ler Nestin, Tuj1 ve Map2 gibi önemli nöral hücre markerlerini, nöral indükleyiciye gerek kalmadan da yüksek oranda eksprese etmişlerdir.



Şekil 4.5 Farklılaşan hNSC'lerin cam (solda) ve 2B grafen platform (sağda) üzerinde farklılaşmadan 30 gün sonraki parlak alan (üstte) ve floresans (altta) görüntüsü [83].

Mavi hücre çekirdeğini, yeşil nöral hücreleri ve kırmızı astroglial hücreleri göstermektedir

3B gözenekli doku iskelesi doğal ECM'e benzemesi nedeniyle nöral doku mühendisliğinde ön plana çıkmaktadır. Li vd. [86] yaptığı çalışmada 3B grafen doku iskelesinin, 2B grafene göre NSC'in çoğalmasını daha fazla desteklediğini göstermiştir. Fenotipik analizler NSC'in astrosit ve özellikle nörona farklılaştığını ortaya koymuştur. Çalışmada ayrıca 20-30 μ A arasındaki eşik değerinde 10 saniye aralıklarla elektrik akımı verilmiştir. Böylece platformun elektrik uyarımına aracılık etmede iyi bir iletken olduğu da gösterilmiştir.



Şekil 4.6 Üstte 3B grafen doku iskelesinin düşük (a) ve yüksek (b) büyütme oranlarında SEM görüntüsü [86]. Altta (a, b) doku iskelesi üzerinde farklılaşan nöral kök hücrelerin floresan görüntüsü: yeşil (a) nöronları, kırmızı (a, b) astrositleri, yeşil (b) oligodendrositleri, mavi (a, b) çekirdeği göstermektedir

Elektrik alan uyarımı çeşitli nörolojik hastalıkların tedavisinde en umut verici yöntem olarak bilinmektedir. Bu sayede nöral dokular için önemli olan kök hücrelerin bölünme, göç ve farklılaşma gibi fizyolojik aktiviteleri kontrol edilebilir. Elektrottan nörona gönderilecek uygun voltaj atım uyarımının hücredeki kalsiyum iyon kanallarını açabileceği ve nörondaki kalsiyum iyon konsantrasyonunu artırabileceği bilinmektedir. Böylece NSC'deki kalsiyum sinyal yolağıyla ilgi genler $-Na^+/Ca^{+2}$ değiştiricisi ve grafen-protein çifti reseptörü gibi- upregüle edilebilir [83]. Elektrik uyarımının dışında, kimyasal uyarım da hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunu artırabilmektedir. Grafen film üzerinde NSC'in farklılaşmasına K^+ uyarımının etkisini inceleyen araştırmacılar, yüksek K^+ seviyesine bağlı olarak hücre içi Ca^{+2} değişimi sonucuna ulaşmışlardır [87]. Ayrıca çalışma kimyasal uyarımın transkripsiyon faktörlerinin konsantrasyonunu artırabileceğini de ortaya koymuştur. Kök hücrelerin doku iskelesi üzerindeki davranışlarını etkileyen diğer faktörler yüzey kimyası ve yüzey morfolojisidir. Grafen bazlı doku iskelesi üretiminde yüzeyin fonksiyonelleştirilmesi ya da yüzey morfolojisinin değiştirilmesinin, daha fazla sayıda kök hücrenin nöral hücrelere dönüşümü tetiklediği kanıtlanmıştır. Bu bağlamda kompozit malzemeler daha ön plandadır. Grafenin farklı malzemelerle –özellikle

polimerler- birleştirilmesi, malzeme oranlarının değişimi ile doku iskelesinin özellikleri değiştirilebileceğinden avantajlıdır.

4.4 Grafenin Biyogüvenliği

Grafen üzerinde hücre gelişimi ile ilgili neredeyse tüm çalışmalar hücre çoğalmasında, farklılaşmasında ve hücrelerin gözlemlenebilmesinde grafenin uygun bir platform olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, grafenin boyut ve konsantrasyonuna bağlı olarak kök hücre, bakteri, spermatozoa ve hayvanlara karşı sito- ve genotoksosite oluşturabileceğiyle ilgili bazı raporlar bulunmaktadır [82]. Küçük boyutlar (özellikle nano boyutta) ve yüksek konsantrasyonlar (>100 µg/mL) hücre ölümü, DNA fragmentasyonu, kromozomal anomali, hayvanlarda hormon salgılamada değişim gibi ciddi toksisitelere yol açabilir. Grafenin toksisitesini açıklayan üç mekanizma öne sürülmüştür; i) grafenin aşırı keskin uçlarının hücrelerle direk teması (hücre membranına hatta çekirdeğe fiziksel hasar verebilir), ii) reaktif oksijen türü üretimi, iii) hücrelerin süspansiyondaki grafen agregatların tarafından sarılması [88]. Substrat üzerine yerleştirilen grafen üzerinde hücre gelişimi esnasında in vitro şartlarda direk temas ve sarılma mekanizmaları geçerli olamaz. Reaktif oksijen türleri ise kültür ortamına eklenen bazı bileşenlerle kontrol edilebilir. Ancak grafen bazlı doku iskelesinin biyodegrade olması istendiğinden vücut içerisinde bu mekanizmalar geçerli olabilir. Kan dolaşımındaki grafenin renal boşaltım ile etkili bir şekilde vücuttan uzaklaştırılabildiği gösterilmiştir. Bu nedenle kan dolaşımındaki grafen tabakalarının diğer organlara alımı da mümkündür. Bu bağlamda yüksek doz grafenin, ratların üreme fonksiyonları üzerine etkisini gösteren çalışmalar yapılmıştır. Sonuçlar erkek farelerde spermatozoanın hareketliliğinde ve canlılığında % 45; dişi farelerde gebelik fonksiyonlarında % 60 azalma olduğunu göstermiştir [89]. Bu sonuçlar 2000 µg/mL konsantrasyonda alınan değerlerdir. Buradan yola çıkarak grafenin biyoyumlu olduğunu; ancak klinik uygulamalarda potansiyel riski azaltmak amacıyla muhtemel toksisite ve yan etkilerin detaylarını tamamen anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

5.1 Malzemeler

Çizelge 5.1 Malzeme listesi

Malzeme	Özellik	Marka
H ₂ SO ₄	% 98	Merck Millipore
H ₃ PO ₄	% 99	Merck Millipore
Grafit	mesh size 300	Graphene Supermarket
KMnO ₄	% 99.9	Merck Millipore
H ₂ O ₂	% 30	Sigma-Aldrich
HCl	% 35	Sigma-Aldrich
Etanol	% 99	Sigma-Aldrich

5.2 Grafen Oksit Sentezi

Doku iskelesinde kullanılan GO, modifiye edilmiş Hummer metodu ile sentezlendi. GO sentezi şu şekilde gerçekleştirildi; 9:1 oranında konsantre edilmiş sülfürik asit/fosforik asit karışımı (360:40 mL), sıcaklığı 55-60 °C olan yağ banyosu içine yerleştirilen behere koyuldu. İçerisine yavaşça grafit (3.0 g) ve potasyum permanganat (18.0 g) ilave edildi. Karışım, reaksiyonun gerçekleşmesi için 40-45 °C'de 16 saat süre ile karıştırıldı. Daha sonra karışım, oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 400 mL buz üzerine döküldü. İçerisine % 30'luk hidrojen peroksit (3 mL) ilave edildi. Yıkama sürecinde; reaksiyon hacmi 500 mL santrifüj tüplerine bölündü ve 3000 rpm'de 45 dakika santrifüj edildi. Yıkama işlemi önce distile su, sonra % 35'lik hidroklorik asit ve en son anhidroz etanol ile yapıldı. Yıkama ve

santrifüjleme işlemi üçer kez tekrarlandı. Sonuç olarak etanol çözeltisi içerisinde grafen oksit elde edildi.

5.3 Grafen Oksitin İndirgenmesi

Grafen oksit sentezlendikten sonra kimyasal ve termal olarak indirgenildi. Kimyasal indirgeme; distile su içerisindeki grafen oksit (3 mg/ml) ve hidrazin monohidrat (3 mg GO için 1 µl) karıştırıldı. Karışım 80 °C'de 12 saat karışıma bırakıldı. Son olarak çöktelti distile su ile yıkanarak gece boyunca fırında kurutuldu. Termal indirgeme için ise; GO çözeltisi 100 °C'de 1 saat etüvde tutuldu.

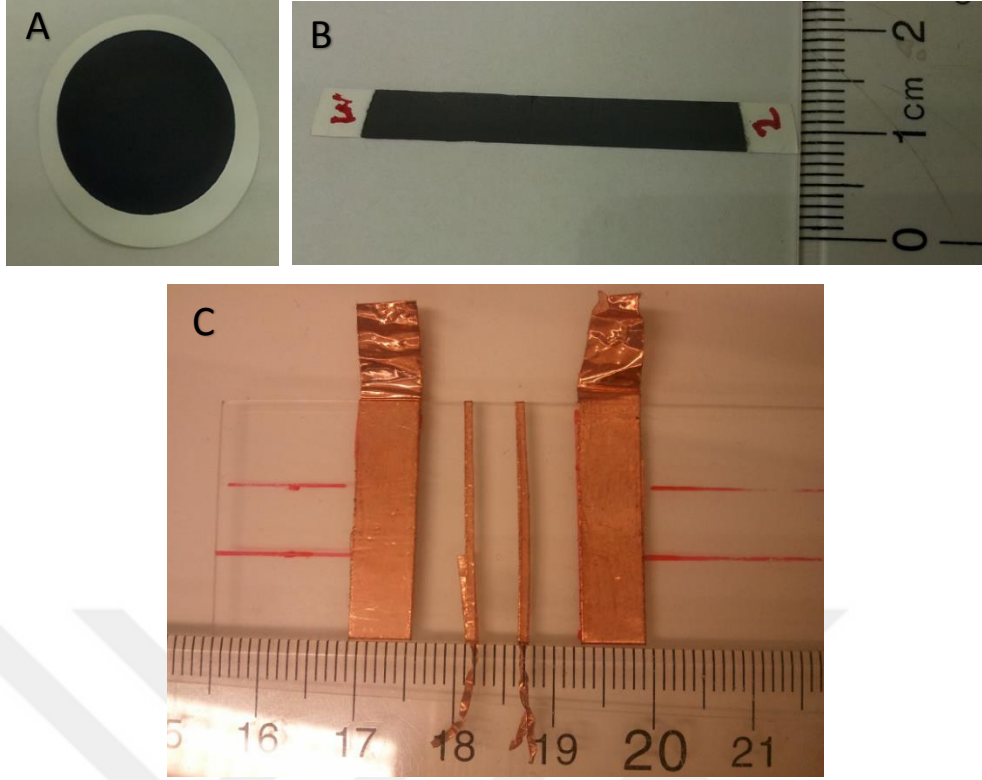
5.4 Elektriksel İletkenlik Analizi

Grafen oksit, elektriksel iletkenlik özelliklerinin incelenmesi için film yapıda hazırlandı. Bu aşamada vakum filtrasyon yöntemi kullanılarak grafen oksitin selüloz filtrasyon kağıdı (47 mm çap ve 0.2 µm por boyutu) üzerinde birikmesi sağlandı (Şekil 5.1). GO filmler oda sıcaklığında bir gece kurumaya bırakıldı.



