

YALOVA ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YAPAY TENDON OLARAK KULLANILMAK ÜZERE ELEKTRO EĞİRME
YÖNTEMİ İLE DOĞAL/SENTETİK POLİMERİK MEMBRANLARIN
HAZIRLANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Uğur BALTA

Polimer Mühendisliği Anabilim Dalı

Polimer Mühendisliği Programı

TEMMUZ 2014

YALOVA ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YAPAY TENDON OLARAK KULLANILMAK ÜZERE ELEKTRO EĞİRME
YÖNTEMİ İLE DOĞAL/SENTETİK POLİMERİK MEMBRANLARIN
HAZIRLANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Uğur BALTA

(115101006)

Polimer Mühendisliği Anabilim Dalı

Polimer Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Kadriye TUZLAKOĞLU

TEMMUZ 2014

YALOVA Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 115101006 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Uğur BALTA** ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**YAPAY TENDON OLARAK KULLANILMAK ÜZERE ELEKTRO EĞİRME YÖNTEMİ İLE DOĞAL/SENTETİK POLİMERİK MEMBRANLARIN HAZIRLANMASI**” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Kadriye TUZLAKOĞLU**
Yalova Üniversitesi



Eş Danışman : **Yrd. Doç. Dr. İ. Alper İŞOĞLU**
Abdullah Gül Üniversitesi



Jüri Üyeleri : **Doç. Dr. Kadriye TUZLAKOĞLU**
Yalova Üniversitesi



Doç. Dr. İ. Gökhan TEMEL
Yalova Üniversitesi



Yrd. Doç. Dr. Didem OMAV
Yalova Üniversitesi



Teslim Tarihi : 20 Haziran 2014
Savunma Tarihi : 7 Temmuz 2014

Aileme,

ÖNSÖZ

Çalışmalarım sırasında bilgilerini benimle paylaşan, her zaman desteğini ve yardımlarını gördüğüm değerli hocam **Doç. Dr. Kadriye TUZLAKOĞLU'** na,

Tez çalışmamda fikirleri ve önerileriyle bana yol gösteren eş danışmanım **Yrd. Doç. Dr. İ. Alper İŞOĞLU'** na,

Tez çalışmam süresince bana destek olan, bütün zorlukları benimle karşılayan, her zaman yanımda olan, her an sevgisini ve desteğini hissettiren değerli **aileme**,

Lisans eğitiminden sonra yüksek lisansta da beraber yola çıktığımız, çalışmalarımın her aşamasında daima yanımda olan sevgisini ve desteğini benden hiç esirgemeyen arkadaşım **Elif BERBER'** e,

Çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli meslektaşım **M. Evren BERKTAŞ'** a,

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

TEMMUZ 2014

Uğur BALTA

(Kimya Mühendisi)

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	vii
KISALTMALAR	xi
ÇİZELGELER	xiii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xv
ÖZET	xvii
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı	2
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tendonun Yapısı	3
2.2. Tendon Bileşimi	5
2.3. Tendon Mekanik Özellikleri	6
2.4. Tendon Hasarları	8
2.5. Tendon Tedavisi.....	9
2.5.1. İltihaplanma safhası	10
2.5.2. Proliferasyon (hücre çoğalma) safhası.....	10
2.5.3. Yeniden yapılanma safhası	11
2.6. Doku Mühendisliği	13
2.6.1. Doku iskelesi üretiminde kullanılan biyomalzemeler	17
2.7. Tendon Doku Mühendisliği	19
2.7.1. Tendon doku mühendisliği için yapı iskeleleri.....	21
2.8. Doku İskelesi Fabrikasyon Teknikleri	23

2.8.1. Çözücü dökme - parçacık uzaklaştırma	24
2.8.2. Faz ayrılması	24
2.8.3. Eriyik kalıplama	25
2.8.4. Gaz köpüklendirme	26
2.8.5. Dondurarak kurutma	26
2.8.6. Katı serbest form fabrikasyonu	26
2.8.7. Elektro-eğirme yöntemi	29
2.9. İpeğin Yapısı ve Doku Mühendisliği Uygulamaları	38
2.10. Polikaprolakton	41
3.MATERYAL ve METOT	45
3.1. Kullanılan Malzemeler	45
3.2. Fibroin İzolasyonu ve Saflaştırılması	46
3.3. Çift Katmanlı PCL/SF Nanofibröz Membran Hazırlanması	46
3.3.1. PCL nanofibröz membranların hazırlanması	46
3.3.2. Silk fibroin nanofibröz membranların hazırlanması	47
3.4. Spiral Formda PCL/SF Nanofibröz Doku İskelelerinin Hazırlanması	48
3.5. Çift Katmanlı PCL/SF Nanofibröz Membranların ve Spiral Formlu Doku İskelelerinin Karakterizasyonu	48
3.5.1. Morfolojik analiz	48
3.5.2. FTIR analizleri	48
3.5.3. Mekanik testler	48
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	51
4.1. Yönlendirilmiş Nanofibröz Membran Eldesi İçin Optimum Koşulların Belirlenmesi	51
4.2. Çift Katmanlı PCL/SF Nanofibröz Membranların ve Spiral Formlu Doku İskelelerinin Karakterizasyonu	73
4.2.1. Morfolojik analiz	73
4.2.2. Yapısal analiz	77
4.2.3. Mekanik testler	78
5. SONUÇ	81
KAYNAKLAR	83
ÖZGEÇMİŞ	91

KISALTMALAR

PCL : Polikaprolakton

PLA : Polilaktik asit

PGA : Poliglikolik asit

PLGA:Poli-laktik-ko-glikolit

TGA : Termo Gravimetrik Analiz

PHB : Poly(hidroksi butirat)

ECM : Ekstraselüler matris

PLLA: Poli(L-laktat)

SEM : Taramalı Elektron Mikroskopisi

FTIR : Fourier Dönüümlü Infrared Spektroskopisi

T_g : Camsı geçiş sıcaklığı

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1 : Elektro-eğirme parametreleri	32
Çizelge 2.2 : Elektro-eğirme proses parametreleri	38
Çizelge 2.3 : Bombyx mori ipek kozasının bileşimi	39
Çizelge 2.4 : Bombyx mori ipek fibroninin aminoasit bileşimi	40
Çizelge 4.1 : Voltaj 15 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi.....	53
Çizelge 4.2 : Voltaj 15 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	54
Çizelge 4.3 : Voltaj 15 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	55
Çizelge 4.4 : Voltaj 16 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	56
Çizelge 4.5 : Voltaj 16 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	57
Çizelge 4.6 : Voltaj 17 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	58
Çizelge 4.7 : Voltaj 17 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	59
Çizelge 4.8 : Voltaj 18 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	60
Çizelge 4.9 : Voltaj 18 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	61
Çizelge 4.10 : Voltaj 19 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	62
Çizelge 4.11 : Voltaj 19 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	63
Çizelge 4.12 : Voltaj 14 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	64
Çizelge 4.13 : Voltaj 13 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	65
Çizelge 4.14 : Voltaj 13 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	66
Çizelge 4.15 : Voltaj 12 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	67

Çizelge 4.16 : Voltaj 12 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	68
Çizelge 4.17 : Voltaj 11 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	69
Çizelge 4.18 : Voltaj 11 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	70
Çizelge 4.19 : Voltaj 11 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	71
Çizelge 4.20 : Voltaj 10 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi	72
Çizelge 4.21 : Çift katmanlı PCL/SF membranların mekanik özellikleri	80

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 : Tendonun yapısı	3
Şekil 2.2 : Tendon çoklu birimlerinin hiyerarşik yapısı	4
Şekil 2.3 : Tendon dokusunda bulunan fibroblastlar	5
Şekil 2.4 : Tendon Stresss- Strain eğrisi	7
Şekil 2.5 : Yaralanma sonrası tendon iyileşme aşamaları	12
Şekil 2.6 : Doku mühendisliğinin temel bileşenleri	14
Şekil 2.7 : Faz seperasyonu ile nanoyapıların üretimi	25
Şekil 2.8 : Katı serbest form fabrikasyonu indirekt yöntem	29
Şekil 2.9 : Elektro-eğirme düzeneği	30
Şekil 2.10 : Kılcal Boru ucundaki damarların ilerleyerek artan voltaj etkisiyle Taylor Konisi ve jet oluşumu a) polimer damlası artan voltajın etkisiyle yarı küresel formda b,c) Taylor konisine geçiş d)Taylor konisindeki şekli e,f) Taylor konisinden bir jet halinde çıkışı.....	31
Şekil 2.11 : Çözelti konsantrasyonunun boncuksu yapıların oluşumuna etkisi.....	33
Şekil 2.12 : Konsantrasyon- boncuksu yapı ilişkisi	34
Şekil 2.13 : Farklı voltaj değerlerinin Taylor koni formasyonuna etkisi.....	35
Şekil 2.14 : Elektro-eğirme yönteminde lif çapına etki eden faktörler.....	36
Şekil 2.15 : İpek fibronin α -heliks ve β -konformasyonu.....	41
Şekil 2.16 : ϵ -kaprolaktonun halka açılma polimerizasyonu ile PCL sentezi.	42
Şekil 4.1 : İdeal bir yönlenmenin olmadığı, boncuksu yapıların bulunduğu PCL nanofibröz membranlarının SEM görüntüleri	74
Şekil 4.2 : Yönlendirilmiş nanofibrözPCL membranlarınınSEM görüntüleri.....	75
Şekil 4.3 : Yönlendirilmiş nanofibröz İpek Fibroin membranlarının SEM görüntüleri	76
Şekil 4.4 : Çift katlı nanofibröz PCL ve ipek fibroin membranlarından hazırlanan spiral formdaki tendon doku iskelesi.	77
Şekil 4.5 : İpek I ve İpek II yapısındaki membranların FTIR spektrumları	78
Şekil 4.6 : Değişik fiber yönlenme kombinasyonları ile birleştirilen PCL/SF çift katmanlı membranlarının örnek çekme-uzama grafiği	79

YAPAY TENDON OLARAK KULLANILMAK ÜZERE ELEKTRO EĞİRME YÖNTEMİ İLE DOĞAL/SENTETİK POLİMERİK MEMBRANLARIN HAZIRLANMASI

ÖZET

Tendon hasarları bir sportif aktivite veya kaza sonrası sıklıkla karşılaşılan kas-iskelet sistemi problemlerinden biridir. Hafif yaralanmalarda sadece dinlenme ile tedavi edilebilmesi mümkünken kopma, yırtılma gibi daha ciddi durumlarda ileri tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır. Bu tedaviler otogreft, allogreft ya da zenogreft gibi biyolojik greftler ile yapılabilirken, biyobozunur olmayan polimerik sentetik greftlerin kullanılması da diğer bir seçenektir. Ancak hem biyolojik hem de sentetik greftler birçok problemi de beraberinde getirmektedir. Otogreft kullanımında verici bölgenin sınırlı olması ve hasar görebilmesi söz konusuysen, allogreftlerde immün cevap ve hastalık bulaştırma riski en önemli problemdir. Sentetik greftler ise biyobozunur olmadıklarından yeni tendon dokusunun oluşumuna izin vermezler ve bir süre sonra immün cevap artar. Son yıllarda bu tedavi yöntemlerine alternatif olarak doku mühendisliği yaklaşımı geliştirilmiştir. İlgili doku hücrelerinin biyobozunur 3 boyutlu bir destek yapıda büyütülmesi ve hastaya implantına dayanan bu yöntemde, kullanılacak destek yapı yani doku iskelesinin 3 boyutlu yapısı, biyouyumluluğu, biyobozunurluğu ve mekanik uygunluğu istenilen en önemli özelliklerdir. Tendon doku mühendisliğinde de doku iskelesi materyali olarak polilaktat, poliglikolat, polilaktat-glikolat kopolimeri gibi sentetik biyobozunur polimerler ve kolajen, kitosan, aljinat, ipek fibroin gibi doğal polimerler önerilmiştir. Bunlar arasında ipek fibroin biyouyumluluğu, birçok hücre tipinin büyümesini destekleyici özellikleri, yüksek mekanik dayanımı ile öne çıkar. Tendon için 3 boyutlu yapıların hazırlanmasında en uygun yöntemler dokunun yapısı gereği fiber temelli yöntemlerdir. Elektroegirme de bu konuda kullanılan son yılların en ilgi çekici metodlarından biridir. Bu yöntemle nanofiber yapısında membran üretimi mümkündür.

Bu tez kapsamında, sentetik polikaprolakton ve doğal ipek fibroin polimerlerinden hazırlanan yönlendirilmiş fiberlere sahip nanofibröz membranlardan oluşan bir doku iskelesi üretilmesi amaçlanmıştır. Polimerlerden yönlendirilmiş fibröz membran üretimi için elektroegirme yöntemi kullanılmıştır. Elektroegirme proses şartlarının değiştirilmesi ile istenilen yönlenmede nanofiberlere sahip membranlar başarı ile üretilmiştir. Tasarlanan yapıların tendon dokusuna en yakın mekanik özelliklerini belirlemek amacıyla membranlar, nanofiberlerin aynı yönde ve birbirine dik açı yapacak şekilde iki farklı biçimde birleştirilerek spiral hale getirilmiştir. Membranlardaki fiber yönlenmesini ve spiral formda hazırlanan doku iskelelerinin morfolojisini incelemek amacıyla Taramalı Elektron Mikroskobu'ndan

faýdalanılmıştır. Mekanik olarak en iyi kombinasyonun belirlenmesi amacıyla çift katmanlı membranlara çekme uzama testi uygulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tendon, doku mühendisliği, doku iskelesi, biyobozunur polimer, ipek fibroin, polikaprolakton

NATURAL/ SYNTHETIC POLYMERIC MEMBRANES PREPARATION WITH ELECTRO SPINNING METHOD FOR USE IN ARTIFICIAL TENDON

SUMMARY

Tendon injuries are one of the most widely encountered muscle-skeletal system problems caused by sports activity or an accident. The treatment is easy once it is a small defect; however, advanced approaches are needed in more serious conditions such as laceration or tear. While these approaches include using autografts, allografts or xenografts, biodegradable polymeric synthetic grafts are another option for this purpose. It is important to note that both biological and synthetic grafts caused many problems. Tissue engineering approaches are promising as an alternative to the existing treatment options. Tissue engineering is based on a preparation of a 3D biodegradable scaffold seeded by the cells and implantation to the patient. The most critical issues in scaffold design are 3D structure, biocompatibility, biodegradability and mechanical compliance. For tendon repair and regeneration, scaffolds in fiber or membrane shapes made of different synthetic or natural polymers have been suggested. In the present work, it is aimed to design a scaffold consist of aligned nanofiber membranes from two different polymers, namely polycaprolactone and silk fibroin. Aligned membranes from both polymers were obtained by electrospinning. As a result of the optimization of processing conditions, the desired alignment was achieved. To have the proper mechanical characteristics, these oriented membranes were combined in different forms as the fiber orientations are perpendicular or parallel to each other. The combined membrane layers were then rolled and glued at the edges in order to obtain spiral shape scaffolds. Optical microscopy and SEM analysis were used to visualize the alignment of membranes as well as the final spiral structure of the scaffolds. The scaffolds were further tested by mechanically to determine the most convenient structural combination of two membranes.

Keywords: Tendon, tissue engineering, tissue scaffold, biodegradable polymer, silk fibroin, polycaprolactone, electrospinning

1. GİRİŞ

Tendonlar; kasları iskelet sistemine fiziksel olarak bağlayarak istenilen hareketin yapılmasına izin veren, birçok parçanın hiyerarşik düzeninden meydana gelmiş bir çeşit bağlantı dokularıdır. Vücudumuzun birçok yerinde bulunan bu bağlantı dokularında sportif aktivite veya yaralanmalara bağlı olarak birçok hasar oluşmaktadır. Hasarların tedavisinde yaralanma tipine bağlı olarak dinlenme yada cerrahi operasyonlar gerekmektedir. Ancak tendon yaralanmaları sonrasında normal yapı biyolojik ve biyomekanik özelliklerini kaybettiği için tedavi sonrasında tendonun orijinal hiyerarşik yapısı tekrar geri kazanılamamaktadır. Tamir sonrasında fonksiyon kaybı, yeniden kopma ve tendonda dejenerasyon gibi komplikasyonlar sıklıkla görülebilmektedir. Ayrıca tendon hasarları sonrasında rehabilitasyon süresinin 8-12 hafta kadar sürmesi ve komplikasyonların fazla olması ayrıca bir sosyoekonomik problemdir [1].

Tendon onarımı üzerine yapılan birçok çalışmaya rağmen halen istenilen sonuçlar alınamamıştır. Bu durum tendon hasarları için yeni yaklaşımların geliştirilmesine yol açmıştır. Bunlar arasında en ilgi çekici olan tendon doku mühendisliğidir. Bunun sebebi, tendon doku mühendisliğinde hasarlı tendonun fiziksel olarak kısmi yenilenmesi yerine fiziksel ve biyolojik olarak tam bir rejenerasyonun amaçlanmasıdır [2].

Tendon doku mühendisliğinin en önemli bileşeni başlangıçtaki doku büyümesini destekleyecek olan doku iskelesidir. Doku iskelesi hücre çoğalması, hücre dışı matriks üretimini destekleyerek tendojenezi arttırabilir. Bunun yanı sıra doku iskelesi, uygun hücreler ve büyüme faktörleri, peptidler gibi biyosinyal moleküller ile birleştirilerek tendojenezin dolayısıyla yeni ve fonksiyonel tendon dokusunun oluşumunu arttırabilir [3].

Tendon doku mühendisliğinde doku iskelesi olarak poliglikolik asit, polilaktik asit, polilaktik-glikolik asit kopolimeri gibi senetik biyobozunur polimerlerin yanısıra

kolajen, kitosan, ipek fibroin gibi doğal polimerler de önerilmiştir [2]. Bu tez çalışmasında birçok doku mühendisliği uygulamasında kullanılan biyobozunur bir malzeme olan polikaprolakton kullanılmıştır. Düşük camsı geçiş sıcaklığı (-60°C) oda sıcaklığında elastik özellik göstermesini sağlar ki bu da tez çalışmasında tasarlanacak olan doku iskelesinde tendon dokusunda olduğu gibi bir elastiklik kazandırması bakımında önemlidir. Tez çalışmasında kullanılacak diğer bir polimer olan ipek; biyobozunurluğu, biyouyumluluğu, termal kararlılığı, proses kolaylığı, yüksek mekanik dayanımı gibi özellikleri ile öne çıkmaktadır.

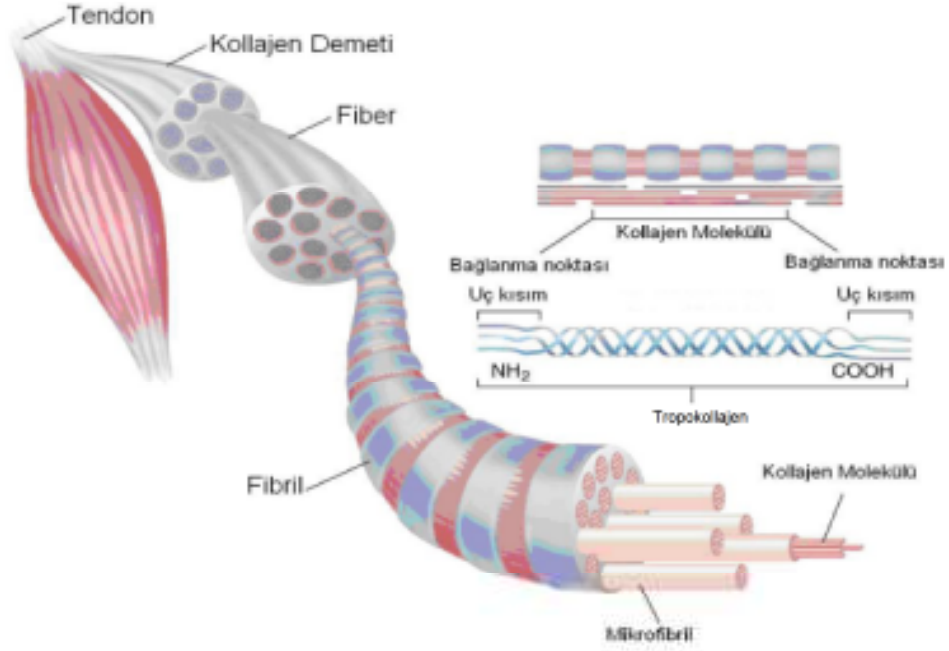
1.1. Tezin Amacı

Bu tez çalışmasının amacı; bir travma veya spor yaralanması sonucu oluşan tendon hasarlarının doku mühendisliği yaklaşımı ile daha iyi (hızlı ve kaliteli) tedavisini sağlamak amacıyla yeni bir morfolojik yapıya sahip (spiral şeklinde) doku iskeleleri tasarlamaktır. Bu kapsamda, hücre büyümesini destekleyici özelliğe sahip olan ve mekanik dayanımı yüksek ipek fibroin ile elastik özelliği yüksek polikaprolakton polimerinden elektro-eğirme yöntemi ile yönlendirilmiş nanofiber yapısında membranlar üretilecektir. Yapılarında yer alan nanofiberler aynı yönde, birbirine dik ve düzensiz formda olacak şekilde birleştirilmesinin ardından spiral bir morfoloji kazandırılarak membranların mekanik özelliklerinin artırılması amaçlanmaktadır. Elde edilen çift katmanlı doku iskelelerinin morfolojik açıdan karakterizasyonu Taramalı elektro Mikroskobu (SEM) ile yapılacaktır. Yapısal analiz için Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR) kullanılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tendonun Yapısı

Tendonlar, kas dokusunda üretilen gücü iskelet sistemine aktaran yapılardır. Bu yapılar yerleşim yerlerine göre farklılıklar göstermekle birlikte ortak noktaları kemikte bir yapışma yerlerinin olması ve bu sayede büyük yüklerin gerginliğini minimal deformasyonla taşımalarıdır.

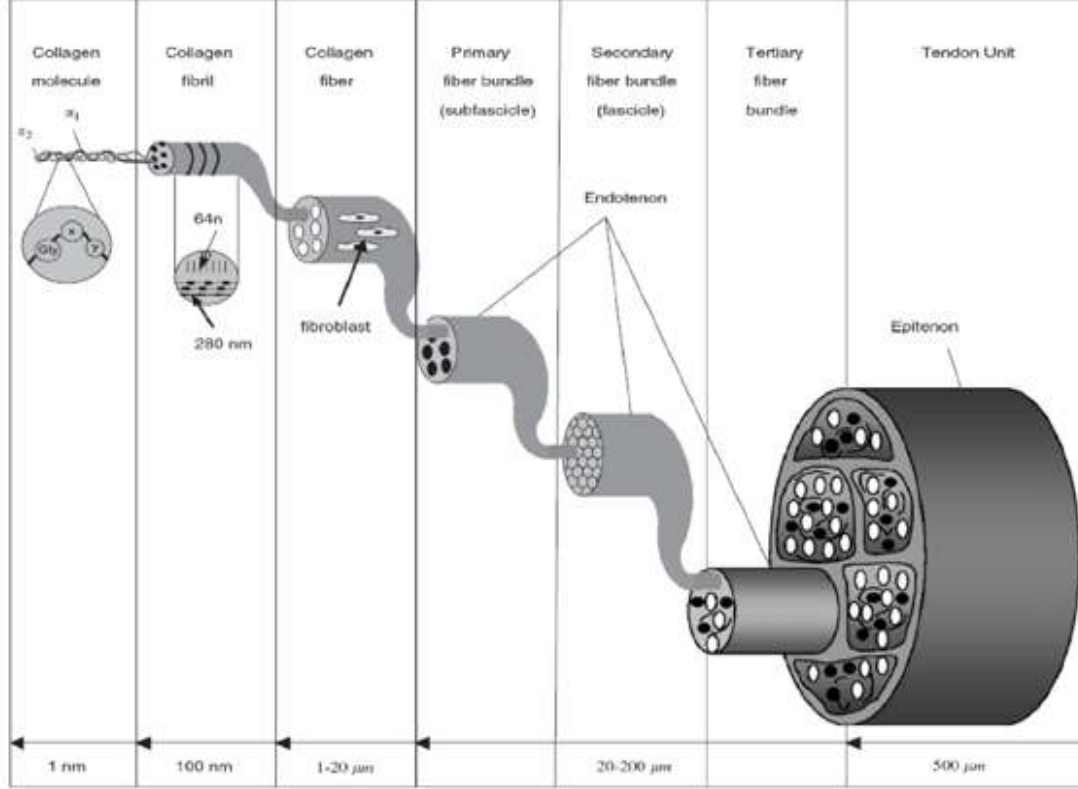


Şekil 2.1 : Tendonun yapısı

Tendon kollajen molekülleri, fibriller ve fiber demetlerinden oluşan hiyerarşik bir yapıya sahiptir. Kollajen molekülleri tropokollajenin üçlü heliks diziliminden oluşmuşlardır. Tendonun ana yapı taşı olan kollajen molekülleri fibroblastlar tarafından üretilir. Kollajen moleküllerinin uç uca bağlanması ile tendonun en küçük

yapısı olan fibriller oluşmaktadır. Fibril çapları yaşa, türe ve buldukları bölgeye göre 10-500 nm arasında değişimler gösterebilmektedir [4].

Kollajen fibrilleri fiber demetlerini oluşturmak için bir araya geldiklerinde endotenon ile kaplanırlar. İnce bir tabaka olan endotenonda kan damarları, lenfler ve sinirler bulunur [5].



Şekil 2.2: Tendon çoklu birimlerinin hiyerarşik yapısı

Fiber demetleri fasikülü oluşturmak için bir araya geldiklerinde epitenon ile kaplanırlar. Epitenon kasın kasılması sırasında kollajen fasiküllerinin kendi üzerinde kaymasına yardımcı olur. Epitenon ile kaplanan fasiküller bir araya gelerek tendonu oluştururlar. Son olarak tendonlar üçüncü bir kılıf olan paratenon ile kaplanırlar. Oldukça kalın bir bağ dokusuna sahip paratenon tendonun beslenmesini sağlamakla görevlidir [6]. Hiyerarşik bir yapıya sahip tendonu oluşturan fiber demetlerinin uzun bir eksen boyunca belli bir düzende dizilmeleri çekme dayanımlarını arttırmış, esneme özelliklerini zayıflatmıştır.. Tendonların uzunlamasına kesitlerinde kolajen üretiminden sorumlu fibroblastlar Şekil 2.3'te kıvrımlı yapıda görülebilmektedir [7].



Şekil 2.3: Tendon dokusunda bulunan fibroblastlar

2.2. Tendon Bileşimi

Tendonlar kollajenler, proteoglikanlar, glikoproteinler, su ve hücrelerden oluşmaktadır. Tendonlar kollajen bakımından zengin olup yapılarında en çok tip I kollajen bulunmaktadır. Tip I kollajen tendon kuru ağırlığının %60'ını oluştururken, toplam kollajen miktarının ise %95'ini meydana getirir [8]. Geri kalan %5'lik kısım tip III,V kollajenlerinden oluşmaktadır. Sağlıklı bir tendonda tip III kollajen daha çok endotenon ve epitenon yapısında bulunur [9].

Tip III kollajenler küçük ve daha az yönlenmiş yapılardan oluştuğu için tendonun mekanik direncini azaltan bir etki yaparlar [10]. Tip V kollajenler Tip I kollajen fibrillerinin merkezinde ara tabaka oluşturarak fibrillerin büyümesini düzenlerler [11]. Diğer kollajenler tip II, IV, IX, X ve XI dahil olmak üzere tendonda eser miktarda bulunurlar. Bu kollajenler özellikle kemiklerin eklem yerlerindeki fibröz kıkırdak dokusunda bulunurlar. Ara yüzeydeki doku gerilimini azaltarak eklem yerlerindeki bağlantıyı güçlendirmekle görevlidirler [12].

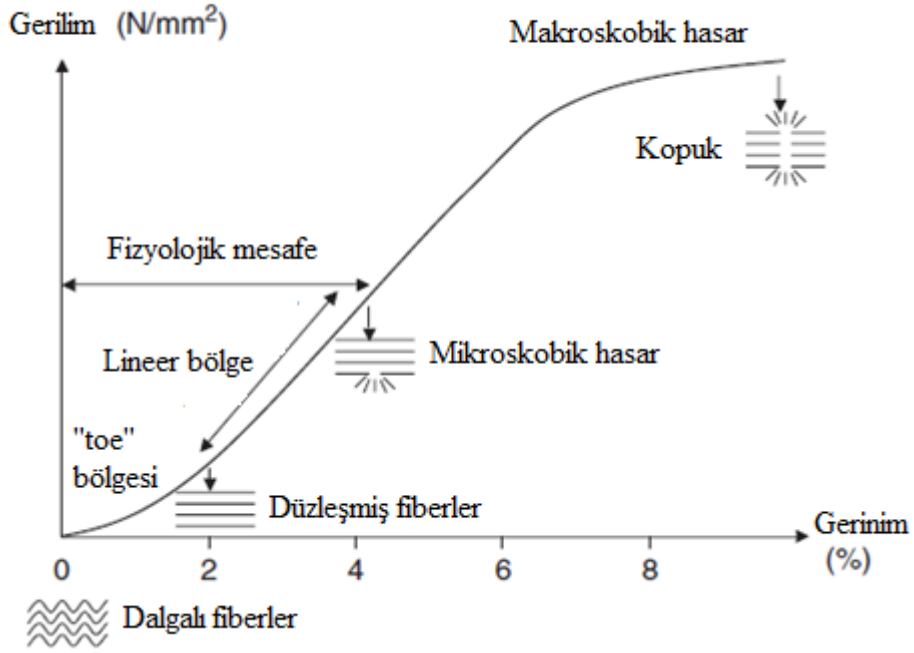
Kollajen fibrillerinin temel bileşimini oluşturan tropokollajen molekülleri suda çözünebilir moleküllerdir. Bu moleküller aralarında oluşturdukları çapraz bağlar sayesinde suda çözünmeyen kollajen fibrilleri oluştururlar. Tropokollajen molekül ağırlığı yaklaşık 300,000 dalton olan bir protein molekülüdür. Aynı boyda ve yaklaşık 1000 aminoasitten oluşan 3 polipeptid zincirinden oluşmuştur. Zincirlerde bir NH_2 (α) bir de COOH^- (β) ucu bulunur. α ve β uçlarını içeren prokollajen

moleküllerinin birbirlerine eklenmesi ile kollajen fibrilleri oluşur. Uç uca eklenen tropokollajen molekülleri asimetrik uçlara sahiptir. α uçları uzun ve ince, β uçları kısa ve kalındır (Şekil 2.1) [13].

Hücre içerisinde üretilen tropokollajen paketleri, tendonun oluştuğu ekstrasellüler matrikste, gelişimlerini sürdürürler. Tendonun gelişimine bağlı olarak tropokollajen moleküllerinden oluşan kollajen fibriller, ekstrasellüler boşluğu doldururlar. Bu aşamadan sonra hücrel reaksiyonlar yalnızca fibriller arasında devam eder [14].

2.3. Tendon Mekanik Özellikleri

Tendonlar in vivo içerisinde birçok mekanik kuvvetlere maruz kalırlar. Bu nedenle tendonlar; kendilerine eşsiz mekanik bir dayanım sağlayan oryante olmuş fiber yapılarına sahiptir. Bu yapılar aynı zamanda tendonda viskoelastik bir karakteristik özellik katmaktadır [15]. Tipik bir tendonun gerilim- gerinim eğrisi üç ayrı bölgeden oluşur (Şekil 2.4): (1) Kollojen fiber yığınlarının elektron mikroskopuyla görünür hale geldiği kıvrım ya da zigzag düzeninin gerinimine karşılık gelen, tendonun %2'ye kadar gerindiği bir "toe bölgesi" mevcuttur (şekil 2.4). Bu düzen gerilim altında kaybolur ve gerilimden hemen sonra tekrar ortaya çıkar. Bu durumun sağlanması için elastin fiberler ekstrasellüler matris (ECM) içerisinde mevcuttur ve gerilmiş kollajenlerin rahatlama bölgesine geri gelişinden sorumludur. Kıvrımlı ya da zigzaglı yapının açısı ve uzunluğu; tendonun tipine ve bulunduğu yerdeki konumuna bağlı olarak değişmektedir. Bu değişim aynı zamanda tendonun sahip olduğu mekanik özellikleri etkilemektedir. Örneğin, küçük kıvrım açısına sahip fiberler, geniş açılı fiberlere göre daha düşük mukavemet özelliği göstermektedirler[15]. (2) Toe bölgesinin hemen ardından tendonun %4'den daha az gerildiği "lineer bölge" başlar. Bu bölgenin eğimi sabittir ve Young modülü veya sertlik olarak adlandırılır. Artık bu noktada kollojen fiber yığınları dalgalı yapıda değildir. Eğer tendon %4'den daha fazla gerilirse tendon fiberlerinde mikroskobik yırtılmalar meydana gelir.(3) Lineer bölgenin ötesinde, tendonda meydana gelen %6 ve üzeri gerilmelerde makroskobik düzeyde yetersizlikler meydana gelmeye başlar. Daha fazla gerilim de ise tendon kopukları meydana gelir. Bu noktadan sonra kaslardan üretilen gücün iskelet sistemine iletilmesi sıfıra iner [16].



Şekil 2.4:Tendon Stress- Strain eğrisi

Çeşitli çalışmalarda tendonun in vitro ortamında mekanik özellikleri test edilmiştir. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda; genç donörler için (29-50) patellar tendonundaki maksimum gerilme direnci 64.7715 MPa iken daha yaşlı donörlerde (64-93) 53.6710 MPa olduğu ortaya konulmuştur. Young modülüsün değeri genç ve yaşlı tendonlar için sırasıyla 6607266 MPa ve 5047222 MPa olarak bulunmuştur [17].

Tendonun mekanik özellikleri; kollojen fiberlerin mekanik karakteristikleriyle, moleküler seviyede ilişkilidir. Birçok değişkenin karmaşık ilişkileri sonucu olan tendonun viscoelastik davranışı, yaşa ve hareketsel aktiviteye bağlıdır. Tendonlar normal durumlarda, yetersiz kalmazlar ya da kopmazlar, bu nedenle tendonun gerilim gevşemesi, sürünmesi, kesiklilik döngüsü ve viscoelastisitesi dahil olmak üzere fiziksel özellikleri lineer bölge içinde ölçümlendirmek daha uygun olacaktır. Fonksiyonel parametrelerin dizayn edilmesinde; sertlik ve maksimum kuvvet gibi parametrelerin kıyaslanmasından ziyade in vivoda ki fonksiyonların temel alınmasını gerekmektedir [18].

2.4. Tendon Hasarları

Tendon hasarları yaralanma tipine bağlı olarak genel anlamda 3 gruba ayrılmaktadır.

-Gerilme

-Kismi yırtık

-Tam yırtık

Gerilme sakatlıkları aşırı kullanım rahatsızlıklarında sıklıkla görüldüğü gibi ani gerilim ve sürekli tekrarlanan mikrotravmaların sonucunda oluşabilmektedir. Bu tür rahatsızlıkların tedavisi daha çok dinlenme yolu ile sağlanabilmektedir.

Tendonun aşırı kullanımı veya tendona aşırı gerilim yüklemesi sonucu hem kas-tendon kesişim bölgesinde hem de iskelet-tendon kesişim bölgelerinde hasarlar oluşabilmektedir. Bu tip hasarlar zorlanmaya bağlı kısmi yırtıklar, tam yırtıklar veya tendonun kemikten ayrılması gibi cerrahi yöntemler gerektiren sağlık problemlerine yol açmaktadır [19].

Tendonun aşırı kullanımından kaynaklanan ve genel olarak tendinopati olarak adlandırılan hasarlar iş dünyasında ve atletizmle ilgili alanlarda milyonlarca insanı etkilemektedir [20]. Bununla birlikte travmaya bağlı olmayan aşırı kullanım hasarları ile ilgili de çalışmalar vardır. “Aşırı” kullanım kelimesi; tendonun sürekli ve tekrarlı gerilimi ile oluşan ve tendonun daha sonraki gerilimlere dayanımında yetersizliklerle neden olması şeklinde açıklanmaktadır [21]. Tendinopatinin çoğunlukla; asil etkiler, ikincil etkiler ya da kombinasyonları neticesinde ortaya çıktığı düşünölmekle beraber, aşırı mekanik yüklemenin esas hasar etmeni olduğu düşünölmektedir. Tendon yetersizlik eşiğinin altında kalan az miktardaki sürekli tekrarlanan gerilimlerin, tendonlarda mikro hasarlara ve daha sonra ortaya çıkan tendon iltihaplarına neden olduğuna inanılmaktadır [22].

Tendonun kullanılmaması veya hareketsizliğinin tendon hasarları üzerine etkisinde incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda bir grup tavşanın diz eklemi 4 hafta boyunca sabit tutulmuş ve iyileşmekte olan aşil tendonu incelenmiştir. Tavşanların ayaklarını kullanmamaları sonucunda, iyileşmekte olan aşil tendonunun karşılayabildiğı maksimum yük, kontrol tendonuyla karşılaştırıldığında eskisine oranla azalma meydana gelmiştir. Ayrıca hareketsizlik; düzensiz ve kararsız kollojen fiberlere,

irilemiş damar ve kılcal damar düzenlerine neden olmuştur [23]. Hareketsizlik nedenli gerilim kaybının, tendonlarda geri döndürülemez değişikliklerden sorumlu olduğu düşünülmektedir [24]. Yapılan diğer bir çalışmada, tavşan patellar tendonunun üç hafta boyunca hareketsiz kalması sonucu patellar tendonun Young modülü ve gerilim direncinde belirgin şekilde azalma olmuştur [25].

2.5. Tendon Tedavisi

Tendon sakatlıkları genelde normal ve cerrahi yaklaşım olmak üzere iki şekilde ele alınmaktadır. Normal yaklaşımda fizyoterapik ve kortizonlardan oluşan çeşitli ilaçlar ve iğneler de dahil olmak üzere dinlenme ve ağrılardan kurtulma yer alır. Yine de tendonların kendi kendine iyileşmesindeki sınırlı yeteneklerinden dolayı, bu çeşit bir tedavi yaklaşımı; uzun tedavi süreleriyle, etkilenmiş bölgedeki muhtemel güçsüzlükle, tekrarlanan sakatlıklarla ve kısmi işlev kayıplarıyla sonuçlanabilir [26]. Doğal dokunun tekrar oluştuğu yerde, tekrar modellenmesine rağmen, iyileşmiş tendonun biyokimyasal ve mekanik özellikleri asla ilk hali gibi olmamaktadır. Bu da sıklıkla derin ve yoğun bir rehabilitasyon sürecini beraberinde getirmektedir [27].

Özellikle ciddi sakatlıklarda sıklıkla düşünülen bir diğer tedavi yöntemi de cerrahi müdahaledir. Cerrahi müdahale şekli perkütan veya açık teknikler şeklinde uygulanabilmektedir. Bu yöntemler kullanılarak hasarlı tendonun dikilmesi sağlanmaktadır. Hasar kapsamına bağlı olarak tendon nakli ise zaman zaman uygulanan bir diğer yöntemdir [28]. Yine de bu durum birçok dezavantajı beraberinde getirir. Tendon tedavisindeki yapay implantlar rekonstrüktif operasyonlarda nispeten daha başarılıdır ama mekanik özelliklerinin zamanla azalmasıyla birlikte sınırlı ömre sahiptirler. Yapay parçacıklardaki bir diğer dezavantaj da ani tepkilerdeki sınırları, antijenik reaksiyonları, tedavi alanlarında yetersizlikleri ve uzun vadede biyo-uyumluluklarının sınırlı olmasıdır [29,30]. Sentetik doku yamalarının en önemli dezavantajlarından birisi de in vivo'daki tendon dokularının fonksiyonlarında beklenen adaptasyonları sağlamada yetersiz kalmalarıdır [31]. Allograftların kullanımı pahalı ve vücut tarafından reddedilme riski taşıdığı için yaygın değildir [60]. Ototograft doku yamaları ise bağışıklık açısından uygundur fakat sık sık donörlerin uygunluğu ile birlikte düşünülmesi gerekmektedir [32].