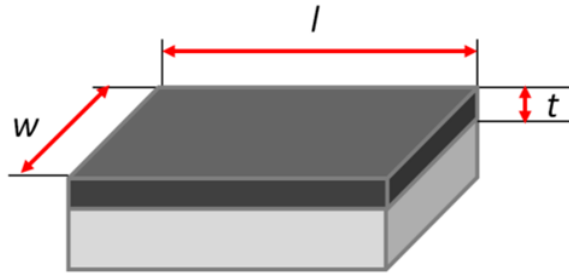
Şekil 5.1 Grafen oksitin vakum filtrasyon yöntemi ile eldesinin şematik gösterimi

Elde edilen filmler elektriksel analiz için şerit halinde (yaklaşık 6 mm) kesildi. Cam üzerine yerleştirildi. GO filmlerin elektriksel analizi dört noktalı prob (four probe) yöntemi kullanılarak yapıldı. Analiz için bakır banttan hazırlanan elektrotlar cam lamel üzerine yerleştirildi (Şekil 5.2). Akım dıştaki kalın bantlar arasında uygulandı; voltaj içteki ince bantlar arasında ölçüldü.



Şekil 5.2 Elektrik iletkenliğinin ölçümü için hazırlanan grafen oksit filmin (A) şerit halinde kesilmesi (B), cam üzerindeki bakır elektrotlar (C)

Film yapıda hazırlanan GO tek yönde direnç (R) değerleri okunarak; Denklem 5.1 ve 5.2 kullanılarak elektriksel iletkenlik değerleri hesaplandı.



Şekil 5.3 Direnç ve iletkenlik ölçümünde kullanılan GO filmin şematik gösterimi

$$\rho = \frac{R \cdot l}{w \cdot t} \quad (5.1)$$

ρ : Özdirenç

R : Örneğin direnci (Ω)

w : Örneğin genişliği

t : Örneğin kalınlığı

l : Örneğin uzunluğu

$$\sigma = \frac{1}{\rho} \quad (5.2)$$

σ : Elektriksel iletkenlik (Siemens/mm)

5.5 Doku İskelesi Eldesi

3 farklı konsantrasyonda doku iskelesi hazırlandı: 1 mg/mL, 2 mg/mL ve 5 mg/mL doku iskelesi için sırasıyla 1,517 mL, 3,03 mL ve 7,575 mL GO çözeltisi ayrı beherlere koyuldu. Beherler, GO çözeltisi içerisindeki etanolün uçması için 1 saat etüvde tutuldu (40 °C). Daha sonra beherlere 10 mL'ye kadar distile su ilave edildi. Karışım ultrasonik banyoda 1 saat karışıma bırakıldı. Karışımlar -80 °C'de donduruldu ve en son liyafilizatöre koyuldu. Elde edilen doku iskeleleri karakterize edildi.

5.6 Doku İskelesinin İndirgenmesi

Doku iskelelerinin indirgenmesi için biochar reaktörü kullanıldı. Reaktör, oksijensiz ortamda termokimyasal dönüşüm sağlamaktadır. Doku iskeleleri, 100 °C ve 200 °C'de azot atmosferinde 30 dakika süreyle reaktörde tutuldu. Daha sonra kendi halinde soğumaya bırakıldı. İndirgeme işlemi 1 mg/mL ve 2 mg/mL doku iskeleleri için yapıldı.

5.7 Karakterizasyon

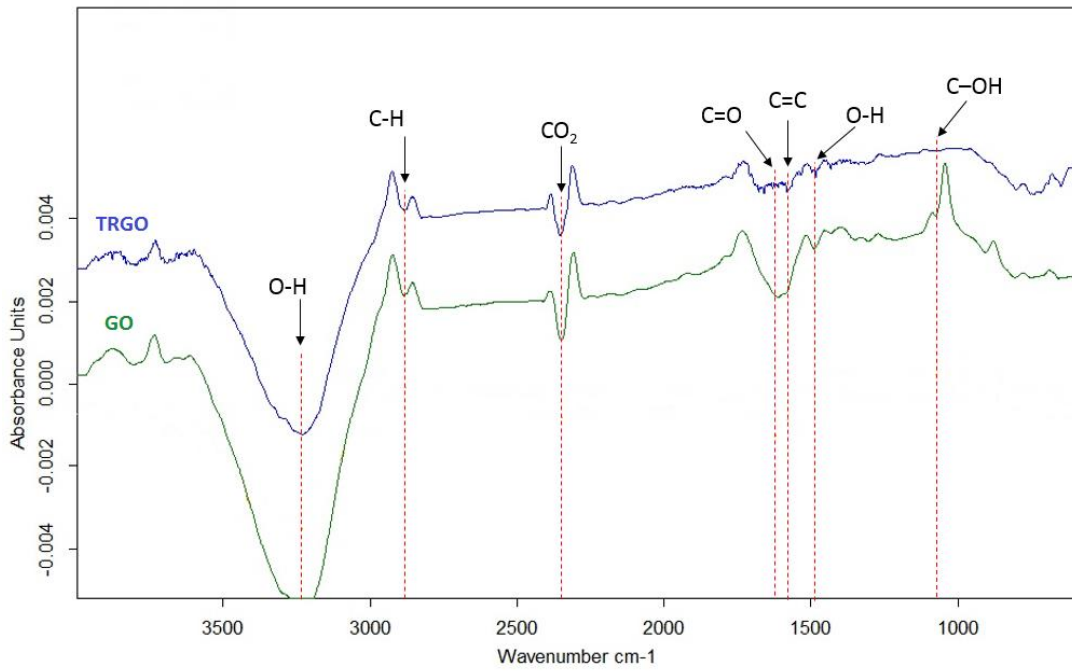
- GO kimyasal bağları ve fonksiyonel grupları Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre (Alpha FTIR Spectroscopy, Bruker, ABD) ile 375-7500 cm⁻¹ dalga boyunda belirlendi.

- Grafen tabakalarının yükseklik profili ve yüzey morfolojisinin gözlenmesi için Atomik Kuvvet Mikroskobu (Nanoscope III Atomic Force Microscope, Digital Instruments, Italy) kullanıldı.
- Grafen oksitin ve termal/kimyasal indirgenmiş çözeltilerinin absorbans değerleri UV Spektrofotometre (T-60 UV-Vis spectrometer, PG Instruments, UK) ile analiz edildi.
- Grafen oksitin ve termal/kimyasal indirgenmiş çözeltilerinin elementel analizi SEM-EDS (EVO LS 10, Zeiss, Almanya) cihazı ile yapıldı.
- Doku iskelesinin mikro yapısı Taramalı Elektron Mikroskobu (EVO LS 10, Zeiss, Almanya) ile örnekler altın kaplama yapılarak büyütme oranı x50-10000 aralığında görüntülendi.

DENEYSEL BULGULAR ve TARTIŞMA

6.1 Grafen Oksit Sentezi

6.1.1 FTIR

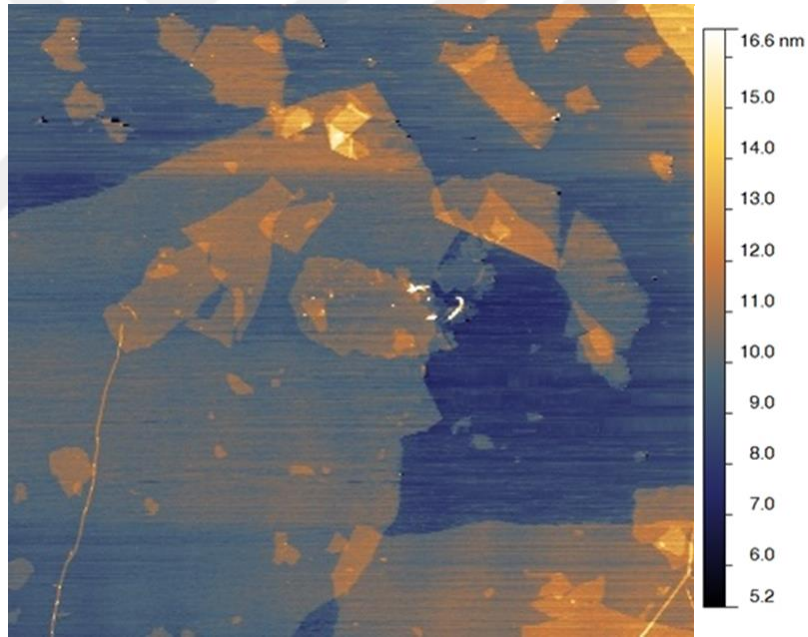


Şekil 6.1 Grafen oksitin FTIR görüntüsü

FTIR analizi GO üzerindeki fonksiyonel grupların gösterilmesinde kullanıldı. Şekildeki GO'nun FTIR spektrumu, GO'da adsorbe edilen OH gruplarının germe ve bükme titreşimine karşılık gelen yüksek frekans bölgesinde 3000 ila 3500 cm⁻¹ arasında geniş bir pik göstermektedir. Bu nedenle, numunenin güçlü hidrofiliteye sahip olduğu sonucuna

varılabilir. 2920 cm^{-1} ve 2850 cm^{-1} 'de absorpsiyon pikleri CH_2 'nin simetrik ve anti-simetrik germe titreşimlerini temsil eder. GO için, karakteristik karboksil $\text{C}=\text{O}$ piki 1730 cm^{-1} ' dir. Aromatik $\text{C}=\text{C}$ grubuna atfedilen 1630 cm^{-1} 'deki pik görülmektedir. Son olarak, 1200 cm^{-1} 'deki absorpsiyon piki karboksilik asidin $\text{C}-\text{O}$ 'nun gerilme titreşimine karşılık gelir. Bu oksijen içeren grupların varlığı, grafitin oksitlendiğini ortaya koymaktadır. Polar grupları, özellikle yüzey hidroksil grupları, grafit ve su molekülleri arasında hidrojen bağlarının oluşumuyla sonuçlanır; bu ayrıca grafit oksitinin hidrofilitik yapısını açıklar. Termal grafit oksite ait FTIR spektrumunda OH pikinin şiddetindeki azalma ve $\text{C}=\text{O}$ ve $\text{C}-\text{OH}$ piklerinin kaybolması oksijen içeren gruplardaki değişimi ve buna bağlı olarak grafit oksitinin indirgenmiş olduğunu ortaya koymaktadır.

6.1.2 AFM

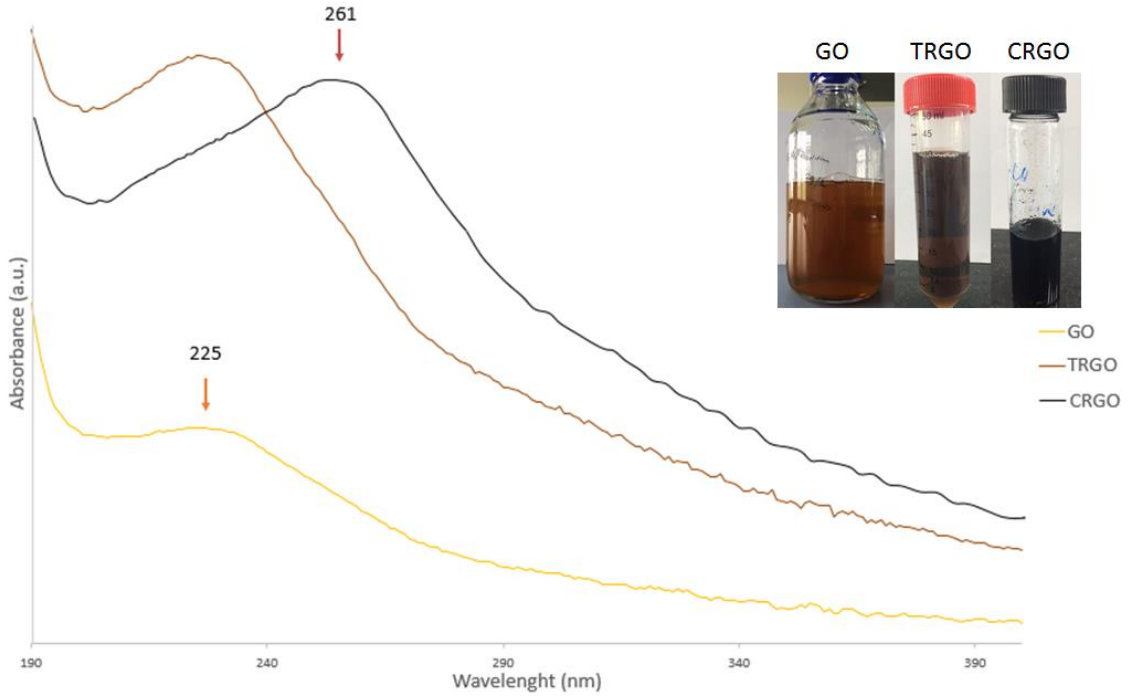


Şekil 6.2 Grafen oksitin AFM görüntüsü

Atomik kuvvet mikroskobu, tek tek grafit levhalarının yüzey morfolojisini ve yükseklik profillerini incelemek için kullanılan bir tekniktir ve AFM görüntüleri, grafitin başarılı bir şekilde fonksiyonelleştirildiğinin en önemli göstergesi olarak kabul edilmektedir. Şekilde gösterilen AFM görüntüsü, GO tabakalarının kalınlığının yaklaşık 2 nm olduğunu göstermektedir. Bu kalınlık değerinin, tek GO tabakalarının kenarlarında oksitlenmiş fonksiyonel grupların mevcudiyetine işaret ettiği belirtilmektedir. GO sonike edilirse

tabakaların kalınlığı azalmaktadır. Ancak sonikasyon GO tabakalarına zarar verebilir ve küçük parçalara ayrılmasına neden olabilir. Açık renkli (sarı) kısımlar tabakaların üst üste geldiğini göstermektedir. Bu nedenle heterojen bir dağılım söz konusudur.

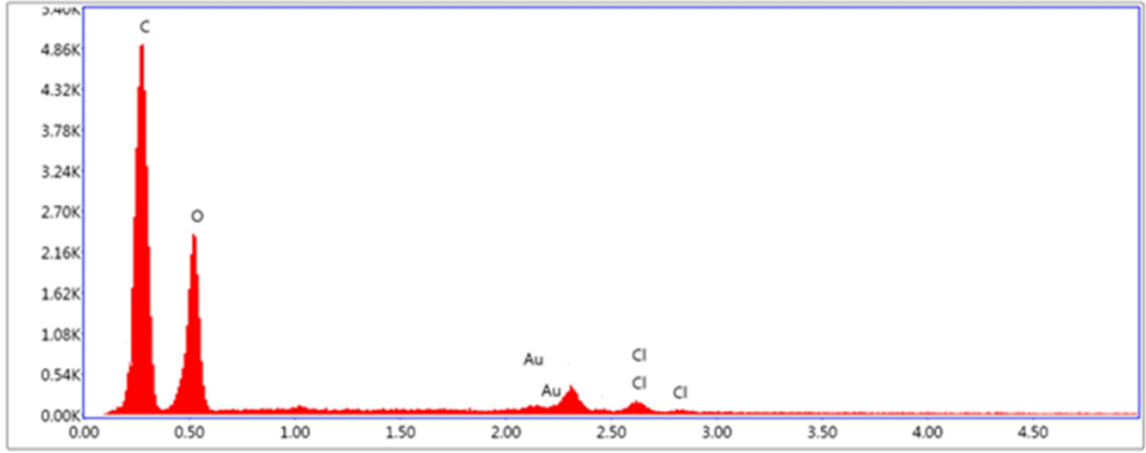
6.1.3 UV



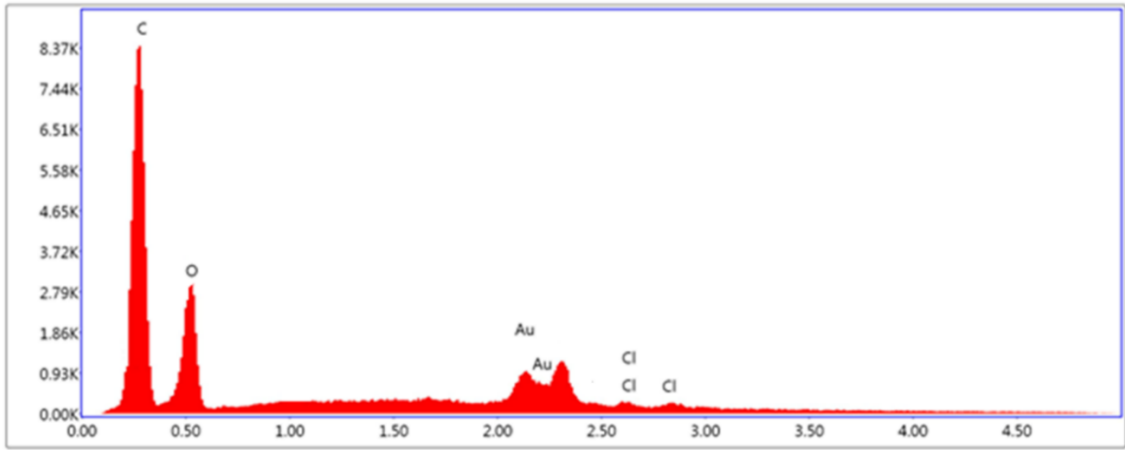
Şekil 6.3 Grafen oksitin UV spektrası

GO spektrumu, aromatik C-C bağlarının π - π geçişine tekabül eden yaklaşık 225 nm'de maksimum absorpsiyon piki verdiğini göstermektedir. Termal indirgemenin ardından grafen oksitinin 225 nm'deki piki 229 nm'ye, kimyasal indirgemenin ardından ise 261 nm'ye kaymıştır. Bu durum, karbon atomlarının sp^3 hibridize olan oksijen içeren grupların uzaklaştırılması ve sp^3 alanlarının azaltılmasıyla π -konjuge sp^2 alanlarının güçlendirilmesine atfedilebilir. Yani sp^2 hibridize karbon atomları restore olmuş ve elektron konsantrasyonu artmıştır. Grafen oksitlerin pik şiddetleri arasındaki fark konsantrasyon farklılığından kaynaklanmaktadır. UV karakterizasyonunda görülen pik şiddetini grafen oksitinin tabaka sayısı da etkilemektedir. Az tabakalı (1-3) GO tek bir pik gösterirken çok tabakalı (4-10) GO geniş bir pik (yamaç) göstermektedir. Kalın tabakalı (>10) GO'da pik ya da yamaç gözlemlenemez.

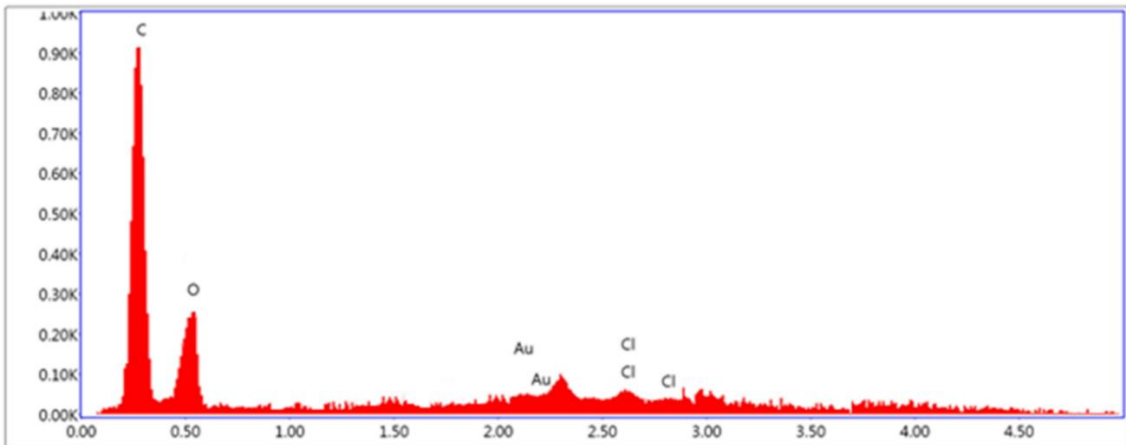
6.1.4 SEM-EDS



Şekil 6.4 Grafen oksitin elementel analiz grafiği



Şekil 6.5 Termal indirgenmiş grafen oksitin elementel analiz grafiği



Şekil 6.6 Kimyasal indirgenmiş grafen oksitin elementel analiz grafiği

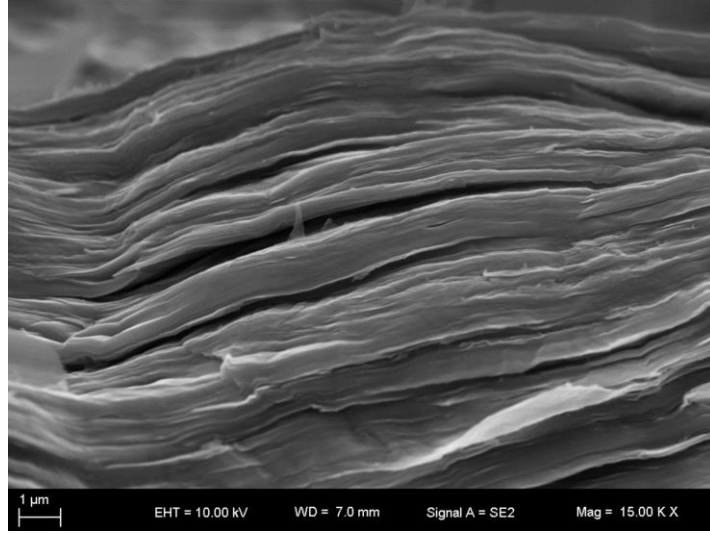
Çizelge 6.1 Grafen oksitin SEM-EDS sonucu