Sakatlıktan sonra normal tendon fonksiyonlarının yenilenmesi için tendon ile etrafındaki yapı arasında, tendon fiberlerinin ve kayma mekanizmasının tekrar oluşturulması gerekmektedir [33]. Onarımın başlangıç evresi, hasarlı bölgede yaralı doku düzeninin kararlılığının sağlanmasını gerektirir [34]. Hasarlı bölgenin kararlı olması gerekli olmakla beraber, hareketliliğin hassaslığı ve mekanik yüklemeler çok önemlidir. Çünkü cerrahi operasyon sonrası iyileşmeye bağlı olarak zamanla tendonun mekanik gücünde artma olacaktır. Tendon sakatlığında sonra, vücut içerisinde oluşan hücresel ve biyokimyasal süreçler ayırtedilebilir ardışık evrelerden oluşmaktadır. Onarımın ardışık basamakları, 3 safhanın ilerlemesiyle meydana gelir: doku iltihaplanması, hücre poliferasyonu ve yeniden yapılanma (Şekil 2.5) [35].

2.5.1. İltihaplanma safhası

Hasarlı bölgede; tendon kılıfının neden olduğu hematoma oluşur. Gelişen hemostaz mekanizması bazı damar genişleticilerin, trombositlerin ve mast hücrelerinin aktivasyonuna ve iltihapsal kimyasalların salınmasını sağlar. Eritrositler, trombositler, nötrofiller, monositler ve makrofajlar; pıhtı, hücre kalıntıları ve yabancı vücut maddelerinin fagositler tarafından rezorbe edildiği ve içine çekildiği yaralı bölgeye hareket ederler. Göç eden iltihabi hücreler fibroblast olarak farklılaşır. Fibroblastlar, bölgede çok hücreli matriks yapının birçok bileşenini sentezlemek için çalışırlar[36]. Anjiyogenik faktörler bu safha esnasında salınırlar ve damar ağını düzenlemeye başlarlar. Bu süreçler esnasında, hasarlı bölgede sürekliliği ve kısmi kararlılığı sağlayan DNA ile çok hücreli matriks(ECM) sayılarında artışı beraberinde gelmektedir. İltihaplanma safhası 3 ile 5 gün arası süren bir dönemdir [37].

2.5.2. Proliferasyon (hücre çoğalma) safhası

Baskın hücre topluluğu tenositlerdir. Bu dönemde kollajen sentezinde hızlı bir artış olur. Fibroblastların yaralı bölgede devam eden çalışmaları ve hızla çoğalmaları ile çok hücreli matrikslerin (ECM) kollojenlerinin, proteoglikanlarının ve diğer bileşenlerinin sentezleri sağlanır. Bu bileşenler ECM içinde ilk olarak rastgele bir şekilde düzenlenir ki bu noktada çoğunlukla Tip III kollojeni meydana getirirler [38]. Kapsamlı bir kan damar ağı oluşur ve hasarlı bölgede yara izine benzer bir oluşum gözlenir. Poliferasyon safhasının sonunda onarılan doku, fazla miktarda hücresi olan ve nispeten büyük miktarda su ve ECM bileşenleri içeren bir yapıdadır. Proliferasyon safhası 3 ile 6 hafta arası süren bir dönemdir [39].

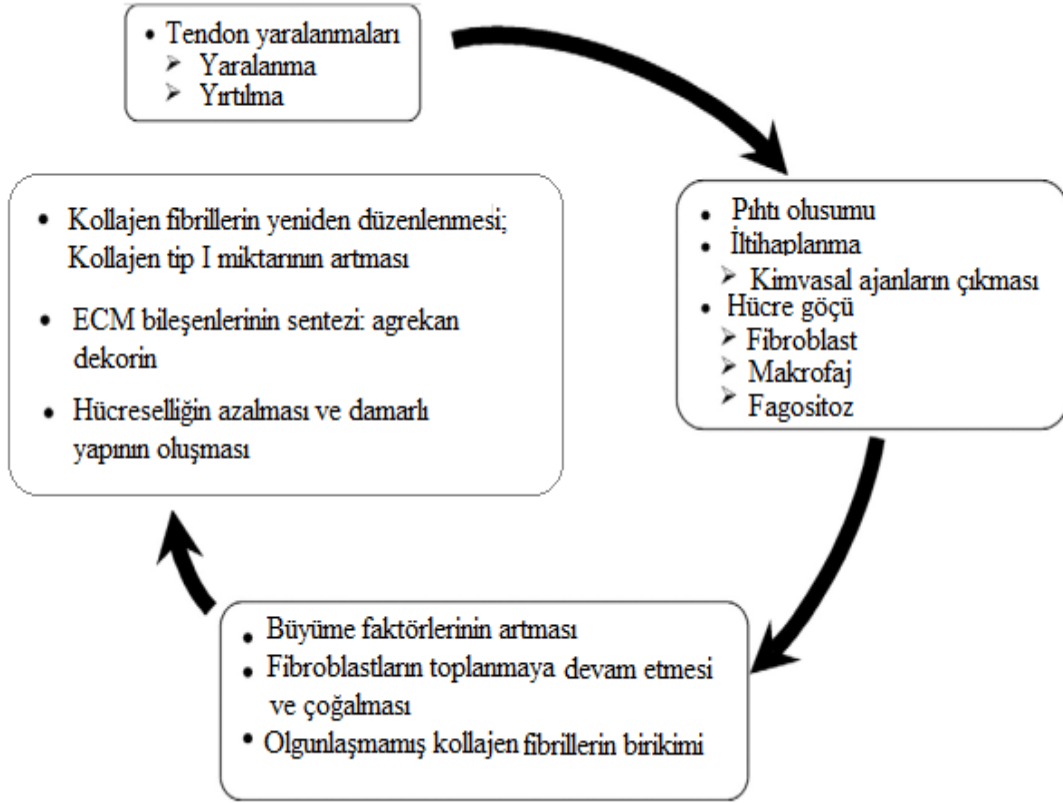
2.5.3. Yeniden yapılanma safhası

Yeniden yapılanma safhası sakatlıktan 6-8 hafta sonra başlar. Bu safha; hücrel yapının, matriks sentezinin, tip III kollojeni sentezinin azalması ve tip I kollojen sentezinin artmasıyla karakterize edilir. Tip I kollojen fiberleri tendona paralel olacak şekilde uzunlamasına yerleşirler ve iyileşen dokunun mekanik dayanıklılığından sorumludurlar [40].

Yeniden yapılanmanın ileri safhası esnasında kollojen yapı birimleri arasındaki etkileşim, daha yüksek tendon sertliğine ve dolayısıyla da daha fazla gerilme direnci sağlar iken iyileşen doku ne olursa olsun normal tendonun karakteristik özelliklerine ulaşamayacaktır. Tendon iyileşmesini açıklamak için iki farklı model ileri sürülmektedir.

Dışsal İyileşme: Tedavinin başlatılması, ilerletilmesi, onarımı ve yeniden yapılanmasından sorumlu fibroblastların ve iltihap hücrelerinin çevreden ya da dış hücre kaynaklarından, iyileşen bölgeye taşınmasını kapsar. Kısacası fibroblast ve iltihap hücrelerinin hasarlı bölgeye tendon dışından ilerlemesi şeklinde özetlenebilir. Bu süreçte dokunun etkili bir şekilde iyileşmesi için iyi kurulmuş damar ağına gereksinim duymaktadır.

İçsel İyileşme: İçsel iyileşme; hücrelerin yaralı bölgede epitenon ve endotenonlarda yer değiştirilmesi ve çoğaltılması gibi bir mekanizma üzerinden gerçekleşir. Bu hücreler ekstraselüler matrisi(ECM) ve yeni oluşan dahili damar ağlarını oluştururlar. Tendonun vücuttaki yeri, travmanın boyutu ve cerrahi müdahale sonrası hareketler gibi bir çok faktöre bağlı olan iyileşme olayına her iki mekanizma da dahil olmaktadır. Dışsal iyileşme mekanizması, içsel mekanizmaya göre daha hızlı etkin hale gelir ve yüksek hücre yapısında olan düzensiz kollojen matrikslerin ve yüksek su içeriğinin hasarlı bölgedeki başlangıç adhezyon düzeninin oluşumundan sorumludurlar. Tam tersi olarak içsel iyileşme mekanizması kollojen fiberlerin ve fibrillar devamlılığın bakımından sorumludur [41].



Şekil 2.5:Yaralanma sonrası tendon iyileşme aşamaları

Tendonların iyileşme süreleri bazı faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Bu faktörler ;

- I. Zedelenen bölgenin büyüklüğü
- II. Tendon ve çevre dokuların kanlanmasını bozan özellikle ezilme şeklindeki zedelenmeler
- III. Hastanın yaşı, cinsiyeti, hormonal durumu, sistematik hastalık varlığı
- IV. Kopuk uçlar arasındaki mesafenin fazlalığı
- V. Uygulanan tedavi yöntemi şeklinde sıralanabilir.

İyileşme dokusunun yerini dolduracağı dejenerasyon bölgesinin büyüklüğü önemli bir faktördür. Uçlar arasındaki mesafe ne kadar küçük olursa iyileşme süresi de o kadar kısa olacaktır. Cerrahi tedavi bu amaçlara ulaşmada bir takım avantajlar sağlayabilmektedir. Ancak cerrahi yönteminde kendine göre birçok dezavantajları bulunmaktadır. Cerrahide kullanılan teknik ve materyalin iyileşme üzerinde etkisi yüksektir [41].

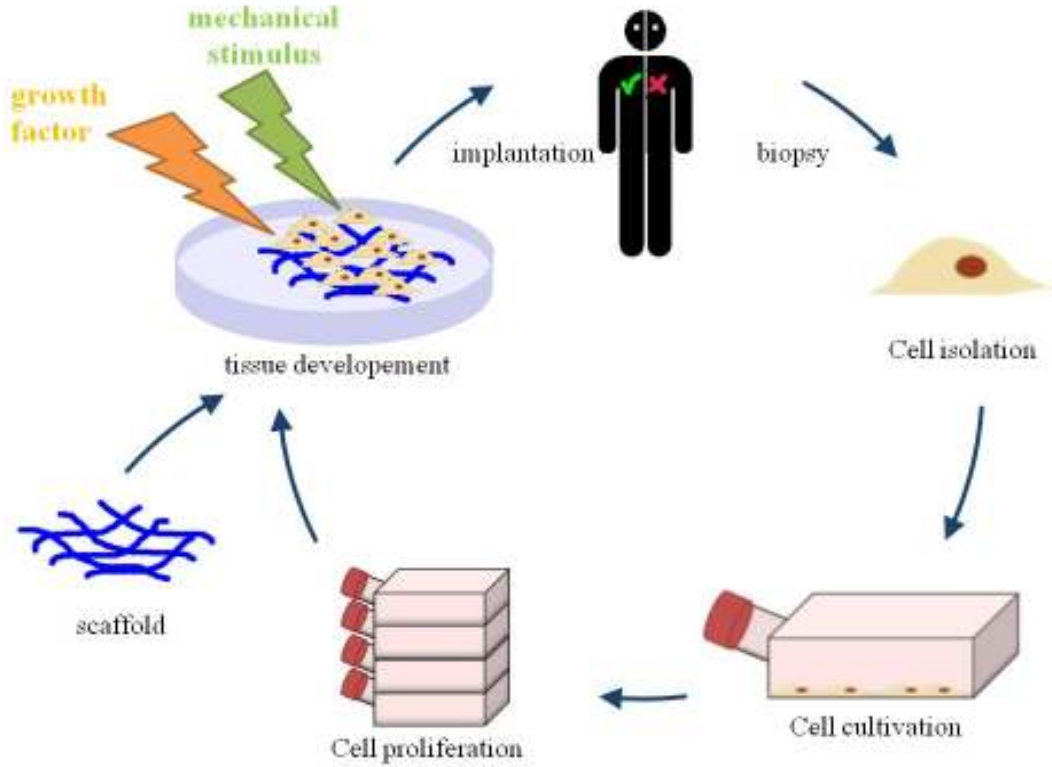
2.6. Doku Mühendisliği

Doku mühendisliği çeşitli nedenlerle vücutta meydana gelen işlev eksikliklerinin giderilmesi ya da iyileştirilmesi için hücrelerin, mühendislik malzemelerinin ve gerekli biyosinyal moleküllerinin bir araya getirilmesi olarak tanımlanmaktadır. Hasarların tedavilerine, disiplinler arası bir yaklaşım sunan doku mühendisliği, mühendislik prensiplerini ve yaşam bilimlerini sinerjik bir şekilde birleştirmektedir [42].

Doku mühendisliğinin ilk zamanlarındaki gelişiminin içeriği yapay biyomateryallerin gelişimi ile paralel olarak gerçekleşmiştir. 1960'ların başında; yanık hastaları için yapay deri ortaya çıkan bir tedavi yöntemiyeen sonrasında yanık tedavisinde, sentetik liflerden yapay deri aşılması oluşturulmaya çalışılmıştır. 70'lerin başında, özel bir kompleks heparin kılıfı uygulanıp kanın pıhtılaşmasının önlenmesi amaçlanarak, yapay yüzeylerin implantlarda kullanılması üzerinde yoğunlaşmıştır. Önemsenen diğer durumlar ise toksikoloji profilleri ve implantlar veya doku mühendisliği için göz önüne alınan organik polimerlerin değişkenliğinin uygunluğu ve yapay deri için yeni jellerin geliştirilmesiydi. 1980'lerde doku mühendisliği ve biyomateryal ilgi alanları patlama yapmış ve dünyanın dört bir yanında birçok bilinen üniversitede biyomedikal mühendisliği bölümleri açılmıştır. Yapılan bu çalışmalar sonucunda 1981'de çeşitli yöntemler kullanılarak şiddetli yanık bir bölgeye silikon yapılı bir deri monte edilmiştir. Gelişen doku mühendisliği yalnızca deri nakilleri ile kalmamakta, canlı hücrelerin, doku ve organların dış ortamda yetiştirilmesi ile organ nakillerine de yardımcı olmaya başlamış durumdadır.

Günümüzde doku mühendisliğinin özünü; yeni dokuların oluşturulması için büyüme faktörleri ya da laboratuarda büyütölmüş hücrelerin bir materyal yoluyla istenilen bölgeye gönderilmesi yöntemleri oluşturmaktadır. Büyüme faktörlerinin kullanıldığı yaklaşımında; doğru dozdaki uygun faktörün belirli bir süre boyunca doğru yere gönderilmesiyle o bölgedeki hücrelerin bölgeye toplanması ve çoğalması amaçlanmaktadır. Bu hücreler daha sonra istenilen bölgedeki dokuların onarımında veya yeniden oluşumunda görev almaktadır. Diğer yöntem ise laboratuarda büyütölmüş hücrelerin, yeni doku veya organ oluşumunun istendiği yere

yerleştirilmesidir. İki stratejide de sentetik maddeler hücrelerin veya moleküllerin istenilen bölgeye gönderilmesinde görev alırken yeni oluşan dokuya mekanik destek sağlamak için yapı iskelesi görevi de görmektedirler [43]. Alternatif bir tedavi şekli sunarak doku oluşumu sağlamayı amaçlayan doku mühendisliği, hastanın kendisinden elde edilen sağlıklı hücrelerin kontrollü kültür koşullarında, doku iskelesi adı verilen, hasara ve hasarın bulunduğu dokuya özgü tasarlanmış destek yapılarına ekilmesi ve elde edilen hücre-biyomalzeme birleşimlerinin hasarlı bölgeye yerleştirilmesiyle, doku rejenerasyonunun gerçekleştirilmesini sağlamaktadır. Bu amaç doğrultusunda doku mühendisliği; doku iskeleleri, hücreler ve sinyal molekülleri olmak üzere üç temel bölümden oluşmaktadır (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Doku mühendisliğinin temel bileşenleri

Hücreler sağlıklı yaşayabilmek için doğal ortamlarına benzeyen yapay bir matris içinde bulunma ihtiyacı hissederler. Bu matris hücrelerin yaşaması için gerekli olan besin, oksijen ve mekanik desteği sağlamalıdır. Bir başka deyişle hücreler ile aynı dili konuşabilecek bir malzeme oluşturulması gerekir.

İnsan vücudu hiyerarşik biçimde düzenlenmiş kompleks bir yapıdadır. İnsan vücudu sistemlerden, sistemler organlardan, organlar dokulardan, dokular ise hücreler ve hücre dışı matristen (ECM) oluşmaktadır. Hücre dışı matris, hücreler için üç-boyutlu bir mikro-çevre oluşturmaktadır. Hücre dışı matris (ECM) hücrelere fiziksel bir destek sağlamasının yanı sıra hücre-hücre etkileşimlerini organize etmekte ve hücrelerin yapışması, göçü, çoğalması, farklılaşması ve matris birikimi için çeşitli biyokimyasal ve biyofiziksel uyarıları yapmaktadır. Doku iskeleleri ECM'yi taklit edecek biçimde tasarlanan yapılardır. Kısacası, yapay bir "hücre dışı matris" olarak düşünülebilmektedir[44].

Yeni bir dokunun oluşturabilmesi için birçok koşulun aynı anda sağlanması gerekmektedir. Bunlar içersinde en önemlisi, doku iskelelerinin dokunun orjinal hücre dışı matris yapısını yansıtabilmesidir. Çünkü vücuttaki dokular birbirini tekrar eden nano ve mikro düzeydeki yapılardan oluşmaktadır ve dokunun bu üç boyutlu mimarisi, hem kimyasal hem de fiziksel özellikleri sayesinde, hücre içi ve hücreler arası proseslerin yürümesini sağlamakta, gerekli mekanik bütünlüğü ve dokular arası koordinasyonu oluşturmaktadır. Vücut dışında bu koşulların sağlanması için doku iskelelerinin yapıldığı malzemeler ve üretim yöntemleri çok büyük önem taşımaktadır.

Doku oluşumunda çok büyük etkisi olan doku iskeleleri, hücreler için geçici bir yapay hücre dışı matris sağlayacak şekilde tasarlanan 3-boyutlu yapılardır. Bu yapıların kullanımıyla hem hasarlı bölgeye yapısal destek sağlanmakta, hem de vücudun kendini yenileme potansiyeli desteklenmektedir. Doku mühendisliğinin üç temel bileşeninden biri olan doku iskeleleri, oluşan dokunun yapısal, mekaniksel ve fonksiyonel olarak eski doku ile aynı özellikleri taşımasını sağlamaktadır. Doku iskelesi üretiminde kullanılacak malzemelerin seçimi de çok önemlidir. Malzemeler vücut içine yerleştirildiğinde istenmeyen doku tepkilerine yol açmayacak şekilde biyouyumlu olmalıdır. Malzemeler, hücre yapışmasını, büyümesini ve farklılaşmasını destekleyecek uygun yüzey kimyasına sahip olmalı ve ev sahibi doku ile iyi bir şekilde bütünleşebilmelidir [44]. Aynı zamanda bu malzemelerin ucuz, kolay üretilen ve kolay saklanabilen malzemeler olmaları da gereklidir [45].