Element	Atom %		
	GO	TRGO	CRGO
C K	69,30	86,29	91,34
O K	24,70	9,06	3,27
Au M	4,70	3,80	4,13
Cl K	1,30	0,85	1,26
C/O	2,8	9,52	27,93

SEM-EDS grafen oksitlerin C/O oranının belirlenmesi için kullanıldı. Tablo 6.1’de, sentezlenen GO’nun elementel analiz sonuçları verilmiştir. Oksijenin varlığı, GO yapısı içerisinde fonksiyonel grupların oluştuğunu göstermektedir. Elementel analiz sonucu karbon ve oksijen oranı C/O oranı 2,8 literatür ile uyumlu sonuç vermiştir. Bu değerler modifiye Hummer yöntemi ile başarılı bir şekilde GO elde edildiğini göstermektedir. Grafen oksitin C/O oranının 9,52 ve 27,93 olması indirgeme işleminin başarıyla gerçekleştirildiğini kanıtlamaktadır. Beklenildiği gibi kimyasal indirgeme, termal indirgemenin daha etkili olmuştur. Grafikte ve çizelgede görülen Au analiz esnasında örneklerin altın ile kaplanması nedeniyle görünmektedir. Cl ise GO’nun hazırlanması esnasında HCl ile yıkama işleminden kalmış olabilir.

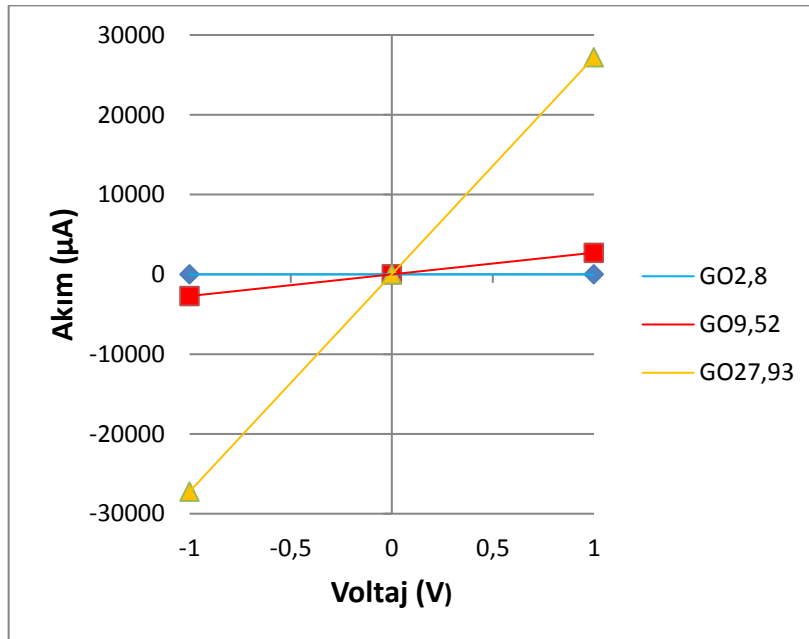
6.2 Elektriksel İletkenlik Analizi

Grafen oksitten elde edilecek doku iskelesinin elektrik iletkenliğinin belirlenmesi için grafen oksitin film formunda elektriksel analizi gerçekleştirildi. Buradan çıkarılan iletkenlik değeri üç boyutlu doku iskelesinin iletkenliği hakkında bilgi edinmemiz için yeterlidir.



Şekil 6.7 Film yapılı grafen oksitin SEM görüntüsü

Farklı C/O oranına sahip grafen oksitlerin elde edilebilmesi termal ve kimyasal indirgeme işlemleri gerçekleştirildi. Grafen oksit indirgenirken, oksijen içeren fonksiyonel grupların uzaklaşması tabakaların daha sıkı paketlenmesine izin verir. İç tabakaların uzaklığı yaklaşık 8,83 Å'dan 3,68 Å'a (tabakalar arası uzaklığı 3,34 Å olan grafitte çok yakın) kadar düşmektedir. Yukarıdaki SEM görüntüsünde de grafen tabakalarının sıkı bir şekilde paketlendiği görülmektedir. Gaz moleküllerinin oluşumu bu paketlemeyi bozmakta ve tabakaların düzenli sıralanmasını önlemektedir. Aralarda bulunan boşluklar gaz moleküllerinden kaynaklanabilir.



Şekil 6.8 Farklı C/O oranlarına sahip grafen oksitin akım-voltaj grafiği

Yukarıdaki grafikte farklı C/O oranlarına sahip grafen oksitlerin akım-voltaj değerleri verilmiştir. C/O oranı arttıkça GO'nun elektrik iletkenliği artmaktadır. Grafen oksitin elektrik iletkenliği oksidasyon derecesine bağlıdır. C/O oranı 2 olan grafen oksit iletken değildir. Genellikle bir mikro S/m'den daha düşük bir iletkenliğe sahiptir. Grafen oksiti, aromatik grafen yapısını kısmen restore ederek iletken hale getirmek için genelde 6'dan yüksek C/O oranına indirmek gerekir. Literatürdeki farklı çalışmalar bu değer 4'den yüksek olabileceğini de söylemektedir. Net bir sayının olmayışı çalışmalarda kullanılan grafen oksitlerin hazırlanmasında ve indirgenmesinde kullanılan deney şartlarının farklılığından kaynaklanabilir.

Çizelge 6.2 Farklı C/O oranlarına sahip grafen oksitlerin iletkenliği

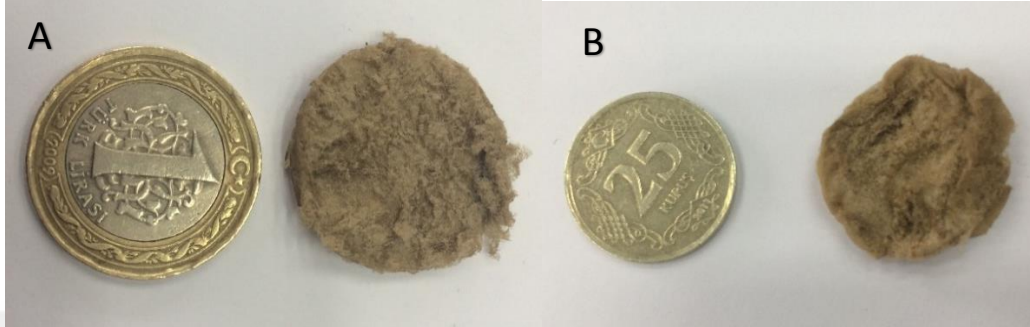
	GO _{2,8} (GO)	GO _{9,52} (TRGO)	GO _{27,93} (CRGO)
Volt (V)	Akım (µA)	Akım (µA)	Akım (µA)
-1	-0,09	-2716,00	-27226,00
0	0,00	0,00	0,00
1	0,09	2716,00	27226,00
İletkenlik (S/m)	0,0062	190,5	2831,65

Şekil 6.5'teki voltaj-akım grafiği ve Çizelge 6.2, farklı C/O oranına sahip grafen oksitlerin iletkenlik değerlerini göstermektedir. C/O oranı 2,8 beklendiği üzere 1 S/m'den daha düşük iletkenliğe sahiptir. Bu nedenle yalıtkan olduğu kanıtlanmaktadır. İndirgenme ile beraber grafen oksitinin C/O oranı artmıştır. Kimyasal indirgeme C/O oranını, 100 °C'de gerçekleştirilen termal indirgemeye göre yaklaşık 3 kat artırmıştır. Buna bağlı olarak iletkenliği yaklaşık 15 kat artmıştır.

Literatürde sinir sistemi elemanlarının iletkenliği ölçülen bölgeye ve ölçüm şartlarına bağlı olarak farklılık göstermektedir. Omurilik için iletkenlik değerleri; ak madde 0,60 S/m; gri madde 0,23 S/m; beyin-omurilik sıvısı 1,8 S/m; sert zar 0,03 S/m; omurlar arası disk 0,65 S/m; omurga 0,02 S/m ekstradural boşluk 0,20 S/m ve omurga kasları 0,20 S/m iletkenliğe sahiptir [90]. Dorsal kolonun (beyin) iletkenlik değeri 0,57 S/m [91] iken; siyatik sinirin (kalça) iletkenlik değeri 0,41 S/m [92] olarak ölçülmüştür. Buradan yola çıkarak C/O oranı 9,52 olan termal indirgenmiş grafen oksitinin omurilik hasarı için kullanılabilir doku iskelelerinde yeterli olacağı düşünülmektedir. Nöral dokuların

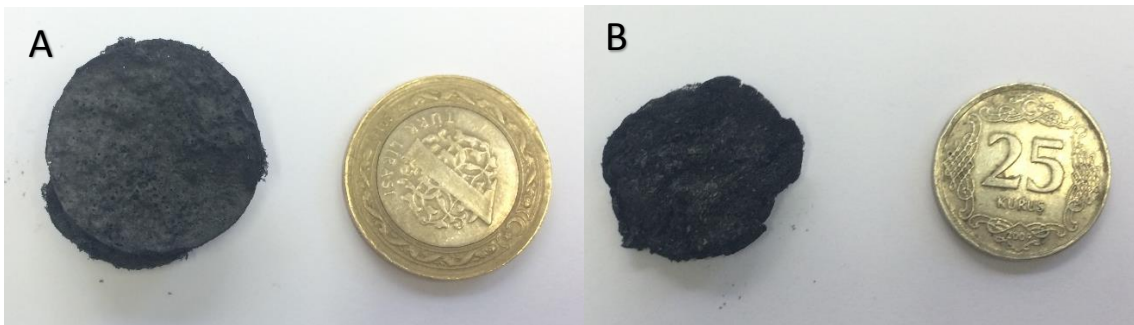
iletkenliği 100 °C'de indirgenen TRGO'nun iletkenliğinden daha düşük olduğundan termal indirgeme sıcaklığı daha düşük seviyede tutulabilir. Bu sayede C/O oranı 9'dan daha küçük bir değere, iletkenlik değeri de omuriliğinkine benzer değere çekilebilir.

6.3 Doku İskelesi Eldesi



Şekil 6.9 Doku iskelelerinin üstten görünüşü; (A) 2 mg/mL, (B) 1 mg/mL

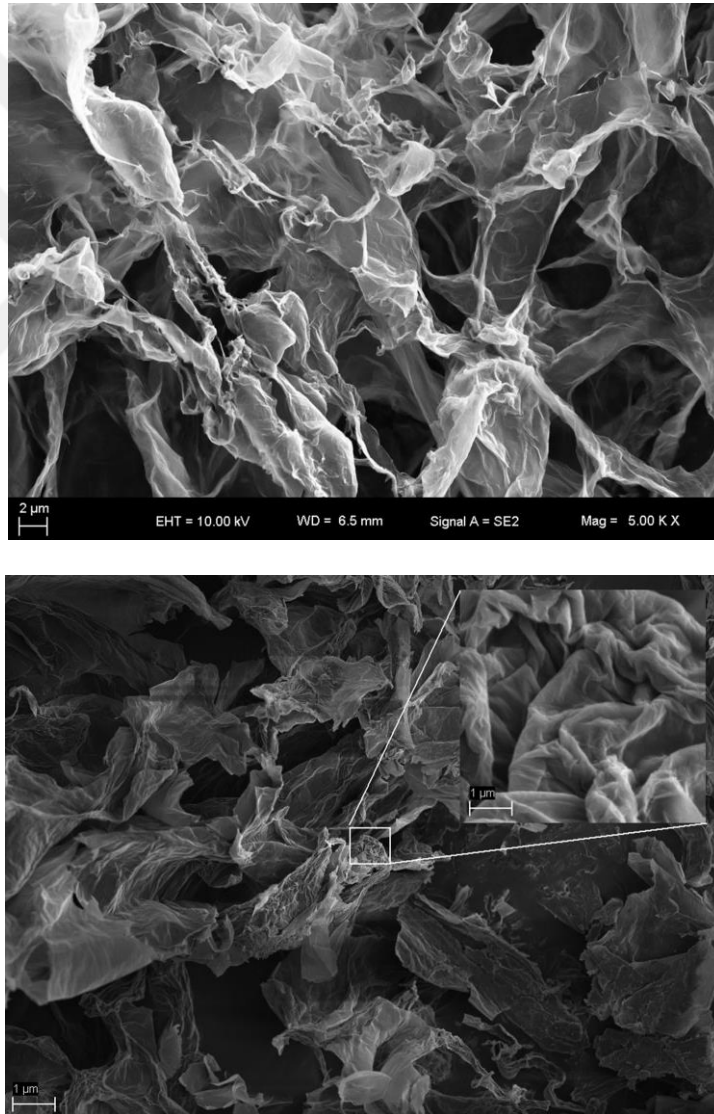
Doku iskelesi sadece iki örnekte başarılı bir şekilde oluşturuldu. 5 mg/mL süspansiyon, iyi sonike olmadığından eksfoliasyon tamamlanmadı ve doku iskelesi oluşumu gözlenmedi. İskele gözenekli yapı içinde gözlemlendi ve beklendiği gibi doku iskelesi oldukça hafifti. Doku iskelesinin hafifliği, maddenin hücre nakli çalışmaları için uygun olduğunu, dayanıklı bir yapı sağladığını göstermektedir. Doku iskelesinin gözenekliliği ve yoğunluğu arasında oldukça önemli bir ilişki vardır. Gözenekliliğin azaltılması iskelenin yoğunluğunun artmasına neden olur. Burada farklı yoğunluklarla farklı gözeneklilik elde edilmiştir. Bu nedenle, GO tabanlı iskelemizin beklediğimiz gibi güçlü bir mekanik özelliği vardır. Öte yandan, iskeletlerin biyoyumluluk özelliği de önemli bir konudur. Düşük konsantrasyonda GO tabanlı iskelenin hücre canlılığı için biyoyumlu olduğunu tahmin ediyoruz. Çünkü GO doza bağlı toksisite gösterebilmektedir.



Şekil 6.10 İndirgenmiş doku iskeleleri; (A) 2 mg/mL, (B) 1 mg/mL

Doku iskelelerinin indirgenmesi ile önemli bir renk değişimi (açık kahve renginden siyaha) ve kütle kaybı gerçekleşti. Bu durum, indirgemeye beraber oksijenli fonksiyonel grupların dekompozisyonunu kanıtlamaktadır. Kütle kaybına bağlı olarak doku iskelelerinin boyutlarında kısmi bir azalma görüldü. 1 mg/mL'lık GO doku iskelesinde meydana gelen boyut azalması 2 mg/mL'lık GO doku iskelesinden daha fazla oldu. Fonksiyonel gruplar uzaklaştığından doku iskelesinin gözenek boyutlarının küçüleceği düşünülmektedir.

6.3.1 SEM



Şekil 6.11 3B grafen doku iskelesinin SEM görüntüsü; 1 mg/mL'lik doku iskelesi (üstte), 2 mg/mL'lik doku iskelesi (altta)

SEM fotoğraflarında görülen tabakalı haldeki GO yapılarının literatürle uyumlu olarak birkaç katman ile bazen de dağınık halde üst üste binmiş GO yapıları halinde olduğu gözlenmektedir. GO doku iskelesi rastgele yönlendirilmiş, kıvrımlı tabakaların birbirine bağlı, gözenekli bir üç boyutlu görüntüsünü sergilemektedir. GO'nun konsantrasyonu membran morfolojisini olumsuz etkiler. GO partiküllerinin yüksek konsantrasyonu membranın asimetric morfolojisini bozmaktadır. Daha yüksek GO konsantrasyonu, parçacıkların moleküler ağırlığının daha yüksek olmasına sebep olur; dolayısıyla yer çekimi etkisiyle zemin tabakasında partikül birikimi gözlenmektedir. Bu nedenle 2 mg/mL'lik doku iskelesinin homojenitesi 1 mg/mL'lik doku iskelesine göre biraz daha düşüktür.

SEM görüntüleri grafen oksit doku iskelesinin oldukça yüksek gözenekliliğe sahip olduğunu göstermektedir. Doku iskelelerine çıplak gözle bakıldığında gözenekli yapısı görülebilmektedir. Bu nedenle istenilen por boyutuna ulaşılabildiği sonucuna varılmıştır. İnsan vücudundaki nöronların çapları 4 ile 100 μm arasında değişmektedir. Burdan yola çıkarak doku iskelelerinin gözenek boyutunun nöral hücrelerin hareketine izin verecek seviyede olduğunu söylenebilir. Doku iskelesinin yüksek gözenekliliği nöral hücrelerin hareketini kolaylaştırmanın yanında, hücrelerin birbirleri arasında sinaptik bağlantı oluşturmasında da kolaylık sağlayacaktır.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Grafen oksit, doku mühendisliğinde kullanılmak için iskele üretiminde kullanılacak uygun malzemelerden biridir. Güçlü bir mekanik mukavemet, biyobozunma ve biyouyumluluk gibi dikkat çekici özelliklere sahiptir. Ayrıca GO indirgenmesinde, nöral doku mühendisliği gibi çeşitli biyolojik uygulamalarda mükemmel iletken bir materyal haline gelir.

Bu tez çalışmasında, grafen türevi olan grafen oksit incelendi. Üstün özellikleri, sentezi yöntemleri, doku mühendisliği uygulamaları göz önüne alınarak çeşitli laboratuvar çalışmaları gözden geçirildi. Literatür taraması ve son çalışmalara göre, farklı konsantrasyonlarda grafen oksit süspansiyonları hazırlandı. Deneyin sonunda nöral dokularda kullanılacak iletken doku iskelesi oluşumu gerçekleştirildi. Bu çalışma, farklı konsantrasyonun farklı özelliklere sahip doku iskelesi oluşturduğunu göstermektedir. Karakterizasyon çalışmaları Hummer metodu ile grafitten doğru bir şekilde grafen oksit elde edilebildiğini gösterdi. Grafen oksitin oksidasyon derecesine bağlı olarak farklı elektrik iletkenliğine sahip olabileceği gösterildi. C/O oranına bağlı olarak farklı elektrik iletkenlik değerine sahip grafen oksitler elde edildi. Bu tez çalışmasından yola çıkarak nöral dokular için kullanılacak doku iskelelerinde C/O oranı 9'dan küçük olan grafen oksit kullanılacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] DeVivo, M.J., (1997). "Causes and Costs of Spinal Cord Injury in United States", *Spinal Cord*, 35: 809-813.
- [2] NSCISC, (2016). *Facts and Figures at a Glance*. AL: University of Alabama at Birmingham, Birmingham.
- [3] Beattie, M.S., Bresnahan, J.C., Komon, J., Tovar, C.A., Van Meter, M., Anderson, D.K., Faden, A.I., Hsu, C.Y., Noble, L.J., Salzman, S. ve Young, W., (1997). "Endogenous Repair after Spinal Cord Contusion Injuries in the Rat", *Experimental Neurology*, 148: 453–463.
- [4] Neuroscience online, Chapter 3: Anatomy of the Spinal Cord, <http://nba.uth.tmc.edu/neuroscience/s2/chapter03.html>, 30 Mart 2017.
- [5] Watson, C., Paxinos, G. ve Kayalioglu, G., (2008). *The Spinal Cord*, First Edition, Academic Press, San Diego.
- [6] Francis, N.L., (2012). *Development of a Multi-Functional Biopolymer Scaffold for Neural Tissue Engineering*, Ph.D. Thesis, Biomedical Engineering, Drexel University, Philadelphia.
- [7] Marieb, E.N. ve Hoehn, K.N., (2010). *Human Anatomy & Physiology*. 8th Edition, Pearson, San Francisco.
- [8] Schildt, C.J., (2016). *Closed-loop Afferent Nerve Electrical Stimulation for Rehabilitation of Hand Function in Subjects with Incomplete Spinal Cord Injury*, M.Sc. Thesis, Biomedical Engineering, University of Kentucky, Kentucky.
- [9] Niu, W. ve Zeng, X., (2015). "The Application of Stem Cell Based Tissue Engineering in Spinal Cord Injury Repair", *J Tissue Sci Eng*, 6(3): 158-167.