Doku iskelelerinin sahip olması gereken diğer bir özellik ise uygun gözenekliliğe sahip olmalarıdır. Üç boyutlu doku iskelelerinin besin maddelerinin akışını ya da

difüzyonunu destekleyecek, hücre göçüne izin verecek şekilde içsel bağlantılı açık gözeneklere ve yüksek gözeneklilik oranına sahip olmaları gerekmektedir. Gözenek boyutlarının küçük olması gözeneklerin hücreler tarafından kapatılmasına neden olmakta ve bu durum da hücrel penetrasyonu ve iskelede damarlaşmayı olumsuz etkilemektedir. In-vivo koşullarda hücre ile kapiler damarlar arasındaki mesafe 20 ile 200 μm arasında olduğu için difüzyon prosesi ile yeterli miktarda besin ve oksijen transferi gerçekleşmektedir [46]. Hücrelere yeterli oksijen ve besin sunmak için benzer mesafe aralığı (100-200 μm) in-vitro ortamda da sağlanabilmelidir. Özellikle kemik doku mühendisliğinde doku iskelelerinin %90 gözeneklilik oranına ve en az 100 μm gözenek çapına sahip olmaları hücrelerin penetrasyonu ve büyüyen dokunun uygun şekilde damarlaşması için gereklidir[47]. Ayrıca, kararlı sıcaklık ve pH koşulları, sabit oksijen ve besin kaynağı, hücre ekilmiş yapılar için önemli faktörlerdir [48].

Doku iskelelerinin biyouyumluluk özelliğine sahip olması çok önemlidir. Hücreler kendi hücre dışı matrislerini oluşturabilecek kapasiteye ulaştıklarında iskeleye ihtiyaç kalmayacağından, doku iskelesinin biyobozunur bir malzemedan üretilmesi, yani vücut ortamında parçalanabilir özellikte olması ve parçalanırken toksik yan ürünler oluşturmaması gerekmektedir [44]. Biyouyumluluk, yüzey ve yapı biyouyumluluğu olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Yüzey biyouyumluluğu, materyalin yüzey kimyası ile ilgiliyken, yapısal biyouyumluluk doku iskelesinin fiziksel morfolojisiyle ilgilidir. Yüzey ve yapı biyouyumluluğu materyal seçimi ve doku iskelesinin yapısı ile belirlenmektedir [49]. Doku iskelesinin bozunma hızının, yeni doku oluşum hızı ile eş zamanlı olması dikkat edilmesi gereken önemli hususlardan bir diğeridir [50].

Doku iskeleleri; hücre aktivitelerini düzenlemek ve hızlandırmak için dokuların hücrel bileşenleriyle etkileşebilmektedir. Biyomateryaller; bağlanmayı arttırmak için hücre-adhezif ligandlar gibi biyolojik sinyaller veya hücre morfolojisi ve uyumunu etkilemek için topografi gibi fiziksel sinyaller içerebilmektedir. Doku iskelesi; rejenerasyonu hızlandıran büyüme faktörleri gibi büyümeyi uyarıcı sinyaller taşıyabilen taşıyıcı bir araç olarak da kullanılabilir [51].

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

- Malzeme biyouyumlu olmalıdır, yani vücut içine yerleştirildiğinde istenmeyen dokutepkilerine yol açmamalıdır.
- Hücre yapışmasını ve işlevini artırıcı yüzey kimyasına sahip olmalıdır.
- Hücreler yeni ECM oluşturacak kapasiteye ulaştıklarında iskeleye ihtiyaç kalmayacağından,doku iskelesinin vücut ortamında parçalanabilen bir malzemedan (biyo-bozunur madde) üretilmesi gerekmektedir.
- Malzeme parçalanırken biyouyumluluğunu kaybetmemeli ve zehirli ürünler oluşturmamalıdır.
- Hücrelerin ve besinlerin geçişini sağlayacak şekilde yüksek gözeneklilik oranına ve uygun gözenek büyüklüğüne sahip olmalıdır.

Günümüzde birçok farklı alanda doku mühendisliği çalışmaları yürütülmektedir. Özellikle deri, kemik, kırık, sinir dokusu ve kan damarları üzerine yapılan çalışmalar umut vericidir ve kısa vadede büyük gelişmelere gebe. Farklı dokular için yürütülen çalışmalarda, mühendislik malzemelerinin, hücrelerin ve biyosinyallerin farklı kombinasyonlarına oluşturulan, hasara özgü doku mühendisliği stratejileri geliştirilmektedir. Tıp, biyoloji ve malzeme teknolojilerindeki ilerlemeler sayesinde, doku mühendisliğinin gelecekte de bugünkü önemini koruyacağı düşünülmektedir[52].

2.6.1. Doku iskelesi üretiminde kullanılan biyomalzemeler

Malzeme seçimi, doku mühendisliği ürünlerinin tasarımı ve gelişimi açısından çok önemli bir rol oynamaktadır. Geçmişte güvenilir ve kararlı malzeme seçim kriteri, malzemenin inert olmasıyken, günümüzde böyle bir malzemenin biyouyumluluğun ötesinde, istenilen hücre cevabını oluşturabilmesi beklenmektedir [53]. Doku iskelelerinin sahip olması gereken özelliklere bakıldığında birçok özellik doğrudan malzeme ile ilgilidir. Bu nedenle biyomalzeme seçimi, doku mühendisliği çalışmalarındaki en temel basamaktır [54].

Polimerler doku iskelesi üretimi için en çok kullanılan malzeme çeşididir. Doku mühendisliğinde tercih edilen polimerler doğal polimerler ve sentetik polimerler

olmak üzere 2 ana grupta ele alınmıştır. Kaynakları ve elde edilmiş biçimleri birbirinden oldukça farklı olan bu 2 malzeme grubunu birbirinden ayıran en önemli özelliklerden biri biyobozunma davranışlarıdır. Doğal polimerler fizyolojik ortamda kolaylıkla bozunurken, sentetik polimerlerin bozunma süreleri doğal polimerlere göre çok daha uzundur [55].

2.6.1.1. Doğal polimerler

Doğal polimerler, ya da başka bir deyişle yaşayan varlıklardan elde edilen polimerler, vücuttaki hücre dışı matris (ECM) olan benzerlikleri ve yüksek biyoyumlulukları nedeniyle doku iskelesi malzemesi olarak sıkça tercih edilmektedir.

Bununla birlikte doğal polimerlerin immünogenisite, işlemedeki zorluklar, hayvan kökenli patojen aktarımı riski gibi dezavantajları bulunmaktadır [56]. Aljinat, proteinler, kolajen, jelâtin, fibrinler, albumin, gluten, elastin, fibroin, hyarulonik asit, selüloz, nişasta, kitosan, pektin (pektinik asit), galaktan, kurdlan, gellan, levan, emulsan, dekstran, pullulan, heparin, ipek, kondroitin 6-sülfat, polihidroksialkonoatlar doku mühendisliğinde kullanılan doğal polimerlerdir. Bu doğal polimerlere gösterilen ilgi, biyoyumluluklarından, bolluklarından, ticari olarak uygunluklarından ve üretim kolaylıklarından gelmektedir [57].

İpek, farklı kaynaklardan (ipek böceği, örümcek) elde edilebilen bir doğal polimer olduğu için kaynağına göre, amino asit dizilimleri ve bazı özellikleri değişim göstermektedir. Bu nedenle, yapısal bir protein olan ipek biyoyumlu, biyobozunur, yüksek mekanik dayanıma sahip, kolaylıkla işlenebilir bir grup malzemeyi temsil etmektedir. Bu özelliklerinden dolayı ipek, ilaç salım sistemi ve doku iskelesi olarak doku mühendisliği uygulamalarında tercih edilen bir polimerdir [58].

2.6.1.2. Sentetik polimerler

Sentetik polimerler, kontrol edilebilir şartlarda üretilen malzemelerdir. Dolayısıyla polimerin molekül ağırlığı, konformasyonu veya konfigürasyonu, ayrıca fonksiyonel grupların içeriği gibi özellikleri değiştirilerek, istenilen fiziksel ve mekanik özelliklere sahip sentetik polimerler üretilebilmektedirler. Sentetik polimerler, işlenebilirlik ve esneklik açısından, doğal polimerlerden oldukça üstündür. İşlenebilirlik özelliği, doku iskelesinin gözeneklilik ve bozunma özelliklerinin de kontrol edilebilmesine olanak sağlamaktadır. Polimer üretimi sonrasında ortaya

çıkabilecek safsızlıkları minimize etmek mümkündür. Bu nedenle toksiklik, immünogenisite ve enfeksiyona neden olma gibi riskler, içeriği bilinen monomerik birimlerden oluşan, saf sentetik polimerlerde oldukça azdır [56]. Sentetik polimerlerin biyoyumluluklarını arttırmak için farklı malzeme gruplarıyla kompozitler oluşturulabilmekte, ayrıca yüzey modifikasyonu ile polimer yüzeyi hücre üremesine uygun hale getirilebilmektedir.

Polilaktik asit (PLA) ve poliglikolik asit (PGA) gibi poli- α -hidroksi esterler, polifumaratlar, polihidroksialkanoatlar ve polikaprolakton (PCL) gibi poliesterler doku iskelesi üretiminde kullanılan sentetik polimerlerdir. PLA, PGA ve poli-laktik-ko-glikolit (PLGA) kopolimeri, Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından onaylı sentetik polimerlerdir. Biyobozunur özellikteki bu polimerlerin bozunma ürünleri vücuttan kolayca uzaklaştırılabilir özelliktedir. Biyoyumlulukları ve işlenebilirlikleri nedeniyle, PLA, PGA ve PLGA, doku mühendisliği çalışmalarında doku iskelesi malzemesi olarak sıkça tercih edilmektedirler [59].

PLA da doku iskelesi üretiminde çok kullanılan bir polimerdir. PGA ile kimyasal yapı olarak karşılaştırıldığında; PLA'nın tekrar eden birimlerinde ekstra bir metil grubu bulunmakta, bu ekstra metil grubu onu daha hidrofobik yapmakta, suya karşı afinitesini azaltmakta ve hidroliz oranını yavaşlatmaktadır. Hücre içi veya hücre dışına implante edilen PLA yapının çözünüp yok olması birkaç aydan birkaç yıla kadar sürebilmektedir.

Doku mühendisliği uygulamalarında araştırılmakta olan diğer lineer alifatik polyesterler; poly(ϵ - kaprolaktan) (PCL) ve poly(hidroksi butrat) (PHB)'dir. PCL ve PHB'nin çözünürlükleri, hidrofobik yapıları nedeniyle, PLA, PGA ve PLGA'ya nazaran daha yavaştır.

Poli(vinilalkol) (PVA), poli(N-izopropilakrilamid) ve poli(hidroksimetakrilat) bazı biyobozunur olmayan sentetik polimerlerdir. Biyobozunur olmayan yapılarından dolayı bu polimerlerin doku iskelesi yapımında kullanımları azdır [57].

2.7. Tendon Doku Mühendisliği

Birleşik Devletler de yılda yaklaşık olarak 2×10^5 adet tendon ve bağ onarımı icra edilmektedir. Bu durum sakatlık ve travma nedeniyle ortaya çıkabilmekte, genel olarak yapılan iş ve spor kaynaklı olmakla beraber, yaşlanma ve aşırı zorlama da

neden olabilmektedir. En sık görünen tendon sakatlıkları; kireçlenmiş tendon yollarından, kısmi yırtıklara ve tam kopukları da içeren patalojik kaynaklı olabilen aşil ve patellar tendonları rahatsızlıklarıdır. Dokudaki ağrı, şişme, morarma ve yırtılma, genel olarak tendon aşırı baskıya mazur kaldığında ortaya çıkmaktadır. Tendon kopmaları ciddi yaralanma ve küçük şişlikler olmadan da ortaya çıkabilir. Bu tip durumlarda ağrı ve/veya spor yapamama durumu en belirgin şikayetler olacaktır. Bu sakatlıklar genelde hareketli kol bölgeleri, extensor carpi radialis brevis veya posterior tibial tendonlarda gözüktür. Tendon sakatlıkları kontrol edilmesi zor, direkt olarak sağlık sisteminde kronik bir şekilde ağır yük yükleyen ve iyileşmesi esnasında tam olarak eski gücüne ulaşamayan, sık sık uzun süreli ağrı ve sıkıntı veren rahatsızlıklardır [26].

Tendon sakatlıklarının başarılı bir şekilde iyileşmesi; anatomik olarak yaralanma bölgesine, damarlaşıma özelliğine, kemik yaşı/olgunluğu ve doku kaybının büyüklüğü dahil olmak üzere birçok değişkene bağlıdır. İyileşme sürecindeki bir çok dokunun kan hücreleri yapısında bulunmasına rağmen, olgun tendon hücrelerinde zayıf bir şekilde damarlaşıma olur ve tendon besini için damar perfüzyonundan daha çok sinoviyal sıvıdaki difüzyona bağlıdır [60]. Kendi kendine iyileşme mümkün olmakla beraber, bu durum sık sık sağlıklı dokudan; biçimsel, biyokimyasal ve biyomekanikal olarak farklı yapıda yaralı doku oluşmasıyla sonuçlanır. Bu da eninde sonunda onarılmış dokunun işlevselliğini etkiler[25]. Birçok tendon rahatsızlığının kontrolü, iyileşmiş dokunun tedavi sonrası eski işlevine tamamen kavuşması nadiren söz konusu olduğu için zordur. Ortaya çıkabilecek diğer bir problem de tendon-tendon veya tendon-kemik ara yüzeyindeki dokunun mekanik özelliklerini kötüleştiren, tamamlanmamış kaynaşmadır. Bunun bir nedeni lifsel yapışmanın yapısıdır [61]. Lifsel yapışma; iyileşen tendon ile etraftaki dokular arasında ortaya çıkmakta ve tendon hareketine mani olmaktadır. Bu da tendon hareketini kısıtlayarak tedavi görmüş tendonun işlevselliğini azaltıcı yönde etkilemektedir [62].

Kollojen liflerin kıvrımlı yapısı dokunun mekanik mukavemetini belirler. Normal doku ve tedavi bölgesinde oluşmuş dokuların her ikisinin de yüksek oranda düzenli kollojen liflere ve nispeten düşük hücre sayılarına sahip olmalarına rağmen, biçimsel olarak bu iki doku türü oldukça farklıdır. Normal dokunun kıvrımlı yapısı ile tedavi gören dokunun yapısı karşılaştırıldığında tedavi edilenlerin boyut olarak daha küçük

oldukları gözlemlenmiştir. Ayrıca tedavi gören dokulardaki kollojen liflerin çapı, göze görülür şekilde daha küçüktür. Dokudaki bu kollojen liflerin büyüklük ve düzen farkları hasarlı bölgenin tedavi sonucu normal bir tendona göre mekanik olarak % 40-60 oranında daha zayıf olmasına neden olmuştur. Değişmiş olan yapısal özellikler nedeniyle eklem kararlılığında oluşan olumsuz etkiler ve işlevsellik oranının düşmesi gibi etmenler tendon rahatsızlıklarının tekrarlanma ihtimalini arttırmaktadır [63].

2.7.1. Tendon doku mühendisliği için yapı iskeleleri

Tendon yaralanmalarında kendi kendine iyileşme mümkün olmakla beraber, bu durum sık sık sağlıklı dokudan; biçimsel, biyokimyasal ve biyomekanikal olarak farklı yapıda yaralı doku oluşmasıyla sonuçlanır. Bu da eninde sonunda onarılmış dokunun işlevselliğini etkiler. Tendon doku mühendisliğinin hedefi; in vivo'daki tendon dokusunun kendi kendine yenilenmesini durdurmak (hızını düşürmek) veya in vitro içinde daha sonra vücuda nakledilebilecek olan işlevsel düzeyde 3 boyutlu tendon doku parçaları üretmektir. Tendon dokusunun üretimi için hem varlığı sürekli kalacak veya bozulmayacak hem de her ekseninde yönlendirilmiş yeni nesil işlevsel doku iskeleleri gerekmektedir. Bu tip iskelelerin üretimi ve yönlendirilmesi, fiziksel ve kimyasal etmenlerle birlikte bu etmenlerin belli oranlarda kombinasyonuna ve zamanla değişecek olan yapısının hesaplanmasına bağlıdır ve bunlar tendon üretimindeki başarı için anahtar noktalardır.

Klinik uygulamalar için, iskeleler belirli özelliklere sahip olmalıdırlar. Çünkü vücuda yerleştirildiklerinde biyolojik ve mekanik birçok etmene maruz kalacaklardır. Yapı iskelesi malzemesinin biyo-uyumluluğunun kanıtlanması esastır. İskeleler bağışıklık sistemiyle alakalı veya sitotoksikite kaynaklı tepkiler veya uyumsuzlukları tetiklememelidir. İskelelerin vivo içerisindeki biyolojik olarak bozunma oranı yeni gelişmekte olan dokunun oluşum hızıyla uyumlu olmalıdır. Bu uyuma bağlı olarak hasarlı bölgenin iyileşmesiyle iskele yapısı tamamen vücut içerisinde çözülmüş olmalıdır. İskele yapısına ait materyalin çözünme hızı; yapısal şekil, kristalinite, molekül ağırlığı, morfolojik yapısı, porozitesi ve nakil bölgesi gibi birçok etmen tarafından etkilenir. İskele yapı malzemesi biyolojik olarak tekrar absorblanabilmelidir ki böylece üretim malzemesi, insan vücudunda doğal yollar ile elimine edilebilir. İskele yapısındaki malzemenin ilk haline göre tamamen elimine edilmesi ile kalıntılara bağlı yan etkiler gözükmez. İskele; hücresel bağlantı, besin

geçışı ve hücrel bütünleşmeye izin vermek adına yüksek poroziteye sahip bir yapıdan oluşmalıdır. Vitroda iskeleler, uygulanmış yükleme rejimine karşı koyacak kadar yeterli mekanik mukavemete sahip olmalıdır ve vivo içerisine nakledildiğinde işlevsel dokunun mekanik özellikleri ile eşleşmelidir [64].

İskeleleri doğal ve sentetik olmak üzere iki ana kategoride incelenirler. Bugüne kadar doğal iskelelerde kollojenler ve kitosanlar kullanılmıştır. Kollojenler, tendon doku mühendisliğinde başrolü oynamaktadırlar çünkü kollojen Tip I, tendonun kuru ağırlığının %60 'a yakını oluşturur [2]. Tendon içerisinde bulunan lif demetlerinin oluşturdukları hiyerarşik yapı, tendon dokusunun mekanik mukavemetini arttırmaktadır. Ancak tendon dokusunda oluşan çeşitli bozukluklar tendon mukavemetini olumsuz yönde etkileyerek düşürmektedir. Bu durumun tedavisinde, hücre yerleştirilmiş kollojen jelleri, vivo çalışmalarında birçok kez kullanılmıştır. Mezenkimal kök hücreleri yerleştirilmiş kollojenlerin, Aşil tendonu hasarı olan tavşanlara nakledilmesi ile tendon sakatlığından sonra biyomekanik, yapısal ve muhtemel işlevlerinde gelişme sağlanmıştır [65]. Bununla birlikte, tenosit içermeyen kollojen yapılar, vivo kullanımında uzun vadede belli bir miktar mekanik özellik sağlayabilmektedir ancak tam olarak doğal tendon dokusundaki karmaşık mimari düzeni asla sağlayamamaktadır [2]. Belli bir düzeyde tedavi sunan kollojen jeller tendon yaralanmalarında tam bir çare olamamıştır. Tendon hasarlarının tedavisinde tendon doku iskelesinin hasarlı bölgeye yerleştirilmesi daha umut veren bir yaklaşım olarak görülmektedir. Hiyerarşik yapıdaki tendonun, hücre dışı matrisinin (ECM) kopyası olarak oluşturulan doku iskelesinin, hasarlı bölgeye nakledilmesi ile hem mekanik destek sağlandığı hem de tendon mezankimal kök hücrelerinin kendi hücre dışı matrislerini oluşturmaları sonucu hasarlı bölgede yeni bir tendon yapısının oluştuğu görülmüştür. Oluşan bu yeni yapı ile mükemmel yakın bir tedavi sağlanabilmektedir [66].

Tavşanlar üzerinde yapılan çalışmalarda kitosan bazlı hyaluronik kompozit iskeleler tendon yaralanmalarının tedavisinde kullanılmaktadır. Fibroblast-yerleştirilmiş iskeleler, kollojen Tip I üretiminde ve 12 hafta sonundaki mekanik özellikleri bakımından hücre içermeyen iskeleler ile karşılaştırıldığında daha fazla başarı sağlamış ve fibroblast yerleştirilmiş iskelelerin gerilim mukavemeti, fibroblast yerleştirilmemiş iskelelere göre 12 haftalık kontrollerde kayda değer biçimde daha

iyi olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte bu teknik, tavşanlarda hareketli eklem sakatlıkları tedavisi için kullanılmış olmasına rağmen insanların tendon sakatlıklarında kullanımına uygun olup olmayacağı denenmemiştir [67].

Sentetik biyo-bozunur polimerler, mekanik ve fiziksel özelliklerinin tekrar üretilebiliyor olması ve yapım malzemesinin safsızlığının kontrol edilebilmesi nedenleriyle tercih sebebi olarak sık sık kullanılmıştır. Bu malzemelerin avantajlı olmalarının nedeni; çok çeşitli por sıklığı ve biçimiyle, çok çeşitli şekillerde üretilebiliyor olmalarıdır. Doku mühendisliğinde sıklıkla kullanılan; polilastid (PLA), poliglikolid(PGA) ve poli(lastid-co-glikolid) (PLGA) kopolimeri gibi birçok doyurulmuş poli- α -hidroksi ester polimerleri, FDA tarafından onaylanmıştır [68].

Ayrıca doku yamaları da iskele olarak kullanılmıştır. Hayvanlar üzerindeki bir çalışmada ince bağırsak submukozasından alınan küçük bir parça tendon iskelesi olarak kullanılmıştır. Doku yamasında 12 ay sonunda patellar tendon otograftı ile karşılaştırıldığında görünür bir şekilde kuvvetsel yetersizlikler bulunmuştur. Submukoza nakilden 3 ay sonra biyomekanik özellikleri bakımından ciddi bir azalmaya maruz kalmış, mekanik olarak kararsızlığı kanıtlandığından insan tendon tedavisi için kullanılması uygun olmamıştır [69].

2.8. Doku İskelesi Fabrikasyon Teknikleri

Doku iskelelerinin üretimi ve tasarımı doku mühendisliği çalışmalarında çok önemli bir yere sahiptir. Doku iskelesi üretiminde geometrik yapı, mekanik dayanım, gözeneklilik, yüzeyin fiziksel ve kimyasal yapısı, bozunma davranışlarının kontrolü gibi etmenler doku iskelesi üretiminde uğraşılması gereken konulardır. Gözeneklilik, hücre yapışması ve doku büyümesinin sağlanması için gerekli olan özelliklerdendir. Bu nedenle seçilen fabrikasyon tekniğinin istenilen gözeneklilik boyutunu sağlaması çok önemlidir. Üretilen dokunun hasarlı bölgenin yapısına benzer ve bu bölgede vücut içerisindeki işleyişi aksatmayacak şekilde çalışması ve deformasyona uğramadan kararlı yapısını sürdürmesi gerekmektedir. İskele yapımında kullanılan materyal tipi yüzeyin kimyasal özelliklerinin ayarlanmasında ve bozunma davranışlarının kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. Bu özellikler doku iskelesi yapımında uygun materyalin seçilmesine ve biyomalzemenin fabrikasyon tekniğine

göre farklılıklar göstermektedir. Kullanılan fabrikasyon tekniğinin polimerin biyouyumluluğunu etkilememesi ayrıca dikkat edilmesi gereken bir husustur.

Çeşitli tekniklerle doğal ve sentetik doku iskeleleri üretilebilmektedir. Kullanılabilecek her tekniğin kendine özgü avantaj ve dezavantajları vardır. Üretilen materyalin hangi dokuda kullanılacağına bağlı olarak bu fabrikasyon teknikleri seçilmez. Bu teknikler çözücü dökme-parçacık uzaklaştırma, faz ayrılması, eriyik kalıplama, gaz köpüklendirme, dondurarak kurutma, katı serbest form fabrikasyonu ve elektroçirme şeklinde sıralanabilir.

2.8.1. Çözücü dökme - parçacık uzaklaştırma

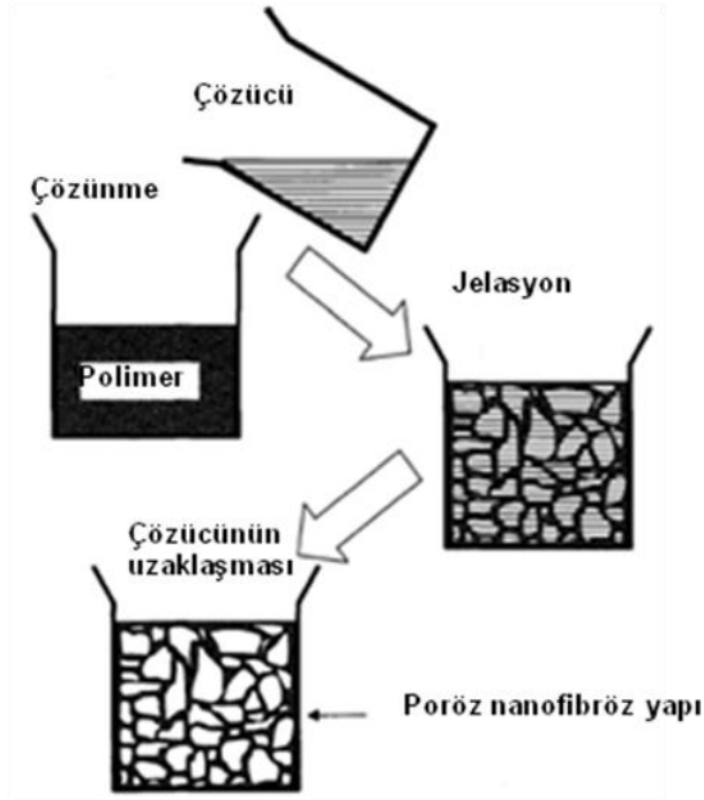
Polimer uygun çözücü içerisinde çözündürüldükten sonra bu çözeltinin içerisine porojen adı verilen katı parçacıklar ilave edilir. Tuz, jelatin, şeker ve parafin porojen olarak kullanılabilen maddelerdir. Daha sonra bu karışım yapışmayacağı bir kalıba dökülür ve çözücü uzaklaştırılır. Böylece içinde porojenlerin bulunduğu membran formunda katı polimerik yapı elde edilir. Bu yapı porojenlerin içinde çözünebileceği herhangi bir çözücüyle etkileştirilerek porojenlerin yapıdan uzaklaştırılması sağlanır. Tuz, jelatin ve şeker için çözücü olarak su, parafin için hekzan kullanılır. Bu işlem sonrasında porojenlerin terk ettiği yerler yapıda gözenek olarak kalmaktadır [70].

Bu prosesin uygulanabilirliği kolaydır ancak çok ince membranlar üretilebilir. Kalın doku iskeleleri üretimi, polimerik yapıdan çözünebilir partikülleri uzaklaştırmak çok zor olduğu için uygun değildir. Bu üretim yöntemi fazla ekipmana ihtiyaç duyulmadığı için avantajlı olarak görülebilmektedir. Ancak proseste sadece belirli formlarda üretim yapılabilmesi, kalın iskeleler üretildiğinde polimerden toksik özellik gösterebilecek partiküllerin tamamen uzaklaştırılmaması, çözücü kullanılması sonucu polimerik yapının bozulma ihtimali gibi dezavantajlar bulunmaktadır [71].

2.8.2. Faz ayrılması

Faz ayrılması yöntemi poröz membranların hazırlanmasında kullanılmaktadır. Bu prosesle nano - fibröz materyaller üretilmektedir. Bu fibröz yapıyı oluşturan fiberler 50 - 500 nm ve %98 poroziteye sahiptir. Polimerik çözeltiler soğutuldukları zaman polimerce zengin faz ve çözücü faz olmak üzere 2 ayrı faza ayrılmaktadırlar. Bu yöntem polimer çözeltisi soğutulduktan sonra ayrılmış olan çözücü fazın yapıdan

uzaklaştırılması ve geriye kalan polimerce zengin fazın katılarak doku iskelesini oluşturmaya esasına dayanmaktadır.



Şekil 2.7: Faz seperasyonu ile nanoyapıların üretimi

Faz ayrılması tekniğinin avantajı; kontrol edilebilir por morfolojisine sahip üç boyutlu doku iskeleleri dizaynında diğer fabrikasyon teknikleriyle koalylıkla kombine edilmesidir. Dezavantajı ise uzun fiberler üretilememesidir [50].

2.8.3. Eriyik kalıplama

Çözücünün kullanılmadığı bu proseste 3 boyutlu doku iskelelerin üretimi için alternatif bir metottur. Polimer ve porojen maddeler katı halde karıştırılarak, istenilen geometriye sahip kalıba dökülürler. Kalıba ısıl işlem uygulanarak polimer, camısı geçiş sıcaklığı (T_g) üzerinde bir sıcaklığa ısıtılır. Düzgün bir karışma sağlandıktan sonra, doku iskelesi porojenin içinde çözünebileceği çözücü ile etkileşerek porojenin yapıdan uzaklaştırılması sağlanır. Böylece istenilen geometriye sahip, 3 boyutlu gözenekli doku iskelelerinin üretimi gerçekleşmiş olur.

Bu proste doku iskelesinin gözenek boyutu projene bağı olduğı için istediğimiz gözenek boyutlarında doku iskelesi üretmemiz mümkündür. Organik çözücülerin kullanılmaması ve düşük sıcaklıklarda çalışılması prosesin bir diğeri avantajıdır [72].

2.8.4. Gaz köpüklendirme

Gaz köpüklendirme yöntemi fabrikasyon sırasında yüksek sıcaklıklardan ve toksik özellikler gösterebilen organik solventlerin olumsuz etkilerinden kaçmak için kullanılan bir yöntemdir. Bu proste gözenekli doku iskelesi üretebilmek için yüksek basınçta karbondioksit gazı kullanılmaktadır. Polimerin belirli bir süre boyunca yüksek basınçlı karbondioksit ile etkileşmesi sonucunda etkileşmenin meydana geldiği yüzeylerde kapalı gözenekler oluşmaktadır. Bu yöntem yüzeylerin gözeneklendirilmesi için uygun olmasına karşın, doku iskelesinde istenilen içsel bağlantılı gözenek yapısının oluşmasını sağlayamamaktadır. Bu yüzden başka yöntemlerle beraber yüzey gözenekliliğinin sağlanmasında kullanılır [73].

2.8.5. Dondurarak kurutma

Gözenekli sünger formunda 3 boyutlu doku iskelelerinin üretiminde kullanılan bu yöntemde polimer uygun bir çözücüde çözülerek istenilen konsantrasyonda bir çözelti hazırlanır. Hazırlanan çözelti uygun şartlar altında dondurulur. Çözeltinin donması sonucu buz kristallerinin meydana geldiği bir yapı elde edilir. Bu yapının dondurulup düşük sıcaklıklarda vakum altında kurutulması sonucu birbiriyle bağlantılı yüksek gözenekli bir yapı elde edilir[74].

Gözenek boyutunun ayarlanmasında çözeltinin dondurulma hızı ve pH değerinin etkisi bulunmaktadır. Çözeltinin hızlı dondurulması sonucu küçük gözeneklere sahip iskeleler elde edilebilmektedir. Homojen, üç boyutlu ve gözenekli bir yapı elde edebilmek için tek yönlü ve kontrollü bir katılaşmanın sağlanması gerekmektedir. Tanecik uzaklaştırma işlemi ve yüksek sıcaklık gerektirmemesi bu prosesin avantajlarıdır. Uzun proses süresi ve küçük gözenek boyutu ise bu tekniğin dezavantajlarıdır [75].

2.8.6. Katı serbest form fabrikasyonu

Faz ayrılması, eriyik kalıplama, gaz köpürme, dondurarak kurutma, çözücü dökme - parçacık uzaklaştırma gibi doku iskelesi üretmek için kullanılan klasik yöntemler;

üretileen doku iskelelerinde gözenek boyutunun kontrolü, gözeneklilik dağılımı, iskele geometrisi ve iskele içerisinde kanalların oluşturulması açısından yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle üç boyutlu doku iskelesi üretimi için katı serbest form fabrikasyonu kullanılmaktadır. Bu yöntem ile bilgisayar destekli tasarım (CAD), bilgisayarlı tomografi (CT), manyetik rezonans görüntüleme (MRI) gibi bilgisayar ortamında aktarılan veriler kullanılarak gelişmiş bir doku iskelesi üretimi sağlanmaktadır. Bu teknikte, üretimi istenilen doku veya organa ait üç boyutlu yapı bilgisayar destekli tasarım kullanılarak doku veya organın kesitsel görüntüleri çıkartılmaktadır. Daha sonra doku iskelesi için kullanılacak malzeme, bilgisayardan gelen bilgiler doğrultusunda tabakalar halinde oluşturulur. Tabakaların hangi noktalarda birleşeceği, hangi noktaların boş kalacağı bilgisayar tarafından önceden belirlendiği bu sistemde her bir katman tek tek yapılıp, birleşmesi ile tasarlanan üç boyutlu yapı elde edilir. Bu yöntem, klasik üretim metotlarının erişemediği hassas geometrielerde malzemelerin üretilmesine olanak sağlar. Bu yüzden özellikle doku iskelesinin fabrikasyonunda kullanımı giderek artmaktadır. Isı, ışık, yapıştırıcı ve kalıp kullanarak üretime dayanan birçok katı serbest form fabrikasyonu bulunmaktadır [44].

2.8.6.1. Isı kullanarak doku iskelesi üretimi

Bu yöntemde doğal polimerler sıklıkla kullanılmaz. Yüksek sıcaklık doğal polimerlerin yapısını bozduğu için çoğunlukla sentetik polimerlerle çalışılmaktadır. Isı kullanılarak doku iskelesinin üretiminde, polimer tozu bir yüzeye dağıtılır. Daha sonra iki boyutta hareket edebilen bir lazer, daha önce bilgisayarda tasarlanan geometriye özgü olarak polimer tozunun üzerinde lazer uygulaması yapar. Lazer ışınlarına maruz kalan bölgelerdeki polimerin sıcaklıkla erimesi, birleşmesi ve katılaşmasına bağlı olarak istenilen geometriye sahip polimerik katman elde edilmiş olur. Elde edilen katman üzerine tekrar polimer tozu atılarak katmanlardan oluşan istenilen gözeneklilikte ve geometride doku iskeleleri üretilebilir. Bu teknolojinin en önemli dezavantajları kullanılacak malzemenin toz halinde olma zorunluluğu ve yüksek sıcaklıkta işlemenin gerekli olmasıdır [44].

2.8.6.2. Işık kullanılarak doku iskelesi üretimi

Bu yöntemde içi polimer dolu bir havuz içerisinde z yönünde hareket eden bir asansör ve x-y yönünde hareket edebilen bir UV lazer bulunmaktadır. Daha önceden bilgisayar ortamında tasarlanan geometriye göre çalışan lazerin uygulama yaptığı noktalarda katılma olmaktadır ve bu katılma doku iskelesinin katmanlarını oluşturmaktadır. Sistemde asansörün periyodik olarak hareketi sonucu katılan bölgelere yeniden polimer çözeltisi gelmekte böylece istenilen geometride doku iskelesinin üretimi mümkün kılınmaktadır [50].

2.8.6.3. Yapıştırıcı kullanılarak doku iskelesi üretimi

Bu proste polimer tozu bir yüzeye dağıtmakta, daha sonra polimer tozu bulunan noktalara bilgisayarda tasarlandığı şekilde yapıştırıcı püskürtülmektedir. Yapıştırıcının etkisiyle katı polimer tozlarının birleşerek belli bir yüzey oluşturması sağlanır. Polimer tozunun ortama sürekli olarak beslenmesi ile istenilen geometriye sahip üç boyutlu doku iskelesi elde edilir [76].

2.8.6.4. Kalıp kullanılarak doku iskelesi üretimi

Bu yöntem direkt ve indirekt yöntem olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır. Direkt yöntemde malzemeden direk olarak yapı iskelesi inşa edilirken; indirekt yöntemde sentetik veya doğal olan biyomalzemelerden biyometaryalin döküleceği bir kalıp inşa edilir. Direkt yöntem tamamen otomatik bir işlem olmasının yanı sıra uygulanabilirlik, yeniden üretilebilirlik ve ölçülebilirlik açısından daha çok tercih edilen bir yöntemdir. İndirekt yöntem daha geniş bir malzeme yelpazesine uygulanabilmesine rağmen, daha büyük prosesler gerektirdiği için ticari talepleri karşılayamamaktadır. İndirek katı serbest form fabrikasyonunda, öncelikle doku iskelesinin dizaynına uygun dişi bir kalıp üretilir. Daha sonra biyomateryal malzeme bu kalıba dökülür ve katılması beklenir. Biyomateryal katıldıktan sonra doku iskelesini elde etmek için dişi kalıp yok edilir [74].



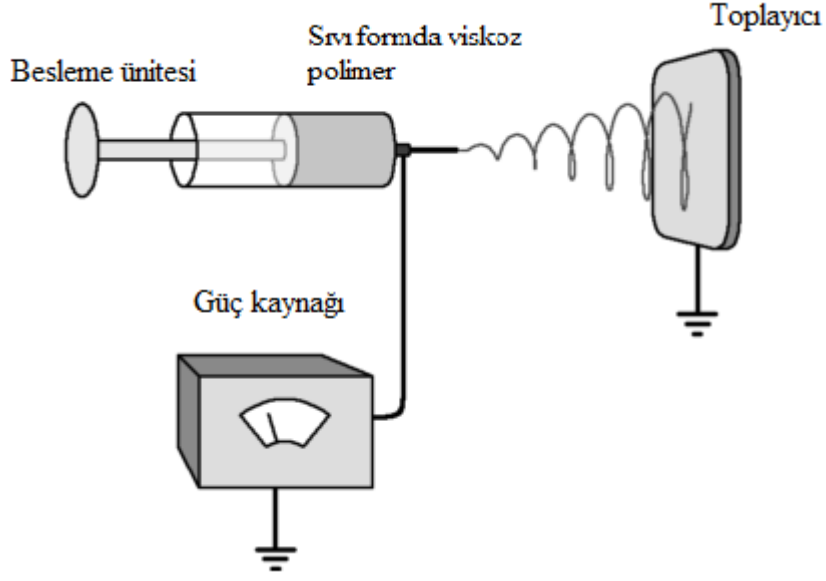
Şekil 2.8: Katı serbest form fabrikasyonu indirekt yöntem

2.8.7. Elektro-eğirme yöntemi

İlk kez 1934 yılında Formhals tarafından bulunan elektro-eğirme (elektrospining) yöntemi elektrostatik kuvveti kullanarak polimerik fiberlerin üretilmesi esasına dayanmaktadır [77]. Elektro-eğirme yönteminde yüksek elektrik alan oluşturularak polimer çözeltisinin karşı kutup olarak topraklanmış veya zıt kutup ile yüklenmiş bir yüzeye doğru spin hareketi yaptırılması sonucu nanometre mertebesinde fiberlerin oluşturulması amaçlanmaktadır. Bir elektro-eğirme düzeneğinde temel olarak 4 ana ekipman bulunur (Şekil 2.9).