- [10] Akyürek, Y., (2015). Akut Omurilik Travmalarında Kullanılmak Üzere Nöroprotektif İlaç Yüklü Nanopartiküler İlaç Taşıyıcı Sistem Geliştirilmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [11] Kubinová, Š., (2015). "New Trends in Spinal Cord Tissue Engineering", *Future Neurol.*, 10(2): 129-145.
- [12] Dayan, K., (2009). Akut Torakal Medulla Spinalis Lezyonunda Hiperbarik Oksijenin Sinir İyileşmesi Üzerine Etkisi Deneysel Çalışma, Uzmanlık Tezi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, İzmir Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir.
- [13] Assunção-Silva, R.C., Gomes, E.D., Sousa, N., Silva, N.A. ve Salgado, A.J., (2015). "Hydrogels and Cell Based Therapies in Spinal Cord Injury Regeneration", *Stem Cells International*, vol. 2015, Article ID 948040, 24 pages.
- [14] Baptiste, D. C., (2006). "Fehlings MG, Pharmacological Approaches To Repair the Injured Spinal Cord", *Journal of Neurotrauma*, 23(3/4): 318–334.
- [15] Wing, P.C., (2008). "Early acute management in adults with spinal cord injury: a clinical practice guideline for health-care providers. Who should read it?", *J Spinal Cord Med*, 31(4): 360.
- [16] Özsoy, M.K., (2008). Deneysel Spinal Kord Yaralanması Sonrası Deferoksaminin Süperoksit Dismutaz ve Histopatolojik Değişiklikler Üzerine Etkisi, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji ABD, Adana.
- [17] Konya, D., Akakin, A. ve Özgen, S., (2004). "Akut Omurilik Hasarında Tedavi", *Dirim*, Eylül-Ekim sayısı, 11-15.
- [18] Vaynman, S., ve Gomez-Pinilla, F., (2005). "License to Run: Exercise Impacts Functional Plasticity in the Intact and Injured Central Nervous System by Using Neurotrophins", *Neurorehabilitation and Neural Repair*, 19(4): 283-295.
- [19] Silva, N.A., Sousa, N., Reis, R.L. ve Salgado, A.J., (2013). "From Basics to Clinical: A Comprehensive Review on Spinal Cord Injury", *Progress in Neurobiology*, 114: 25-57.
- [20] Dumont, R.J., Verma, S., Okonkwo, D.O. ve Hurlbert, R.J., (2001). "Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy", *Clin. Neuropharmacology*, 24(5): 265-279.
- [21] Kaptanoğlu, E., ve Attar, A., (2005). "Omurilik Yaralanmasında Rejenerasyon Çalışmaları ve Kök Hücre Uygulamaları", *Türk Nöroşirürji Derneği Bülteni*, 9: 43-56.

- [22] Ji, W., Hu, S., Zhou, J., Wang, G., Wang, K. ve Zhang, Y., (2014). "Tissue engineering is a promising method for the repair of spinal cord injuries", *Experimental and Therapeutic Medicine*, 7: 523-528.
- [23] Brown, A., (2013). "Spinal Cord Injury: Do Stem Cells Have the Answer?", *Science in School*, 26: 38-43.
- [24] Puri, M.C. ve Nagy, A., (2012). "Concise Review: Embryonic Stem Cells versus Induced Pluripotent Stem Cells: the game is on", *Stem Cells*, 30(1): 10–14.
- [25] Franklin, R.J.M. ve Blakemore, W.F., (1993). "Requirements for Schwann Cell Migration within CNS Environments: A Viewpoint", *International Journal of Developmental Neuroscience*, 11(5): 641-649.
- [26] Doucette, R., (1995). "Olfactory Ensheathing Cells: Potential for Glial Cell Transplantation into Areas of CNS Injury", *Histology and Histopathology*, 10(2): 503-507.
- [27] Doucette, R., (1993). "Glial Cells in the Nerve Fiber Layer of the Main Olfactory Bulb of Embryonic and Adult Mammals", *Microscopy Research and Technique*, 24(2): 113-130.
- [28] Nomura, H., Tator, C.H. ve Shoichet, M.S., (2006). "Bioengineered Strategies for Spinal Cord Repair", *Journal of Neurotrauma*, 23(3/4): 496-507.
- [29] Gu, X., Ding, F., Yang, Y. ve Liu, J., (2011). "Construction of Tissue Engineered Nerve Grafts and Their Application in Peripheral Nerve Regeneration", *Progress in Neurobiology*, 93: 204-230.
- [30] Wang, M., Zhai, P., Chen, X., Schreyer, D.J., Sun, X. ve Cui, F., (2011). "Bioengineered Scaffolds for Spinal Cord Repair", *Tissue Eng Part B*, 17(3): 177-194.
- [31] Xie, J., Willerth, S.M., Li, X., Macewan, M.R., Rader, A., Sakiyama-Elbert, S.E. ve Xia, Y., (2009). "The Differentiation of Embryonic Stem Cells Seeded on Electrospun Nanofibers into Neural Lineages", *Biomaterials*, 30(3): 354-362.
- [32] Miller, C., Jeftinija, S. ve Mallapragada, S., (2002). "Synergistic Effects of Physical and Chemical Guidance Cues on Neurite Alignment and Outgrowth on Biodegradable Polymer Substrates", *Tissue Engineering*, 8(3): 367-378.
- [33] Pérez-Garnes, M., Barcia, J.A., Gómez-Pinedo, U., Pradas M.M. ve Vallés-Lluch, A., (2014). *Materials for Central Nervous System Tissue Engineering*, InTech, Open access.
- [34] Boehler, R.M., Graham, J.G. ve Shea L.D., (2011). "Tissue Engineering Tools for Modulation of the Immune Response", *Biotech.*, 51(4): 239-244.

- [35] Straley, K.S., Foo, C.W.P. ve Heilshorn, S.C., (2010). "Biomaterial Design Strategies for the Treatment of Spinal Cord Injuries" *Journal of Neurotrauma*, 27: 1-19.
- [36] Pan, Z. ve Ding, J., (2012). "Poly(lactide-co-glycolide) Porous Scaffolds for Tissue Engineering and Regenerative Medicine", *Interface Focus*, 2: 366-377.
- [37] Xin, X., Liu, Q-Q, Chen, C-X, Guan, Y-X ve Yao S-J, (2016). "Fabrication of bimodal porous PLGA scaffolds by supercritical CO₂ foaming/particle leaching technique", *J. Appl. Polym. Sci.*, 133(27): 1-9.
- [38] Salerno, A., Guarnieri, D., Iannone, M., Zeppetelli, S., Di Maio E., Iannace S. ve Netti, P.A., (2009). "Engineered μ -bimodal Poly(ϵ -caprolactone) Porous Scaffold for Enhanced hMSC Colonization and Proliferation", *Acta Biomaterialia*, 5: 1082-1093.
- [39] Sosnowski, S., Woźniak, P. ve Lewandowska-Szumieł, M., (2006). "Polyester Scaffolds with Bimodal Pore Size Distribution for Tissue Engineering", *Macromol. Biosci.*, 6(6): 425-434.
- [40] Das, S., (2015). *Artificial Scaffolds for Neural Tissue Engineering*, Ph.D. Thesis, Department of Biosciences and Bioengineering, Indian Institute of Technology Guwahati, Guwahati.
- [41] Mocchetti, I. ve Wrathall, J.R., (1995). "Neurotrophic Factors in Central Nervous System Trauma", *J Neurotrauma*, 12(5): 853-870.
- [42] Subramanian, A., Krishnan, U.M. ve Sethuraman, S., (2009). "Development of Biomaterial Scaffold for Nerve Tissue Engineering: Biomaterial Mediated Neural Regeneration", *Journal of Biomedical Science*, 16: 108-119.
- [43] Lu, P. ve Tuszynski, M.H., (2008). "Growth Factors and Combinatorial Therapies for CNS Regeneration", *Exp Neurol*, 209(2): 313-320.
- [44] Blesch, A., Lu, P. ve Tuszynski, M.H., (2002). "Neurotrophic Factors, Gene Therapy, and Neural Stem Cells for Spinal Cord Repair", *Brain Res Bull*, 57(6): 833-838.
- [45] Hwang, D.H., Kim, H.M., Kang, Y.M., Joo, I.S., Cho, C-S, Yoon, B-W, Kim, S.U. ve Kim, B.G., (2011). "Combination of Multifaceted Strategies to Maximize the Therapeutic Benefits of Neural Stem Cell Transplantation for Spinal Cord Repair", *Cell Transplant*, 20(9): 1361-1379.
- [46] Lim, P.A.C. ve Tow, A.M., (2007). "Recovery and Regeneration after Spinal Cord Injury: A Review and Summary of Recent Literature", *Annals Academy of Medicine*, 36: 49-57.

- [47] Çelik, E., (2013). Doku Mühendisliği Uygulamalarında Kullanılmak Üzere Peptid Bazlı Nano Ölçekli Doku İskelelerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [48] Gümüşderelioğlu, M., (2007). Peptid Temelli Nanodoku İskeleleri”, Bilim ve Teknik, 479: 1-15.
- [49] Zhang, S., Gelain, F. ve Zhao, X., (2005). “Designer Self-Assembling Peptide Nanofiber Scaffolds for 3D Tissue Cell Cultures”, Semin. Cancer Biol., 15(5): 413–420.
- [50] Zhao, X. ve Zhang, S., (2004). “Fabrication of Molecular Materials Using Peptide Construction Motifs”, Trends in Biotechnology, 22(9): 470-476.
- [51] Silva, G.A., Czeisler, C., Niece, K.L., Beniash, E., Harrington, D.A., Kessler, J.A. ve Stupp, S.I., (2004). “Selective Differentiation of Neural Progenitor Cells by High-epitope Density Nanofibers”, Science, 303(5662): 1352–1355.
- [52] Tysseling-Mattiace, V.M., Sahni, V., Niece, K.L., Birch, D., Czeisler, C., Fehlings, M.G., Stupp, S.I. ve Kessler J.A., (2008). “Self-assembling Nanofibers Inhibit Glial Scar Formation and Promote Axon Elongation After Spinal Cord Injury”, J. Neurosci., 28(14): 3814–3823.
- [53] Tysseling-Mattiace, V.M., Sahni, V., Niece, K.L., Birch, D., Czeisler, C., Fehlings, M.G., Stupp, S.I. ve Kessler J.A., (2008). “Self-assembling Nanofibers Inhibit Glial Scar Formation and Promote Axon Elongation After Spinal Cord Injury”, J. Neurosci., 28(14): 3814–3823.
- [54] Holmes, T.C., De Lacalle, S., Su, X., Liu, G., Rich, A. ve Zhang, S., (2000). “Extensive Neurite Outgrowth and Active Synapse Formation on Self-assembling Peptide Scaffolds”, Proc. Natl Acad. Sci. USA, 97(12): 6728–6733.
- [55] Hinderer, S., Layland, S.L. ve Schenke-Layland, K., (2016). “ECM and ECM-like Materials-Biomaterials for Applications in Regenerative Medicine and Cancer Therapy”, 97: 260-269.
- [56] Tapias, L.F. ve Ott, H.C., (2014). “Decellularized Scaffolds as a Platform for Bioengineered Organs”, Curr Opin Organ Transplant., 19(2): 145-152.
- [57] Crapo, P.M., Gilbert, T.W. ve Badylak, S.F., (2011). “An Overview of Tissue and Whole Organ Decellularization Processes”, Biomaterials., 32(12): 3233-3243.
- [58] Wang, H., Lin, X-F, Wang, L-R, Lin, Y-Q, Wang, J-T, Liu, W-Y, Zhu, G-Q, Braddock, M., M-Z ve Zheng, M-H, (2015). “Decellularization Technology in CNS Tissue Repair”, Expert Rev. Neurother., 15(5): 493-500.