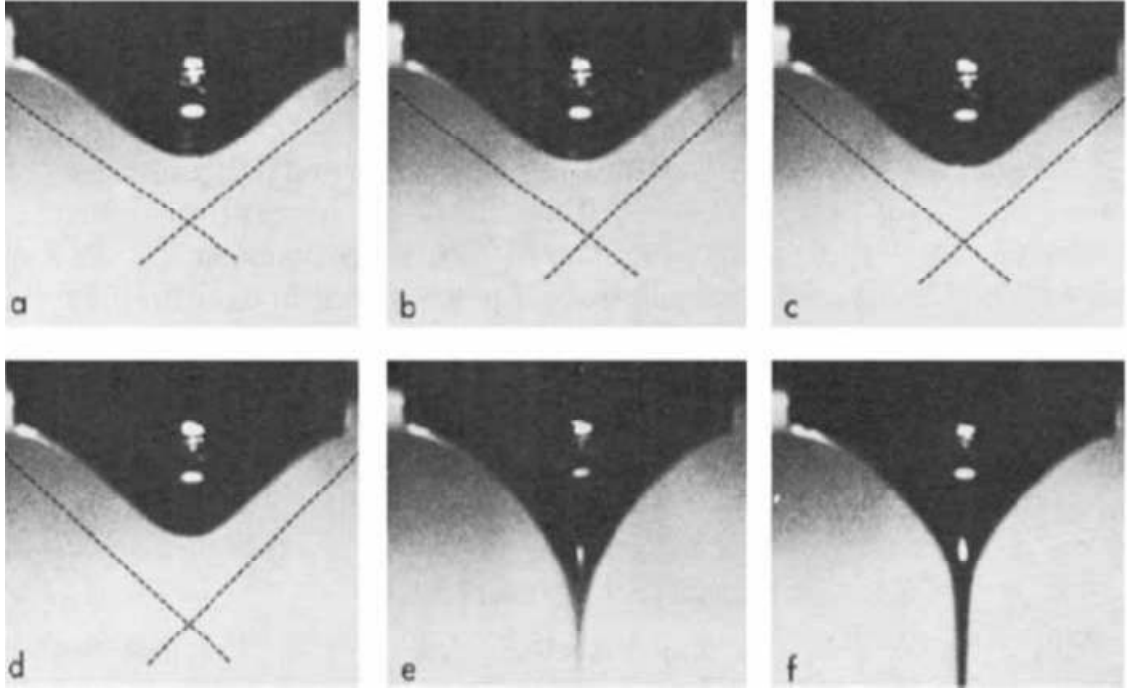
Bu ekipmanlar;

1. Besleme ünitesi (şırınga, iğne vs.)
2. Yüksek voltaj güç kaynağı
3. Nanofiberlerin toplanması için karşıt yükle yüklenmiş toplayıcı (plaka, silindir vs.)
4. Sıvı formda viskoz polimer çözelti



Şekil 2.9: Elektro-eğirme düzeneği

Elektro-eğirme prosesinde polimer çözeltisinin elektrik yüklü jet oluşturabilmesi için yüksek voltaj kaynağı kullanılmaktadır. Polimer çözeltisi cam bir tüp veya bir enjektörün içerisinde yer alır. Enjektör bir şırınga pompasına bağlanarak çözeltinin şırınga boyunca sabit hızda akması sağlanmaktadır. Güç kaynağından gelen elektrot spin solüsyonu içeren enjektör ucuna bağlanırken toplayıcı plakaya bağlı elektrot ise topraklanır. İçinde polimerik çözelti bulunan enjektörün ucuna elektrik alan uygulanır ve sıvının yüzeyinde yük oluşması sağlanır. Bunun sonucunda polimer çözeltisi ile enjektör ucu arasındaki yüzey gerilimine ters yönde bir kuvvet oluşur. Elektrik alanın artmasına bağlı olarak polimer çözeltisinin hemisferik yüzeyi, enjektörün ucunda " Taylor konisi " olarak bilinen konik bir form oluşturur. Taylor konisi yüzey gerilimi ve yüklü yüzeydeki elektriksel güç arasındaki dengeyi sağlar [78]. Voltaj kritik bir değere ulaşıp damlacıktaki yüklerin itme kuvvetleri, yüzey gerilimi kuvvetlerini yendiğinde Taylor konisinin ucundan ince bir jet baş gösterir ve jet yüzeyindeki aynı elektriksel yüklerin birbirini itmesi ilkesinden hareketle jet uzayıp incelerek topraklanmış toplayıcıya doğru ilerler. İlerleme esnasında bu polimer jeti, önce kararlı daha sonra kararsız (spiral) bir yol izler. Bu sırada, içerisindeki çözücü buharlaşır ve ardından nano boyutta çaplara sahip yüklü bir polimerik lif bırakır. Sürekli olarak oluşan bu nanolifler toplayıcı plaka üzerinde birikerek dokusuz bir yüzey oluşturur [79].



Şekil 2.10: Kılcal Boru ucundaki damarların ilerleyerek artan voltaj etkisiyle Taylor Konisi ve jet oluşumu a) polimer damlası artan voltajın etkisiyle yarı küresel formda b,c) Taylor konisine geçiş d)Taylor konisindeki şekli e,f) Taylor konisinden bir jet halinde çıkışı

2.8.7.1. Elektro - eğirme parametreleri

Elektro-eğirme yöntemi kullanımı kolay olmasına rağmen fiberlerin oluşum ve yapısı üzerine etki eden birçok faktör bulunmaktadır. Elektro-eğirme prosesi ile elde edilen nanoliflerin yapısı ve morfolojisi; çözelti özellikleri, proses değişkenleri ve çevresel koşullar olmak üzere üç başlık etrafındaki değişkenlere bağlı olarak farklılıklar göstermektedir.

Çizelge 2.1: Elektro-eğirme parametreleri



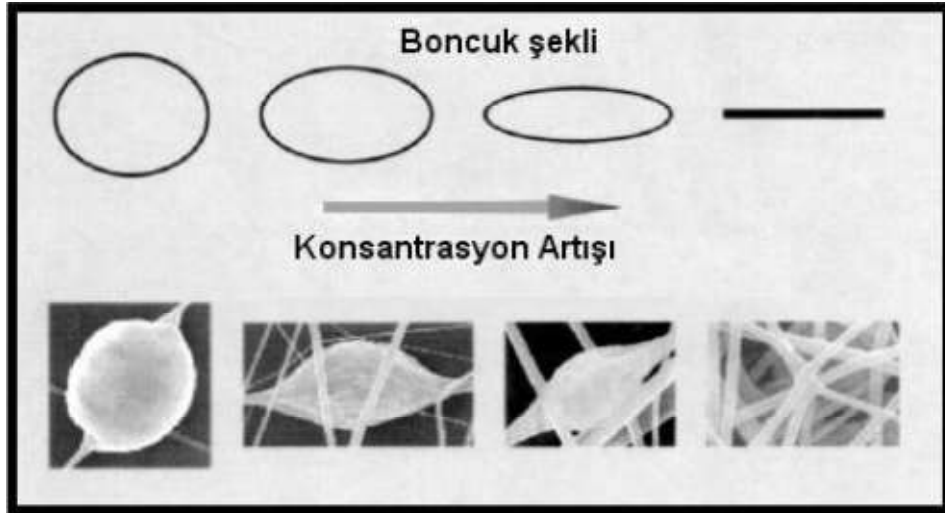
2.8.7.1.1. Çözelti özellikleri

Konsantrasyon ve yüzey gerilimi

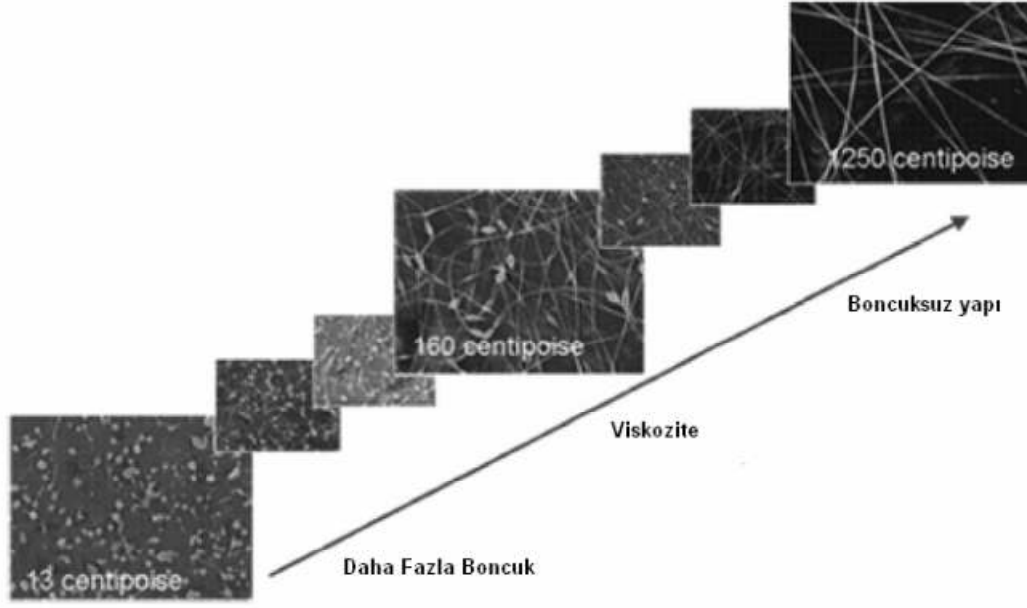
Elektro-eğirme prosesinde polimer jeti, Taylor konisi formundan ayrılıp toplayıcıya doğru giderken elektrostatik kuvvetler, itme kuvvetleri gibi bir çok kuvvetin etkisi ile uzar ve gerilir. Çözeltinin gerildiği süreçte, kuvvetsel etkilerle hareket eden polimer jetinde kopuşlar olmasını önleyen ve böylece sürekli bir çözelti jetinin oluşmasını sağlayan faktör, molekül zincirlerinin karmaşıklığıdır [80].

Proseste kullanılan çözelti, zincir karışıklığının oluşması için yeterli polimer konsantrasyona sahip olmalıdır. Polimer konsantrasyonu elektro-eğirme prosesinde

önemli parametrelerden olan solüsyonun yüzey gerilimi ve viskozitesi üzerine etki eder [81].Yüksek viskozite, çözücü ve polimer molekülleri arasında daha fazla etkileşim anlamına gelir ve böylece yüklerin etkisi ile çözelti gerildiğinde çözücü molekülleri, karmaşık polimer moleküllerine yayılmaya yönelecek ve bu şekilde yüzey geriliminin etkisi altında çözücü moleküllerinin bir araya toplanma eğilimi azalacaktır [80]. Çözelti çok seyreltik olursa yüzey geriliminin etkisiyle toplayıcıya ulaşmadan damlacıklar halinde parçalanır. Eğer çözelti çok konsantre olursa yüksek viskoziteye bağlı olarak fiber oluşumu gözlenmez[81].Elektro-eğirme prosesinde karşılaşılan boncuksu yapıların oluşması büyük bir problemdir. Yapılan çalışmalar çözelti konsantrasyonunun boncuksu yapıların oluşmasında etkili olduğunu göstermiştir. Yüksek konsantrasyon değerlerinde daha az boncuksu yapıların oluştuğu gözlenmiştir [82].



Şekil 2.11: Çözelti konsantrasyonunun boncuksu yapıların oluşumuna etkisi



Şekil 2.12: Konsantasyon- boncuksu yapı ilişkisi

Yüksek viskozitenin liflerin toplanma alanına etkisi de bulunmaktadır. Viskozitenin artmasıyla jetin kararsızlığı azalır. Bu durumda jetin izlediği yol azalır ve oluşan lifler daha küçük bir alanda yayılır. Jetin izlediği yolun azalması, çözeltinin daha az uzamasına ve daha büyük çaplarda lifler oluşmasına neden olur [80].

Elektriksel iletkenlik

Elektro-eğirme prosesi için elektriksel iletkenliğin çok büyük önemi vardır. Elektro-eğirme işleminde jet oluşumunun gözlenebilmesi için çözeltinin mutlaka belirli bir iletkenlik değerine sahip olması gerekmektedir.

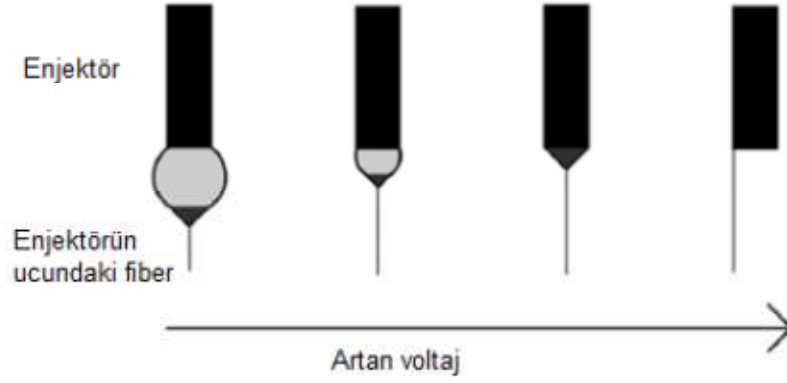
Dielektrik özelliğini arttırmak ve lif morfolojisini geliştirmek için bir çözeltiliye N, N-dimetilformamid (DMF) gibi çözücüler ilave edilebilir. Yüksek dielektrik sabiti ile elektro-eğirme jetinin eğilme kararsızlığı da artar. Bu durum, liflerin plaka üzerinde toplandığı alanın artmasını sağlar. Böylece jet izlediği yol artacağından lif çaplarının azalmasını da kolaylaştırır [80].

2.8.7.1.2. Proses değişkenleri

Uygulanan voltaj

Elektro-eğirme prosesinde uygulanan voltaj değerinin, jetin kararlılığı ve fiber biçimi üzerinde önemli bir etkisi bulunmaktadır. Proste uygulanan voltaj değerindeki artış, iğnenin ucundan daha fazla miktarda kütle akışına neden olacak, böylece daha fazla birikim gerçekleşecektir.

Düşük voltaj değerlerinde, damla tipik olarak enjektör ucunda asılı durur ve Taylor konisinden (Şekil 2.13) boncuk oluşumunun gözlemlenmediği bir jet çıkar. Voltaj arttıkça iğne ucundaki damlanın hacmi azalır bu da Taylor konisinin kaybolmasına neden olur. Bu durum sıvı yüzeyinden çıkan jette daha çok boncuksuz yapıların oluşmasını sağlar. Voltaj daha fazla arttığında jet iğne ucunun kenarları etrafında hareket eder, Taylor konisi görülmez ve birçok boncuksuz yapı meydana gelir.



Şekil 2.13: Farklı voltaj değerlerinin Taylor koni formasyonuna etkisi

Çözelti besleme hızı

Çözelti akış hızı, jetin hızını ve malzeme transfer hızını etkileyen önemli bir parametredir. Akış hızındaki artış lif çapının kalın olmasını ve gözenek çapının büyük olmasına neden olur. Bunun nedeni uygulanan gerilimin sabit kalmasına bağlı olarak, çözelti besleme hızının artması sonucu malzemeyi inceletecek yeterli elektriksel kuvvetin sağlanamamasıdır [83].

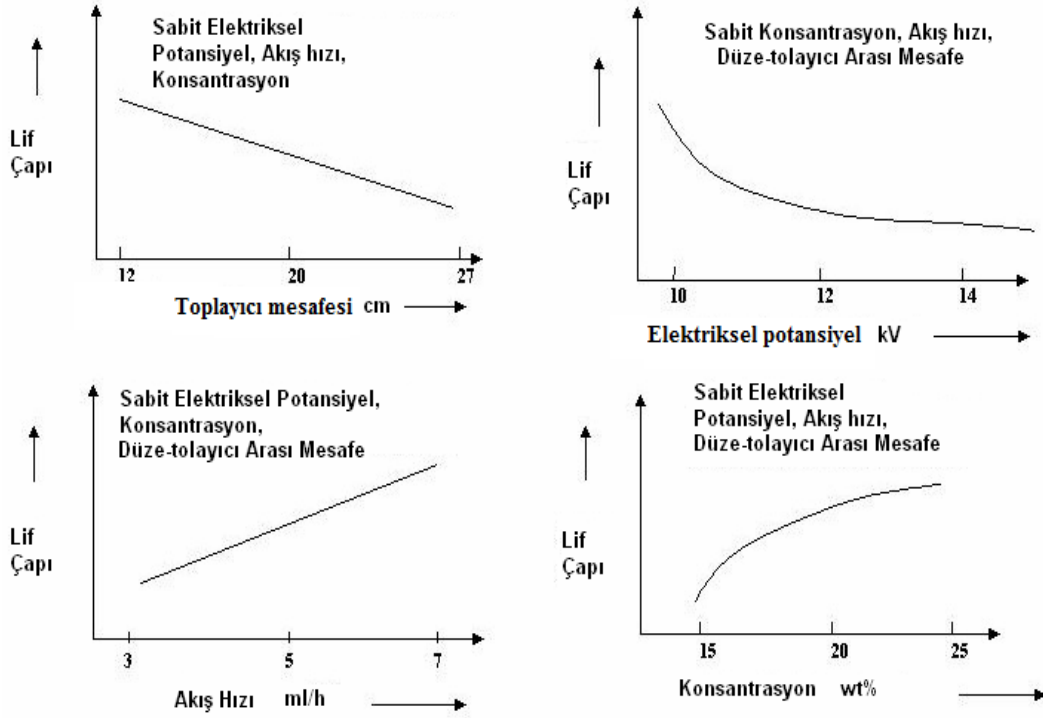
İğne ucundan beslenen çözelti hacminin daha fazla olmasına bağlı olarak, jetin kuruması daha uzun zaman alır. Bu durumda aynı uçuş süresinde toplanan lifler içindeki çözücü, buharlaşmak için yeterli süreyi bulamaz. Buharlaşmadan kalan bir miktar çözücü, lifler toplayıcı üzerinde konumlandıktan sonra buharlaşacağından, liflerin birbiri ile temas ettiği noktalarda yapışmalara neden olur [80].

İğne ucu-toplayıcı mesafesi

İğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe fiber toplanma zamanı ve çözeltinin buharlaşma hızı üzerine etki eder. Polimer çözeltisinde kullanılan çözücünün uçuculuğuna bağlı olarak mesafenin ayarlanması gerekmektedir. Çözücünün az uçucu olduğu durumlarda mesafenin uzak olması gerekirken, çözücünün çok uçucu olduğu durumlarda daha az bir mesafe yeterli olacaktır.

Kontrollü fiber çapı ve morfolojisi için iğne ucu ile toplayıcı arasında farklı mesafeler denenmiştir. Toplayıcıya ulaşmadan önce fiberlerin kuruması için yeterli sürenin olması minimum mesafe olarak bulunmuştur. Mesafe çok yakın ya da çok uzak olursa boncuksu yapılar gözlemlenmiştir [84].

Konsantrasyon, Uygulanan voltaj, Çözelti besleme hızı ve İne ucu ile toplayıcı arasında ki mesafenin fiber çapına etkisi şekil 2.14'de özetlenmiştir.



Şekil 2.14: Elektro-eğirme yönteminde lif çapına etki eden faktörler

Toplayıcı tipi

Elektro-eğirme prosesinde besleme ünitesi ve toplayıcı arasındaki elektriksel alana bağlı olarak jet oluşumu sağlanmaktadır. Bu elektriksel alanın sağlanabilmesi için toplayıcıda elektriksel iletkenliği yüksek materyaller kullanılmakta yada toplayıcı alüminyum folyo gibi iletken bir malzeme ile sarılarak topraklanmaktadır. Bu şekilde besleme ünitesi ile toplayıcı arasında stabil bir potansiyel fark oluşturulur [77]. Toplayıcı materyalinin yanında toplayıcı şekli de elektro-eğirme prosesinde oluşan nanofiberlerin yapısı üzerinde etkilidir. Toplayıcının şekli elektro-eğirme prosesinde oluşan liflerin konumlanma şekli ve yüzey özelliklerini etkilemektedir. Sabit bir plaka üzerinde toplanan lifler, birbiri üzerinde rastgele yer alır. Rastgele yer alma,

elektro-eğirme yöntemi ile elde edile nanolifli yüzeyin kullanım alanlarını sınırlamaktadır. Nanoliflerin kullanım alanlarını arttırmak için nanoliflerin çeşitli şekillerde hizalanması ve bunun için de farklı toplayıcı tipleri kullanılarak kontrollü nanolif yerleşmesi sağlanmaya çalışılmıştır. Bu amaçla döner silindir, taşıyıcı bant gibi hareketli toplayıcılar kullanılabilirken, paralel bilezik veya çerçevelerde kullanılabilir. Hareketli toplayıcıların dönüş hızları da oluşan liflerin hizalanmasında önemli bir etkiye sahiptir [80].