- [59] Guo, S-Z, Ren, X-J, Wu, B. ve Jiang, T., (2010). "Preparation of the Acellular Scaffold of the Spinal Cord and the Study of Biocompatibility", *Spinal Cord*, 48: 576-581.
- [60] Crapo, P.M., Medberry. C.J., Reing. J.E., Tottey, S., van der Merwe, Y., Jones, K.E. ve Badylak, S.F., (2012). "Biologic Scaffolds Composed of Central Nervous System Extracellular Matrix", *Biomaterials*, 33(13): 3539-3547.
- [61] Zhang, N., Yanb, H. ve Wena, X., (2005). "Tissue-engineering Approaches for Axonal Guidance", *Brain Research Reviews*, 49: 48-64.
- [62] Tabesh, H., Amoabediny, G., Nik, N.S., Heydari, M., Yosefifard, M., Siadat, S.O.R. ve Mottaghy, K., (2009). "The Role of Biodegradable Engineered Scaffolds Seeded with Schwann Cells for Spinal Cord Regeneration", *Neurochemistry International*, 54: 73-83.
- [63] Belkas, J.S., Shoichet M.S. ve Midha, R., (2004). "Peripheral Nerve Regeneration through Guidance Tubes", *Neurological Research*, 26: 151-160.
- [64] Saylor Academy, Wallerian Degeneration, <https://www.saylor.org/site/wp-content/uploads/2012/02/BIO303-4.3.2-WallerianDegeneration-FINAL.pdf>, 15 Nisan 2017.
- [65] Lee, T.K., Kim, Y.J., Yoon, S.H., KIM, Y.J., Lee, H.Y., Kang, Y.H. ve Lim, M.K., (2015). "MRI Finding of Spinal Cord Injury with Wallerian Degeneration", *European Congress of Radiology*, 4-8 Mart, Viyana.
- [66] Madigana, N.N., McMahonb, S., O'Brienb, T., Yaszemskic, M.J. ve Windebanka, A.J., (2009). "Current Tissue Engineering and Novel Therapeutic Approaches to Axonal Regeneration Following Spinal Cord Injury Using Polymer Scaffolds?", *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 169: 183–199.
- [67] Mozafari, M., Mehraien, M., Vashae D. ve Tayebi, L., (2012). *Electroconductive Nanocomposite Scaffolds: A New Strategy Into Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, InTech, Open access.
- [68] Ghasemi-Mobarakeh, L., Prabhakaran, M.P., Morshed, M., Nasr-Esfahani, M.H., Baharvand, H., Kiani, S., Al-Deyab, S.S. ve Ramakrishna, S., (2011). "Application of Conductive Polymers, Scaffolds and Electrical Stimulation for Nerve Tissue Engineering", *J Tissue Eng Regen Med*, 5: 17-35.
- [69] Guimard, N.K., Gomez, N. ve Schmidt, C.E., (2007). "Conducting Polymers in Biomedical Engineering", *Prog. Polym. Sci.*, 32: 876-921.
- [70] Balint, R., Cassidy, N.J. ve Cartmell, S.,H., (2014). "Conductive Polymers: Towards a Smart Biomaterial for Tissue Engineering", *Acta Biomaterialia*, 10: 2341-2353.

- [71] Moroder, P., Runge, M.B., Wang, H., Ruesink, T., Lu, L., Spinner, R.J., Windebank, A.J. ve Yaszemski, M.J., (2011). "Material Properties and Electrical Stimulation Regimens of Polycaprolactone fumarate-Polypyrrole Scaffolds as Potential Conductive Nerve Conduits", *Acta Biomaterialia*, 7: 944-953.
- [72] Sun, S., Titushkin, I. ve Cho, M., (2006). "Regulation of Mesenchymal Stem Cell Adhesion and Orientation in 3D Collagen Scaffold by Electrical Stimulus", *Bioelectrochemistry*, 69: 133-141.
- [73] Shi, G., Rouabhia, M., Meng, S. ve Zhang, Z., (2007). "Electrical Stimulation Enhances Viability of Human Cutaneous Fibroblasts on Conductive Biodegradable Substrates", *J Biomed Mater Res A*, 84: 1026-1037.
- [74] Liao, K., (2012). *Graphene Synthesis & Graphene/Polymer Nanocomposites*, Ph.D. Thesis, Chemical Engineering & Materials Science, University of Minnesota, Minneapolis.
- [75] Potts, J.R., Dreyer, D.R., Bielawski, C.W. ve Ruoff, R.S., (2011). "Graphene-based Polymer Nanocomposites", *Polymer*, 52: 5-25.
- [76] Şenel, M.C., Gürbüz, M. ve Koç, E., (2015). "Grafen Takviyeli Alüminyum Matrisli Yeni Nesil Kompozitler", *Mühendis ve Makina*, 56(669): 36-47.
- [77] Bedeloğlu, A. ve Taş, M., (2016). "Grafen ve Grafen Üretim Yöntemleri", *Akü Femübid*, 16(031203): 544-554.
- [78] İçkecan, D., (2015), *Grafen Sentezi*, <http://fizikakademisi.com/2015/09/29/grafen-sentezi/>, 9 Nisan 2017.
- [79] Obraztsov, A.N., (2009). "Chemical Vapour Deposition: Making Graphene on A Large Scale", *Nature Nanotechnology*, 4(4): 212-213.
- [80] Chen, J., Yao, B.W., Li, C. ve Shi, G.Q., (2013). "An Improved Hummers Method for Eco-Friendly Synthesis of Graphene Oxide", *Carbon*, 64: 225-229.
- [81] Tekay, E., (2014). *Biyomedikal Uygulamalar için Grafen oksit/Polimer Kompozitlerinin Hazırlanması*, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yalova Üniversitesi, Yalova.
- [82] Akhavan, O., (2016). "Graphene Scaffolds in Progressive Nanotechnology/Stem Cell-Based Tissue Engineering of Nervous System", *J. Mater. Chem. B*, 4: 3169-3190.
- [83] Park, S.Y., Park, J., Sim, S.H., Sung, M.G., Kim, K.S., Hong, B.H. ve Hong, S., (2011). "Enhanced Differentiation of Human Neural Stem Cells into Neurons on Graphene", *Adv. Mater.*, 23: 263-267.

- [84] Li, N., Zhang, X., Song, Q., Su, R., Zhang, Q., Kong, T., Liu, L., Jin, G., Tang, M. ve Cheng, G., (2011). "The Promotion of Neurite Sprouting and Outgrowth of Mouse Hippocampal Cells in Culture by Graphene Substrates", *Biomaterials*, 32: 9374-9382.
- [85] Kim, J., Park, S., Kim, Y.J., Jeon, C.S., Lim, K.T., Seonwoo, H., Cho, S.P., Chung, T.D., Choung, P.H., Choung, Y.H., Hong, B.H. ve Chung, J.H., (2015). "Monolayer Graphene-directed Growth and Neuronal Differentiation of Mesenchymal Stem Cells", *J. Biomed. Nanotechnol.*, 11: 2024-2033.
- [86] Li, N., Zhang, Q., Gao, S., Song, Q., Huang, R., Wang, L., Liu, L., Dai, J., Tang, M. ve Cheng, G., (2013). "Threedimensional Graphene Foam as a Biocompatible and Conductive Scaffold for Neural Stem Cells", *Sci. Rep.*, 3: 1604.
- [87] Tang, M., Song, Q., Li, N., Jiang, Z., Huang, R. ve Cheng, G., (2013). "Enhancement of Electrical Signaling in Neural Networks on Graphene Films", *Biomaterials*, 34: 6402-6411.
- [88] Mena, F., Abdelghani, A. ve Mena, B., (2015). "Graphene Nanomaterials as Biocompatible and Conductive Scaffolds for Stem Cells: Impact for Tissue Engineering and Regenerative Medicine", *J Tissue Eng Regen Med*, 9(12): 1321-1338.
- [89] Akhavan, O., Ghaderi, E., Hashemi, E. ve Akbari, E., (2015). "Dose-dependent Effects of Nanoscale Graphene Oxide on Reproduction Capability of Mammals", *Carbon*, 95: 309–317.
- [90] Howell, B., Lad, S.P. ve Grill, W.M., (2014). 'Evaluation of Intradural Stimulation Efficiency and Selectivity in a Computational Model of Spinal Cord Stimulation', *Plos One*, E 9(12): 114938-114963.
- [91] Roth, B.J., (2000). *The Biomedical Engineering Handbook: The Electrical Conductivity of Tissues*, Second Edition, CRC Press, Boca Raton.
- [92] Gómez-Tames, J., González, J. ve Yu, W., (2014). 'Influence of Different Geometric Representations of the Volume Conductor on Nerve Activation during Electrical Stimulation', *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 345-355.

ELEKTRİKSEL ANALİZ

Grafen oksitin, termal indirgenmiş grafen oksitin ve kimyasal indirgenmiş grafen oksitin elektriksel iletkenlik analizleri için kullanılan değerler aşağıda verilmiştir. Tabloda volt (V), akım (I), direnç (R), örneğin kalınlığı (t), örneğin uzunluğu (L), örneğin genişliği (w), öz direnç (ρ), elektriksel iletkenlik (σ) değerleri verilmiştir. Elektrik analizleri grafen oksit için tek şerit, termal veya kimyasal indirgenmiş grafen oksit için dört şerit olarak düzenlenmiştir. Her analiz için ortalamalar ve standart sapmalar belirlenmiştir.

A-1 Grafen Oksit

	volt	μA	A	ohm	m	m	m	m	m	ρ	σ	I.L/V.w.t
	V	I	I	R	L	W	t				σ	σ
şerit 1	1	0,0956	9,56E-08	10460251	0,00476	0,00589	0,00001176	0,00001176	1,52E+02	0,00656965	6,57E-03	
şerit 1	1	0,0894	8,94E-08	11185682,3	0,00476	0,00589	0,00001176	0,00001176	1,63E+02	0,006143585	6,14E-03	
şerit 1	1	0,0993	9,93E-08	10070493,5	0,00476	0,00589	0,00001176	0,00001176	1,47E+02	0,006823915	6,82E-03	
şerit 1	1	0,0835	8,35E-08	11976047,9	0,00476	0,00589	0,00001176	0,00001176	1,74E+02	0,005738136	5,74E-03	
şerit 1	1	0,0895	8,95E-08	11173184,4	0,00476	0,00589	0,00001176	0,00001176	1,63E+02	0,006150457	6,15E-03	
şerit 1	1	0,0891	8,91E-08	11223344,6	0,00476	0,00589	0,00001176	0,00001176	1,63E+02	0,006122969	6,12E-03	
		0,09106667	9,10667E-08				std		9,69853913	0,000382239	0,000382239	

A-2 Termal İndirgenmiş Grafen Oksit

	volt	μA	A	ohm	m	m	m	m	m	ρ	σ	I./V.w.t
	V	I	I	R	L	W	t					σ
şerit 1	1	2746	0,002746	364,16606	0,0047625	0,00589	0,00001154	5,20E-03	192,4041424	1,92E+02		
şerit 1	1	2655	0,002655	376,647834	0,0047625	0,00589	0,00001154	5,38E-03	186,0280401	1,86E+02		
şerit 1	1	2578	0,002578	387,897595	0,0047625	0,00589	0,00001154	5,54E-03	180,6328766	1,81E+02		
şerit 1	1	2790	0,00279	358,422939	0,0047625	0,00589	0,00001154	5,12E-03	195,4870929	1,95E+02		
şerit 1	1	2855	0,002855	350,262697	0,0047625	0,00589	0,00001154	5,00E-03	200,0414517	2,00E+02		
şerit 1	1	2674	0,002674	373,971578	0,0047625	0,00589	0,00001154	5,34E-03	187,3593142	1,87E+02		
		2716,33333					std		7,022476536	1,90E+02		
								0,000194173	7,022476536	7,022476536		

	volt	μA	A	ohm	m	m	m	m	m	ρ	σ	I./V.w.t
	V	I	I	R	L	W	t					σ
şerit 2	1	2698	0,002698	370,644922	0,0047625	0,00581	0,00001162	5,25E-03	190,3244895	1,90E+02		
şerit 2	1	2724	0,002724	367,107195	0,0047625	0,00581	0,00001162	5,20E-03	192,1586024	1,92E+02		
şerit 2	1	2803	0,002803	356,760614	0,0047625	0,00581	0,00001162	5,06E-03	197,7314841	1,98E+02		
şerit 2	1	2578	0,002578	387,897595	0,0047625	0,00581	0,00001162	5,50E-03	181,8593528	1,82E+02		
şerit 2	1	2652	0,002652	377,073906	0,0047625	0,00581	0,00001162	5,35E-03	187,0795204	1,87E+02		
şerit 2	1	2783	0,002783	359,32447	0,0047625	0,00581	0,00001162	5,09E-03	196,320628	1,96E+02		
							std		5,904170148	1,91E+02		
								0,000163871	5,904170148	5,904170148		

	volt	μA	A	ohm	m	m	m	m	m	m	ρ	σ	I.L./V.w.t
	V	I	I	R	L	W	t					σ	
şerit 3	1	2905	0,002905	344,234079	0,0047625	0,00604	0,00001164	0,00001164	5,08E-03	196,7846445			1,97E+02
şerit 3	1	2855	0,002855	350,262697	0,0047625	0,00604	0,00001164	0,00001164	5,17E-03	193,3976454			1,93E+02
şerit 3	1	2806	0,002806	356,379187	0,0047625	0,00604	0,00001164	0,00001164	5,26E-03	190,0783864			1,90E+02
şerit 3	1	2824	0,002824	354,107649	0,0047625	0,00604	0,00001164	0,00001164	5,23E-03	191,297706			1,91E+02
şerit 3	1	2793	0,002793	358,037952	0,0047625	0,00604	0,00001164	0,00001164	5,29E-03	189,1977666			1,89E+02
şerit 3	1	2607	0,002607	383,582662	0,0047625	0,00604	0,00001164	0,00001164	5,66E-03	176,5981302			1,77E+02
	ort								5,28E-03	189,3408577			1,90E+02
	std						std		0,000200387	6,904384606			6,904384606

	volt	μA	A	ohm	m	m	m	m	m	m	ρ	σ	I.L./V.w.t
	V	I	I	R	L	W	t					σ	
şerit 4	1	2798	0,002798	357,398142	0,0047625	0,00599	0,00001184	0,00001184	5,32E-03	187,8902196			1,88E+02
şerit 4	1	2945	0,002945	339,558574	0,0047625	0,00599	0,00001184	0,00001184	5,06E-03	197,7615071			1,98E+02
şerit 4	1	2845	0,002845	351,493849	0,0047625	0,00599	0,00001184	0,00001184	5,23E-03	191,0463455			1,91E+02
şerit 4	1	2815	0,002815	355,239787	0,0047625	0,00599	0,00001184	0,00001184	5,29E-03	189,0317971			1,89E+02
şerit 4	1	2854	0,002854	350,385424	0,0047625	0,00599	0,00001184	0,00001184	5,22E-03	191,6507101			1,92E+02
şerit 4	1	2876	0,002876	347,705146	0,0047625	0,00599	0,00001184	0,00001184	5,18E-03	193,1280456			1,93E+02
									5,22E-03	191,699186			1,92E+02
							std		9,3789E-05	3,487943071			3,487943071

	σ
şerit 1	190,1095687
şerit 2	190,7585963
şerit 3	189,3408577
şerit 4	191,699186
ort	190,4770522
std	0,999810044



A-3 Kimyasal İndirgenmiş Grafen Oksit

	volt	μA	A	ohm	m	m	m	m	m	ρ	σ	I.I./V.w.t
	V	I	I	R	L	W	t	t	t			σ
şerit 1	1	26469,2	0,0264692	37,7797591	0,00476	0,0045	0,00001083	0,00001083	0,00001083	3,87E-04	2585,275305	2,59E+03
şerit 1	1	26508,8	0,0265088	37,7233221	0,00476	0,0045	0,00001083	0,00001083	0,00001083	3,86E-04	2589,14308	2,59E+03
şerit 1	1	28235,5	0,0282355	35,4164084	0,00476	0,0045	0,00001083	0,00001083	0,00001083	3,63E-04	2757,791731	2,76E+03
şerit 1	1	28044,2	0,0280442	35,657997	0,00476	0,0045	0,00001083	0,00001083	0,00001083	3,65E-04	2739,107254	2,74E+03
şerit 1	1	27530,9	0,0275309	36,3228227	0,00476	0,0045	0,00001083	0,00001083	0,00001083	3,72E-04	2688,972689	2,69E+03
şerit 1	1	26569,6	0,0265696	37,6369987	0,00476	0,0045	0,00001083	0,00001083	0,00001083	3,85E-04	2595,081481	2,60E+03
		27226,3667					std			3,76E-04	2659,23	2,66E+03
										1,1167E-05	79,34220014	79,34220014

	volt	μA	A	ohm	m	m	m	m	m	ρ	σ	I.I./V.w.t
	V	I	I	R	L	W	t	t	t			σ
şerit 2	1	26315,5	0,0263155	38,000418	0,00476	0,0048	0,00000867	0,00000867	0,00000867	3,32E-04	3009,94281	3,01E+03
şerit 2	1	26280,7	0,0262807	38,0507369	0,00476	0,0048	0,00000867	0,00000867	0,00000867	3,33E-04	3005,962418	3,01E+03
şerit 2	1	25381	0,025381	39,3995508	0,00476	0,0048	0,00000867	0,00000867	0,00000867	3,44E-04	2903,055556	2,90E+03
şerit 2	1	25415,6	0,0254156	39,3459135	0,00476	0,0048	0,00000867	0,00000867	0,00000867	3,44E-04	2907,013072	2,91E+03
şerit 2	1	26262,5	0,0262625	38,0771061	0,00476	0,0048	0,00000867	0,00000867	0,00000867	3,33E-04	3003,880719	3,00E+03
şerit 2	1	26408,6	0,0264086	37,8664526	0,00476	0,0048	0,00000867	0,00000867	0,00000867	3,31E-04	3020,591503	3,02E+03
										3,36E-04	2974,230651	
										6,2377E-06	54,57205285	54,57205285

	volt	µA	A	ohm	m	m	m	m	m	m	ρ	σ	I.L/V.w.t
	V	I	I	R	L	W	t	σ					σ
şerit 3	1	27016,3	0,0270163	37,0146911	0,00476	0,005	0,00000833	3,24E-04	3087,577143	3,24E-04	3,09E+03		3,09E+03
şerit 3	1	27002,9	0,0270029	37,0330594	0,00476	0,005	0,00000833	3,24E-04	3086,045714	3,24E-04	3,09E+03		3,09E+03
şerit 3	1	25818,3	0,0258183	38,7322171	0,00476	0,005	0,00000833	3,39E-04	2950,662857	3,39E-04	2,95E+03		2,95E+03
şerit 3	1	25851,8	0,0258518	38,682026	0,00476	0,005	0,00000833	3,38E-04	2954,491429	3,38E-04	2,95E+03		2,95E+03
şerit 3	1	25121,6	0,0251216	39,8063818	0,00476	0,005	0,00000833	3,48E-04	2871,04	3,48E-04	2,87E+03		2,87E+03
şerit 3	1	25287,4	0,0252874	39,5453862	0,00476	0,005	0,00000833	3,46E-04	2889,988571	3,46E-04	2,89E+03		2,89E+03
	ort							3,37E-04	2970,855294	3,37E-04			
	std							1,0528E-05	93,84558145	1,0528E-05			93,84558145

	volt	µA	A	ohm	m	m	m	m	m	m	ρ	σ	I.L/V.w.t
	V	I	I	R	L	W	t	σ					σ
şerit 4	1	33031,7	0,0330317	30,273949	0,00476	0,0063	0,00000983	3,94E-04	2538,889567	3,94E-04	2,54E+03		2,54E+03
şerit 4	1	33906,2	0,0339062	29,493131	0,00476	0,0063	0,00000983	3,84E-04	2606,105573	3,84E-04	2,61E+03		2,61E+03
şerit 4	1	35328	0,035328	28,3061594	0,00476	0,0063	0,00000983	3,68E-04	2715,388267	3,68E-04	2,72E+03		2,72E+03
şerit 4	1	35133	0,035133	28,4632682	0,00476	0,0063	0,00000983	3,70E-04	2700,400136	3,70E-04	2,70E+03		2,70E+03
şerit 4	1	37844,8	0,0378448	26,4237095	0,00476	0,0063	0,00000983	3,44E-04	2908,835085	3,44E-04	2,91E+03		2,91E+03
şerit 4	1	37815,2	0,0378152	26,4443927	0,00476	0,0063	0,00000983	3,44E-04	2906,559964	3,44E-04	2,91E+03		2,91E+03
								3,67E-04	2722,318358	3,67E-04			
								2,0393E-05	152,3913752	2,0393E-05			152,3913752

	σ
şerit 1	2659,22859
şerit 2	2974,230651
şerit 3	2970,855294
şerit 4	2722,318358
ort	2831,658223
std	164,711775



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Büşra BAŞKAPAN
Doğum Tarihi ve Yeri : 01.07.1993
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : bbaskapan@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2015
Lise	Fen-Matematik	İbrahim Hakkı Fen Lisesi	2011

YAYINLARI

Bildiri

1. Başkapan, B., Gurbüz, B. ve Üstündağ, C.B., Omurilik Hasarlarının Tedavisinde Kullanılabilecek Nanokompozit Doku İskeleleri, V. Ulusal Nanoteknoloji Kongresi, 2017
2. Gurbüz, B., Başkapan, B. and Üstündağ, C.B., Carbonaceous Nanomaterials for Photodynamic Therapy, V. Ulusal Nanoteknoloji Kongresi, 2017
3. Başkapan, B., Topçu, B., Taşçı, Z.N. and Üstündağ, C.B., Fabrication of Graphene Oxide Based Scaffolds for Tissue Engineering, 12th International Nanoscience&Nanotechnology Conference, 2016

Proje

1. Omurilik Hasarlarının Tedavisinde Kullanılabilecek Doku İskelelerinin Geliştirilmesi, YTÜ-BAP, 2016-2017