2.8.7.1.3. Çevresel koşullar

Çevresel koşullardan nem fiber yapısı önemli ölçüde etkilemektedir. Bağlı nem arttıkça lif çapının da arttığı görülmüştür. Lif çapının artmasının sebebi olarak, polimer çözeltisinin yüzeyinde oluşan elektrostatik yüklenmememe olduğu vurgulanmıştır. Bir başka ifadeyle lifin incilmesi için gerekli olan elektrik alan gücünün bağlı nem dolayısıyla azaldığı veya tam olarak yüzeye etki edememesidir [85].Yapılan çalışmalar %50 nem oranının altında yapılan çalışmalarda daha düzgün fiberlerin elde edildiğini göstermiştir. Ortamın nemi aynı zamanda üretim sırasında çözücünün fiberden buharlaşma hızını da etkilemektedir. Nemsiz ortamlarda çözücünün buharlaşma hızı daha yüksek olmaktadır. Çizelge 2.2'de elektro-eğirme proses parametreleri özet halinde verilmiştir [80].

Çizelge 2.2: Elektro-eğirme proses parametreleri

Elektro-eğirme proses parametreleri	
İğne ucu- Toplayıcı arası mesafe	Boncuk yoğunluğu ile ters orantılı Elektrik alan gücü ile ters Fiber çapı ile ters orantılı
Akış hızı	Elektrik akımı ile doğru orantılı Fiber çapı ile doğru orantılı Yüzey yük yoğunluğu ile ters ilişkili Yük yoğunluğu hacmi ile ters ilişkili
Voltaj	Yüzey yük yoğunluğu ile ters orantılı Boncuk formasyonu üzerinde direkt etkili Fiber çapı ile ters ilişkili Elektrik akım potansiyeli fiber uniformitesini arttırıyor.
Polimer konsantrasyonu	Fiber çapı ile doğru orantılı Fiber çapı güç yasası ile ilişkili
İyonik güç	Yük yoğunluğu ile doğru orantılı Boncuk yoğunluğu ile ters orantılı
Çözücü	Yük yoğunluğu hacmi üzerinde etkili Buharlaştırma ve katılaşma hızıyla direkt ilişkili
Sıcaklık	Viskozite ile ters orantılı Daha az boncuklu uniform fiberler
Viskozite	Çapla ve spinleme yeteneği ile parabolik ilişkide

2.9. İpeğin Yapısı ve Doku Mühendisliği Uygulamaları

Bombyx mori ipek kozasından elde edilen ipek lifleri, doğal makromolekül proteinler olan serisin ve fibroinden oluşmaktadır. Ham ipekte fibroin ve serisin yanında az miktarda yağ, mum, boya ve inorganik maddeler bulunmaktadır. Fibroin yapısı glisin ve alenin gibi polar olmayan amino asitlerce, serisin yapısı ise serin ve aspartik asit gibi polar amino asitlerce zengindir. Fibroin ipek lifinin eksenini

oluşturken; serisin, fibroinin etrafını yapışkan yapısı sayesinde sarmakta ve ipek liflerini bir arada tutulmasını sağlamaktadır. Serisin molekül ağırlığı 10-300 kDA arasında değişmektedir. Serisin fiziksel, kimyasal veya enzimatik yollarla parçalanabilmektedir. Parçalanma sonucunda serisinin molekül ağırlığı 5-20 kDA'ya kadar düşmektedir. Serisin ve fibroin arasındaki en önemli farklılık serisinin amorf yapısına karşılık fibroinde kristalin yapının ağırlık kazanmasıdır. Gerek amorf yapının gerekse içerdiği hidroksil ve karboksil gruplarının bir sonucu olarak serisin sıcak suda, özellikle hafif bazik yapıdaki sıcak suda kolaylıkla çözünmektedir. Ham ipek liflerinde bulunan yağ, anorganik maddeler ve boyar maddelerin tamamına yakın bir kısmı fibroini saran serisin tabakasında bulunmaktadır. Bu nedenle serisini uzaklaştırılan lifler bu yabancı maddelerden de arınmış olurlar [86].

İpeğin kimyasal bileşimi üretim koşulları ve böceğin kaynağına göre değişiklik gösterebilmektedir. Genel bileşim Çizelge 2.3'te gösterilmiştir:

Çizelge 2.3: Bombyx mori ipek kozasının bileşimi

Bileşen	%
Fibroin	70-80
Serisin	20-30
Vaks	0.4-0.8
Karbonhidratlar	1.2-1.6
İnorganik maddeler	0.7
Pigmetler	0.2
Toplam	100.0

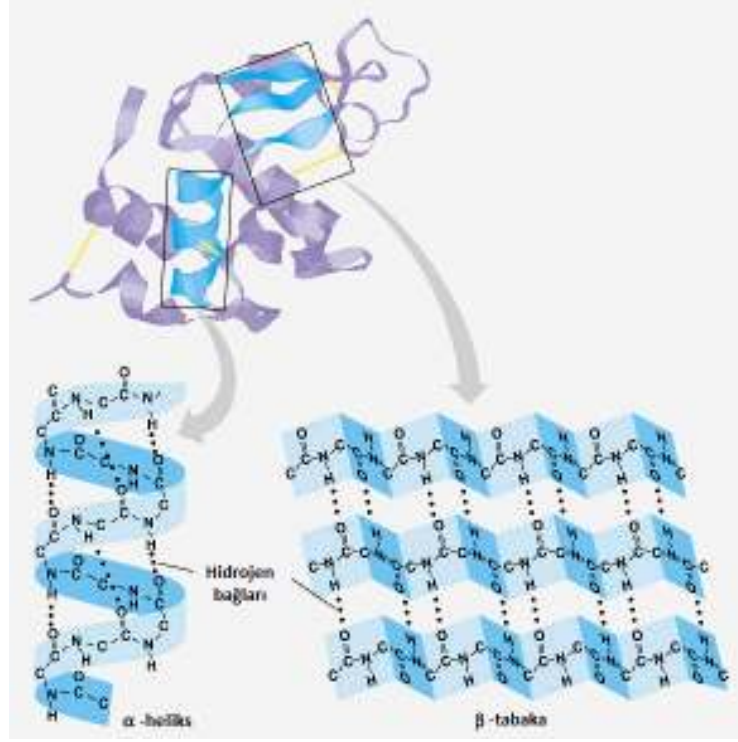
Bombyx mori ipek kozasının yapısında bulunan fibroinin kimyasal bileşiminde toplam on altı aminoasit bulunur. Bunların % 80'ini alanin, glisin ve serisin oluşturur. Bombyx mori fibroinin aminoasit bileşimi Çizelge 2.4' te gösterilmektedir.

Çizelge 2.4:Bombyx mori ipek fibroninin aminoasit bileşimi

Aminoasit	Kompozisyon, mol %		
	Toplam	Sert Kısımlar	Yumuşak Kısımlar
Glisin	42.9	49.4	10.0
Alanin	30.0	29.8	16.9
Serisin	12.2	11.3	7.9
Tirosin	4.8	4.6	3.4
Valin	2.5	2.0	7.4
Aspartik asit	1.9	0.65	15.4
Glutamik asit	1.4	0.70	8.4
Treonin	0.92	0.45	2.8
Fenilalanin	0.67	0.39	2.7
Metionin	0.37	-	0.37
İzolesin	0.64	0.14	7.3
Lesin	0.55	0.09	7.2
Prolin	0.45	0.31	3.0
Arginin	0.51	0.18	3.8
Histidin	0.19	0.09	1.6
Lisin	0.38	0.06	1.5

İpek fibroini ikincil protein yapısındadır. İkincil yapıdaki proteinler için üç değişik yapı tanımlanmaktadır. Bu yapılar; gelişigüzel sarmal, α -heliks ve β -konformasyonu şeklinde sıralanır. α -heliks yapısında protein zinciri bir sarmal şeklinde ve birbirinin üstüne gelen amino asitlerin birbiriyle hidrojen bağı yapabileceği şekilde dizilmesinden oluşur. β -konformasyonunda, makromoleküler bir katlı tabaka veya katman oluşturacak şekilde birbirine paralel veya antiparalel şekilde bağlanmaktadır. Şekil 2.15'te ipek fibronin α -heliks ve β -konformasyonu gösterilmiştir [87].

Çeşitli fiziksel ve kimyasal yollarla ipek fibroinin düzensiz formdan β -konformasyonuna dönüşümü yapılabilmektedir. Bu dönüşüm sayesinde ipek fibroin daha etkin bir şekilde biyomateryal olarak kullanılabilir. Bunun nedeni β -düzlemsel tabaka yapısının suda kararlı olması ve daha iyi mekanik özelliklere sahip olmasıdır [88].



Şekil 2.15: İpek fibronin α -heliks ve β -konformasyonu

Tekstil endüstrisinde uzun zamandır kullanılan ipek, son zamanlarda biyomateryal malzeme olarak da kullanılmaya başlanmıştır. İpek fibroin bugüne kadar çoğunlukla yara iyileştirilmesinde kullanılan materyaller, başarıyla uygulanan yapay kan damarları ve ameliyat iplikleri olarak birçok kez kullanılmıştır. Geliştirilen yeni işleme teknikleri ile ipek proteinin biyomedikal alanda kullanımı yaygınlaşmıştır.

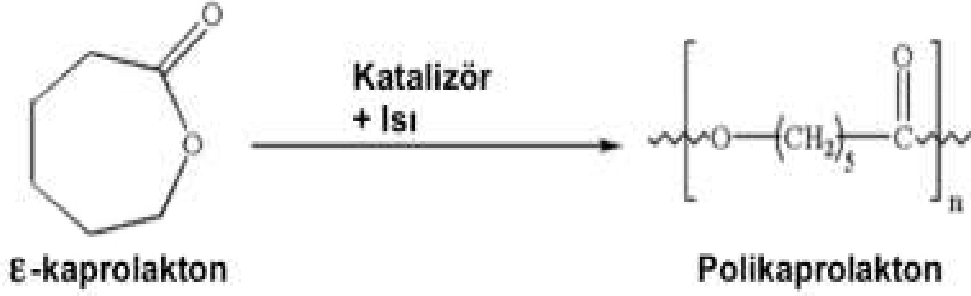
İpek fibroinin biyoyumluluğu, kolay işlenebilirliği, toksik özellik göstermemesi ve biyobozunurluk gibi özellikleri doku iskelesi çalışmalarında ipek fibroni önemli bir materyal konumuna getirmiştir. Doku iskelesi üretiminde kullanılacak materyalde istenen özelliklerin birçoğuna sahip olan ipek fibroinin doku mühendisliği çalışmalarında giderek artması beklenmektedir [89].

2.10. Polikaprolakton

Alifatik bir poliester olan Poli(ϵ -kaprolakton) (PCL). biyobozunur sentetik bir polimerdir. PCL camsı geçiş sıcaklığı, T_g , -60 °C civarında olan, erime sıcaklığı, T_m , kristalin yapısına bağlı olarak, $59-64$ °C aralığında değişen yarı kristalin bir polimerdir. Oldukça düşük camsı geçiş sıcaklığına sahip olmasına bağlı olarak oda

sıcaklığında kauçuğumsu bir yapıya sahiptir. Bu nedenle bozunması PLA ve PGA'dan daha yavaştır.

PCL, ϵ -kaprolaktonun, 170 °C'de, azot atmosferinde, dibutil kalay oksit (Bu_2SnO) katalizörünün varlığında gerçekleşen, halka açılma polimerizasyonu ile sentezlenmektedir (Şekil 2.16).



Şekil 2.16: ϵ -kaprolaktonun halka açılma polimerizasyonu ile PCL sentezi.

Ayrıca, ϵ -kaprolakton çok sayıda farklı monomerle (etilen oksit, stiren, metil metakrilat, vinil asetat vb.) kopolimerleştirilebilmektedir. Bunların dışında PCL birçok farklı polimerle uyumlu karışım oluşturma eğilimindedir. Bu özellikleri sayesinde PCL, doku mühendisliği çalışmalarında hem tek başına, hem de diğer polimerlerle birlikte kullanılmaktadır.

İn vivo bozunması yavaştır ve enzimatik hidrolizle yıkılır. Birçok ilaç için yüksek geçirgenliğe sahiptir. Bu nedenle kontrollü ilaç salınım sistemlerinde çok tercih edilen bir polimerdir. Sayıca ortalama molekül ağırlığı (M_n) 10000 ve 80000 arasında değişmektedir. Toksik özelliği çok düşük olan PCL biyoyumluluk açısından PLA ve PGA ile benzer özellikler göstermektedir.

PCL, tetrahidrofur (THF), kloroform, toluen, diklorometan ve benzen gibi birçok çözücü içinde çözünebilmektedir. Aseton, asetonitril, dimetilformamid ve etil asetat gibi çözücüler içinde oldukça düşük çözünürlüğe sahip olan bu polimer alkol, petrol eteri ve dietil eter içinde çözünmemektedir.

Fizyolojik koşullar altında (insan vücudu gibi) yapısındaki ester bağlarının hidrolizi ile bozulan PCL, hidrofobik yapısına ve yüksek kristalinitesine bağlı olarak, PGA ve diğer polimerlere göre daha yavaş bozunmaya uğradığı, dolayısıyla fiziksel özelliklerini daha uzun süre koruyabildiği için özellikle implantların yapımında ve en az 6 aylık, uzun süreli ilaç salım sistemlerinde sıkça tercih edilmektedir. PCL'un

yığın bozunması 2 fazda incelenebilmektedir: (1) zincir kopmasına bağı olarak Mn'da 5000'e varan azalma, (2) ağırlık kaybının başlaması. PCL'un su içeren ortamlardaki bozunması otokatalitiktir, çünkü bozunma sırasında serbest kalan karboksilik asit uç grupları, hidrolizi katalizleyerek yeni ester gruplarının yıkımını sağlamaktadır. Bozunmada ilk basamakta ağırlık kaybı gözlemlenmemekte, ikinci basamakta ise yığın polimerik yapıdan difüzyon ile uzaklaşabilecek kadar küçük zincirler kopmaya başlamaktadır. Bozunma polimerin amorf bölgelerinden gerçekleştiği için, artan kristalinite ile bozunma hızı ters orantılıdır. PCL'un vücut içindeki bozunması sonrasında açığa çıkan bozunma ürünleri ise trikarboksilik asit çevrimi veya renal sekresyon ile metabolize edilmektedir. Kapsamlı bir şekilde yürütülmüş olan in vitro ve in vivo çalışmalar sonucunda, PCL birçok medikal ve ilaç salım cihazı için FDA tarafından onaylanmıştır. PCL, yumuşak ve sert doku uyumluluğundan dolayı dikiş ipliği, adhezyon bariyeri, ilaç salım cihazı, kemik ve deri yaması olarak kullanılmaktadır, ayrıca doku rejenerasyonunun amaçlandığı çalışmalarda, yaygın bir şekilde doku iskelesi olarak kullanımı araştırılmaktadır [90].

3.MATERYAL ve METOT

3.1. Kullanılan Malzemeler

- Elektroeğirme Cihazı
- Hassas Terazı
- Vorteks
- Etüv
- Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı
- SEM
- Enjektör
- Diyaliz Membran
- Polikaprolakton
- Kloroform
- İpek kozası
- DMF (Dimetilformamid)
- Etanol
- 10ml, 25ml, 50ml, 100ml beher
- 1ml, 2ml, 5ml, 10ml pipet
- Mikropipet
- Pastör pipet
- Cam / Plastik petri kabı
- Puar
- Mezür
- Manyetik karıştırıcı
- Pens
- Bistüri

3.2. Fibroin İzolasyonu ve Saflaştırılması

Çift katlı membranların bir tabakasını oluşturacak olan fibroin proteini, ipek böceği kozalarından saflaştırılmıştır. Saflaştırma işlemi ile kozalara yapışkanlık özelliği veren serisin proteinin uzaklaştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla kozalar kesilerek ipek böcekleri çıkarılmış ve daha sonra kozalar küçük parçalar oluşturacak şekilde kesilmiştir. Kesilen parçalardan alınan 2.5 gram ipek, 1 litre kaynayan suya 2.12 g Na_2CO_3 gelecek şekilde 30 dk boyunca kaynatılmıştır. Bu işlem toplamda 3 kez yapılarak ipek içerisindeki serisin proteinin tamamen ekstrakte edilmesi sağlanmıştır. Saflaştırılmış olan ipek fibroin alkali ortamın uzaklaştırılması amacıyla birkaç defa saf su ile yıkanır. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra etüvde 35 °C'de bir gün boyunca kurutulmuştur. Kuru fibroin filamentlerinin 9.3 M LiBr çözeltisinde 60°C'de 4 saat boyunca tutularak çözünmesi sağlanmıştır. Çözünme işlemi gerçekleştirildikten sonra elde edilen çözelti diyaliz membran yardımıyla saf suya karşı 2 gün boyunca diyaliz edilmiştir. Diyaliz sonucu elde edilen ipek fibroin süzgeç kağıdı yardımı ile filtre edildikten sonra petri kaplarına konularak dondurulduktan sonra 2 gün süreyle liofilize edilmiştir.

3.3. Çift Katmanlı PCL/SF Nanofibröz Membran Hazırlanması

Tendonu oluşturan fiber demetlerinin uzun bir eksen boyunca belli bir düzene göre dizilmesi, tendonun çekme dayanımını arttırdığı için oluşturacak membranın yapısının da aynı özelliklere sahip olması amaçlanmıştır. Tendon hücrelerin ipek fibroinde daha iyi gelişebildiği ve çoğalabildiği bilindiğinden, üst katmanın ipek fibroin nanofibröz membran ile kaplanması düşünülmüştür. Bu amaçla alt katman bir eksen boyunca yönelmiş PCL membrandan, üst katman ise sırasıyla PCL ile aynı yönlü, dik yönlü ve yönlendirilmemiş ipek fibroinden oluşan membranlardan hazırlanmıştır.

3.3.1. PCL nanofibröz membranların hazırlanması

Elektroçirme cihazı; pompa, yüksek voltaj kaynağı (0-30kW), plaka, döner silindir ve bu parçaların adaptörlerinden oluşmaktadır. İğne ucunun yerleştirildiği sistemin kızıllı bir yapıya sahip olması iğne ucu ile plaka arasında istenilen mesafenin

ayarlanmasını sağlamaktadır. PCL nanofibröz membranların hazırlanması için öncelikle granül halindeki PCL'nun, kloroform içinde 12 saat boyunca manyetik karışma yardımıyla çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra çözeltiliye elektriksel iletkenlik sağlaması için DMF eklenerek 3 saat daha karıştırılmıştır. Konsatrasyonu %10-12.5 (w/v) olacak şekilde hazırlanan çözeltili elektroegirme yöntemi için uygun hale getirilmiştir. Elde edilen çözeltili 5ml'lik şırıngaya alınarak pompaya yerleştirilmiştir. Pompa çalıştırılıp iğne ucundan çözeltili akmaya başladığı an voltaj uygulanarak fiberlerin oluşması sağlanmıştır. Pompa akış hızı, iğne ucu-plaka mesafesi, iğne ucundaki voltaj, konsantrasyon gibi değişken parametlerin ortaya çıktığı elektro egirme yönteminde bu değerlerden herhangi 3 tanesi sabit tutularak tek bir değişken ile en uygun yönlenmenin bulunabilmesi için birçok deneme yapılmıştır. Bu denemeler sonucu, yönlendirilmiş PCL nanofiberlerin oluşturulabildiği optimum koşullar seçilerek deneylere bu koşullarda devam edilmiştir.

3.3.2. Silk fibroin nanofibröz membranların hazırlanması

Saflaştırılarak kurutulmuş ipek fibroinin,%12.5 (w/v) konsantrasyonunda 1,1,1,3,3,3-Hegzafloro-2-propanol (HFIP) içereinde manyetik karıştırıcı yardımıyla çözünmesi sağlanmıştır. 3 saat boyunca düşük hızda karışan çözeltili elektroegirme için uygun hale geldikten sonra, çözeltili elektroegirme için şırıngaya alınmıştır. Elektroegirme yöntemi ile çeşitli şartlarda membranlar hazırlanmıştır. Çözücünün çok uçucu olması yüksek voltaj değerlerine çıkılmasını engellemiştir.

Çift katmanlı membranların hazırlanması amacıyla, ipek fibroin çözeltilisinin elektroegirme prosesi, fibroin nanofiberlerinin daha önceden hazırlanmış olan ve döner silindir üzerine fiber yönlenmesi dikkate alınarak uygun yönde sarılan PCL membranlar üzerine toplanacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Belirlenen miktarda fibroin çözeltilisinin tamamı proses edildikten sonra, oluşan PCL/SF nanofibröz membran döner silindirden katmanların birbirinden ayrılmasına izin vermeden dikkatlice çıkartılmıştır. İpek fibroinin suda kararsız α -heliks yapıdan suda kararlı β -tabakalı yapıya geçmesi için %75'lik etanolde 1dk boyunca bekletilmiştir. Son olarak vakum altında bir gün boyunca kurutulmuştur.

3.4. Spiral Formda PCL/SF Nanofibröz Doku İskelelerinin Hazırlanması

Çift katlı olarak hazırlanan membranlar herhangi bir cihaz kullanılmadan çapları 8 mm olacak şekilde dairesel olarak katlanmış ve doku yapıştırıcısı (Glubran 2®, GEM, İtalya) ile stabil hale getirilmiştir.

3.5. Çift Katmanlı PCL/SF Nanofibröz Membranların ve Spiral Formlu Doku İskelelerinin Karakterizasyonu

3.5.1. Morfolojik analiz

PCL/SF örneklerinin membran formdaki ve 3 boyutlu spiral formdaki morfolojilerini incelemek amacı ile Taramalı Elektron Mikroskobu'ndan (XL30 ESEM-FEG, FEI-Philips, Hollanda) yararlanılmıştır. Doku iskeleleri, SEM karakterizasyonundan önce 3mm yüksekliğinde bisturi ile kesildikten sonra platin ile ince bir tabaka şeklinde kaplanmıştır.

3.5.2. FTIR analizleri

PCL doku iskelesinin üst kısmını kaplayan ipek fibroin proteininin sulu ortamdaki dayanımı arttırmak için doku iskelesi 15 dk etanolde bekletilmiş ve daha sonra bir gün boyunca vakum altında kurutulmuştur. Bu sırada protein konformasyonunun α -heliks yapıdan β -düzlemsel tabakalı yapıya geçişinin ispatlanması için örneklerin Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR) analizi yapılmıştır.

3.5.3. Mekanik testler

PCL ve ipek fibroin çift katmalı membranlarında yönlenme yönlerinin membranların mekanik özelliklerine etkisini incelemek amacıyla çekme testi uygulanmıştır. Membranlardan hazırlanan doku iskelelerinin yapısı nedeniyle çeneye tuturulmaları ve bu şekilde tests uygulanması oldukça zor ve hata getiren bir durum olduğundan, örneklerin çekme dayanımı hakkında bilgi sahibi olmak için 1x2.5 cm (width/height) boyutlarında kesilen çift katlı membranlar teste tabii tutulmuştur. Testler, universal test cihazında (Zwick/Roell, Almanya) 50N yük hücresi ve

30mm/dk çekme hızıyla gerçekleştirilmiştir. Örneklerin çekme dayanımı, Young Modülü ve % uzama değerleri çekme-uzama eğrilerinden hesaplanmıştır (n=5).

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu tez kapsamında elektroğirme yöntemi ile oda sıcaklığında elastik özellik gösteren biyobozunur sentetik polikaprolakton polimeri ile ipek fibroin polimerinden yönlendirilmiş nanofiber yapılar üretilmiştir. Bu yapıların birleştirilmesiyle de çift katmanlı doku iskelesi elde edilmiştir. Çift katmanlı doku iskelesinin alt katmanı polikaprolaktondan, üst katmanı ipek fibroinden oluşturulmuştur. Mekanik özellikleri karşılaştırmak amacıyla membranlar fiber yönelimleri aynı yönlü, birbirlerine dik ve yönelmenin olmadığı 3 farklı durumda birleştirilerek spiral hale getirilmiştir. Buradaki amaç hem mekanik dayanımı yüksek hem de hücre büyümesine olumlu katkı sağlayacak morfolojiye ve kimyasal yapıya sahip yönlendirilmiş nanofiber yapısındaki polimerik doku iskelelerinin üretilmesidir.

4.1. Yönlendirilmiş Nanofibröz Membran Eldesi İçin Optimum Koşulların Belirlenmesi

Elektroğirme yönteminde uygulanan voltaj, pompa akış hızı, iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafe ve konsantrasyon gibi değişken değerlerinin her birinin tek başına etkili olduğu görülmüştür. Optimum koşulların bulunması için sırasıyla tek bir değişken değiştirilmiş, diğer değişkenler sabit tutulmuştur.

PCL için yapılan tüm denemeler Çizelge 4.1-4.20'de verilmiştir. Konsantrasyonun fiber oluşumu ve boncuksu yapıların olup olmaması ile yakından ilişkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda konsantrasyonun %5-%11 (w/v) olduğu aralıkta fiber oluştuğu gözlenmiş ancak istenmeyen boncuksu yapılar meydana gelmiştir. Konsantrasyonun %12.5 olduğu durumlarda ise boncuksu yapıların oluşmadığı ve fiberlerin düzgün bir akışla oluştuğu görülmüştür. Konsantrasyonun daha da arttırılması durumunda yüksek viskoziteden dolayı fiberlerin oluşmadığı gözlenmiştir.

Voltaj değeri; uzaklık, konsantrasyon ve akış hızına bağlı olarak irdelenmiştir. Toplayıcı ile iğne ucu arasındaki mesafenin fazla olduğu durumlarda (22-16cm) fiber oluşumu için yüksek voltaj değerleri ($x > 15kV$) gerekirken aradaki mesafenin daha az olduğu durumlarda (16-8cm) düşük voltajlarda fiberlerin oluştuğu tespit edilmiştir. Konsantrasyon değerlerine bağlı olarak voltaj miktarının da doğru orantılı artması gerektiği görülmüştür. Aynı mesafe ve akış hızında, değişik konsantrasyonlarla yapılan çalışmalarda konsantrasyon miktarı arttıkça fiber oluşması için gerekli voltaj değerleri de artmıştır. Akış hızının boncuksu yapının gözlenmemesi ve yönlenmenin meydana gelebilmesi için önemli bir parametre olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalarda, diğer parametreler sabit tutulup akış hızının değeri arttırıldığında çözücünün yeteri kadar buharlaşmadığı ve boncuksu yapıların oluştuğu saptanmıştır. Akış hızının azaltıldığı durumlarda ise belli bir hızdan sonra iğne ucunda donmalar yaşandığı ve düzgün bir akışın meydana gelmediği görülmüştür.

Çizelge 4.1: Voltaj 15 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
1	%10	4	22	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok.
2	%10	4	20	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok.
3	%10	4	18	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok.
4	%10	4	16	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok.
5	%10	4	14	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok.
6	%10	4	12	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok.
7	%10	4	10	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok.
8	%10	4	9	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok.
9	%10	4	8	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok.

Çizelge 4.2: Voltaj 15 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
10	%10	2	22	15	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar az.
11	%10	2	20	15	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar az.
12	%10	2	18	15	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar az.
13	%10	2	16	15	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar çok fazla.
14	%10	2	14	15	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar çok fazla
15	%10	2	12	15	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar çok çok fazla.
16	%10	2	10	15	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar çok fazla.
17	%10	2	9	15	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar çok fazla.
18	%10	2	8	15	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar çok fazla.

Çizelge 4.3: Voltaj 15 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
19	%10	1	22	15	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
20	%10	1	20	15	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
21	%10	1	18	15	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
22	%10	1	16	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok az.
23	%10	1	14	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok az.
24	%10	1	12	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
25	%10	1	10	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
26	%10	1	9	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
27	%10	1	8	15	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.

Çizelge 4.4: Voltaj 16 kW'da sabitken yönlendirme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
28	%10	2	22	16	Yönlendirme çok çok az. Boncuksu yapılar az.
29	%10	2	20	16	Yönlendirme çok çok az. Boncuksu yapılar az.
30	%10	2	18	16	Yönlendirme çok çok az. Boncuksu yapılar az.
31	%10	2	16	16	Yönlendirme yok. Boncuksu yapılar fazla.
32	%10	2	14	16	Yönlendirme yok. Boncuksu yapılar fazla
33	%10	2	12	16	Yönlendirme yok. Boncuksu yapılar çok fazla
34	%10	2	10	16	Yönlendirme yok. Boncuksu yapılar çok fazla
35	%10	2	9	16	Yönlendirme yok. Boncuksu yapılar çok fazla
36	%10	2	8	16	Yönlendirme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.

Çizelge 4.5 : Voltaj 16 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
37	%10	1	22	16	Yönlenme az. Boncuksu yapılar çok az.
38	%10	1	20	16	Yönlenme az. Boncuksu yapılar çok az.
39	%10	1	18	16	Yönlenme az. Boncuksu yapılar az.
40	%10	1	16	16	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
41	%10	1	14	16	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
42	%10	1	12	16	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
43	%10	1	10	16	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.
44	%10	1	9	16	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.
45	%10	1	8	16	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.

Çizelge 4.6: Voltaj 17 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
46	%10	2	22	17	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar az.
47	%10	2	20	17	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar az.
48	%10	2	18	17	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar az.
49	%10	2	16	17	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
50	%10	2	14	17	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
51	%10	2	12	17	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
52	%10	2	10	17	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
53	%10	2	9	17	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.
54	%10	2	8	17	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.

Çizelge 4.7 : Voltaj 17 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
55	%10	1	22	17	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
56	%10	1	20	17	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
57	%10	1	18	17	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
58	%10	1	16	17	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
59	%10	1	14	17	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
60	%10	1	12	17	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
61	%10	1	10	17	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
62	%10	1	9	17	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
63	%10	1	8	17	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.

Çizelge 4.8: Voltaj 18 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
64	%10	2	22	18	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar az.
65	%10	2	20	18	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar az.
66	%10	2	18	18	Yönlenme çok çok az. Boncuksu yapılar az.
67	%10	2	16	18	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
68	%10	2	14	18	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
69	%10	2	12	18	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
70	%10	2	10	18	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.
71	%10	2	9	18	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.
72	%10	2	8	18	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.

Çizelge 4.9: Voltaj 18 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
73	%10	1	22	18	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
74	%10	1	20	18	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
75	%10	1	18	18	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
76	%10	1	16	18	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok az.
77	%10	1	14	18	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
78	%10	1	12	18	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
79	%10	1	10	18	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
80	%10	1	9	18	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
81	%10	1	8	18	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.

Çizelge 4.10 : Voltaj 19 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
82	%10	2	22	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az
83	%10	2	20	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
84	%10	2	18	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
85	%10	2	16	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
86	%10	2	14	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
87	%10	2	12	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
88	%10	2	10	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.
89	%10	2	9	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.
90	%10	2	8	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.

Çizelge 4.11: Voltaj 19 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
91	%10	1	22	19	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
92	%10	1	20	19	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
93	%10	1	18	19	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
94	%10	1	16	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
95	%10	1	14	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
96	%10	1	12	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla
97	%10	1	10	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla
98	%10	1	9	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla
99	%10	1	8	19	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla

Çizelge 4.12 : Voltaj 14 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deneş No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
100	%10	1	22	14	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
101	%10	1	20	14	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
102	%10	1	18	14	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok az.
103	%10	1	16	14	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok az.
104	%10	1	14	14	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok az.
105	%10	1	12	14	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
106	%10	1	10	14	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar az.
107	%10	1	9	14	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
108	%10	1	8	14	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.

Çizelge 4.13 : Voltaj 13 kW'da sabitken yönlendirme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deneysel No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
109	%10	1	22	13	Yönlendirme çok az. Boncuksu yapılar az.
110	%10	1	20	13	Yönlendirme çok az. Boncuksu yapılar az.
111	%10	1	18	13	Yönlendirme çok az. Boncuksu yapılar az.
112	%10	1	16	13	Yönlendirme çok az. Boncuksu yapılar az.
113	%10	1	14	13	Yönlendirme yok. Boncuksu yapılar fazla.
114	%10	1	12	13	Yönlendirme yok. Boncuksu yapılar fazla.
115	%10	1	10	13	Yönlendirme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.
116	%10	1	9	13	Yönlendirme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.
117	%10	1	8	13	Yönlendirme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.

Çizelge 4.14: Voltaj 13 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
118	%12.5	1	22	13	Yönlenme az. Boncuksu yapı hiç yok.
119	%12.5	1	20	13	Yönlenme az. Boncuksu yapı hiç yok.
120	%12.5	1	18	13	Yönlenme az. Boncuksu yapı hiç yok.
121	%12.5	1	16	13	Yönlenme az. Boncuksu yapı hiç yok.
122	%12.5	1	14	13	Yönlenme az. Boncuksu yapı hiç yok.
123	%12.5	1	12	13	Yönlenme fazla. Boncuksu yapı hiç yok.
124	%12.5	1	10	13	Yönlenme fazla. Boncuksu yapı az.
125	%12.5	1	9	13	Yönlenme fazla. Boncuksu yapı az.
126	%12.5	1	8	13	Yönlenme fazla. Boncuksu yapı fazla.

Çizelge 4.15: Voltaj 12 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deneysel No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
127	%10	1	22	12	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar az.
128	%10	1	20	12	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar az.
129	%10	1	18	12	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar az.
130	%10	1	16	12	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar fazla.
131	%10	1	14	12	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar fazla.
132	%10	1	12	12	Yönlenme yok. Boncuksu yapılar çok fazla.
133	%10	1	10	12	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok fazla.
134	%10	1	9	12	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok fazla.
135	%10	1	8	12	Yönlenme çok az. Boncuksu yapılar çok fazla.

Çizelge 4.16 : Voltaj 12 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
136	%12.5	1	22	12	Yönlenme az. Boncuksu yapı hiç yok.
137	%12.5	1	20	12	Yönlenme az. Boncuksu yapı hiç yok.
138	%12.5	1	18	12	Yönlenme az. Boncuksu yapı hiç yok.
139	%12.5	1	16	12	Yönlenme az. Boncuksu yapı hiç yok.
140	%12.5	1	14	12	Yönlenme fazla. Boncuksu az.
141	%12.5	1	12	12	Yönlenme fazla. Boncuksu az.
142	%12.5	1	10	12	Yönlenme fazla. Boncuksu yapı az.
143	%12.5	1	9	12	Yönlenme fazla. Boncuksu yapı az.
144	%12.5	1	8	12	Yönlenme fazla. Boncuksu yapı fazla

Çizelge 4.17 : Voltaj 11 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
145	%10	1	22	11	Yönlenme az. Boncuksu yapılar çok az.
146	%10	1	20	11	Yönlenme az. Boncuksu yapılar çok az.
147	%10	1	18	11	Yönlenme az. Boncuksu yapılar çok az.
148	%10	1	16	11	Yönlenme az. Boncuksu yapılar çok az.
149	%10	1	14	11	Yönlenme az. Boncuksu yapılar fazla
150	%10	1	12	11	Yönlenme az. Boncuksu yapılar çok fazla.
151	%10	1	10	11	Yönlenme fazla. Boncuksu yapılar çok fazla.
152	%10	1	9	11	Yönlenme fazla. Boncuksu yapılar çok fazla.
153	%10	1	8	11	Yönlenme az. Boncuksu yapılar çok fazla.

Çizelge 4.18 : Voltaj 11 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
154	%12.5	1	22	11	Yönlenme az. Boncuksu yapı hiç yok.
155	%12.5	1	20	11	Yönlenme az. Boncuksu yapı hiç yok.
156	%12.5	1	18	11	Yönlenme az. Boncuksu yapı hiç yok.
157	%12.5	1	16	11	Yönlenme az. Boncuksu yapı hiç yok.
158	%12.5	1	14	11	Yönlenme az. Boncuksu yapı az.
159	%12.5	1	12	11	Yönlenme fazla. Boncuksu yapı az.
160	%12.5	1	10	11	Yönlenme fazla. Boncuksu yapı az.
161	%12.5	1	9	11	Yönlenme az. Boncuksu yapı az.
162	%12.5	1	8	11	Yönlenme az. Boncuksu fazla.
163	%12.5	0.9	12	11	Yönlenme çok fazla. Boncuksu yapılar çok az.

164	%12.5	0.9	11	11	Yönlenme çok fazla. Boncuksu yapılar çok az.
165	%12.5	0.9	10	11	Yönlenme çok fazla. Boncuksu yapılar az.
166	%12.5	0.9	9	11	Yönlenme çok fazla. Boncuksu yapılar az.
167	%12.5	0.9	8	11	Yönlenme çok fazla. Boncuksu yapılar fazla.

Çizelge 4.19 : Voltaj 11 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
*168	%12.5	0.8	12	11	Yönlenme çok fazla. Boncuksu yapılar hiç yok.
*169	%12.5	0.8	11	11	Yönlenme çok fazla. Boncuksu yapılar hiç yok.
*170	%12.5	0.8	10	11	Yönlenme çok fazla. Boncuksu yapılar hiç yok.
*171	%12.5	0.8	9	11	Yönlenme mükemmel. Boncuksu yapılar hiç yok
*172	%12.5	0.8	8	11	Yönlenme çok fazla. Boncuksu yapılar hiç yok.
173	%12.5	0.8	7	11	Yönlenme fazla. Boncuksu yapılar az.

Çizelge 4.20 : Voltaj 10 kW'da sabitken yönlenme ve boncuksu yapıların uzaklığa bağlı değişimi

Deney No	Konsantrasyon (w/v)	Pompa akış hızı (ml/h)	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Sonuç
174	%10	1	22	10	Yönlenme az. Boncuksu yapılar çok az.
175	%10	1	20	10	Yönlenme az. Boncuksu yapılar çok az.
176	%10	1	18	10	Yönlenme az. Boncuksu yapılar az.
177	%10	1	16	10	Yönlenme az. Boncuksu yapılar fazla.
178	%10	1	14	10	Yönlenme az. Boncuksu yapılar fazla.
179	%10	1	12	10	Yönlenme fazla. Boncuksu yapılar çok fazla.
180	%10	1	10	10	Yönlenme fazla. Boncuksu yapılar çok fazla.
181	%10	1	9	10	Yönlenme fazla. Boncuksu yapılar çok fazla.
182	%10	1	8	10	Yönlenme az. Boncuksu yapılar çok fazla.

Çift katmanlı doku iskelesinin üst kısmını oluşturan ipek fibroinin elektroğirme ile yönlendirme sonuçları PCL polimerinde elde edilen sonuçlar kadar verimli olmamıştır. Gerek ipek fibroin proteinin molekül ağırlığına gerekse de çözücüsünün çok düşük buharlaşma sıcaklığına bağlı olarak, stabil bir elektroğirme prosesi gerçekleştirilememiştir. Çözücünün çok düşük sıcaklıklarda buharlaşmasından dolayı yüksek voltaj değerlerinde iğne ucunda donma, tıkanma gibi problemler yaşanmıştır. İğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe arttırılarak çıkılan yüksek voltaj değerlerinde ise yönlenmenin oluşmadığı ve boncuksu yapıların olduğu görülmüştür. Bu veriler ışığında, düşük voltaj değerlerinde çalışılmak zorunda kalınmıştır. Düşük voltaj değerlerinde çalışıldığında yeterli miktar çözücü buharlaşmadığı için boncuksu yapıların devam ettiği görülmüştür. Konsantrasyon oranını yükselterek yapılan çalışmalarda da boncuksu yapının önüne geçilememiştir. Boncuksu yapıları engellemek için %13' (w/v)'ün üzerine çıkılan konsantrasyonlarda fiber oluşumunun olmadığı çok viskoz bir çözelti elde edilmiştir.

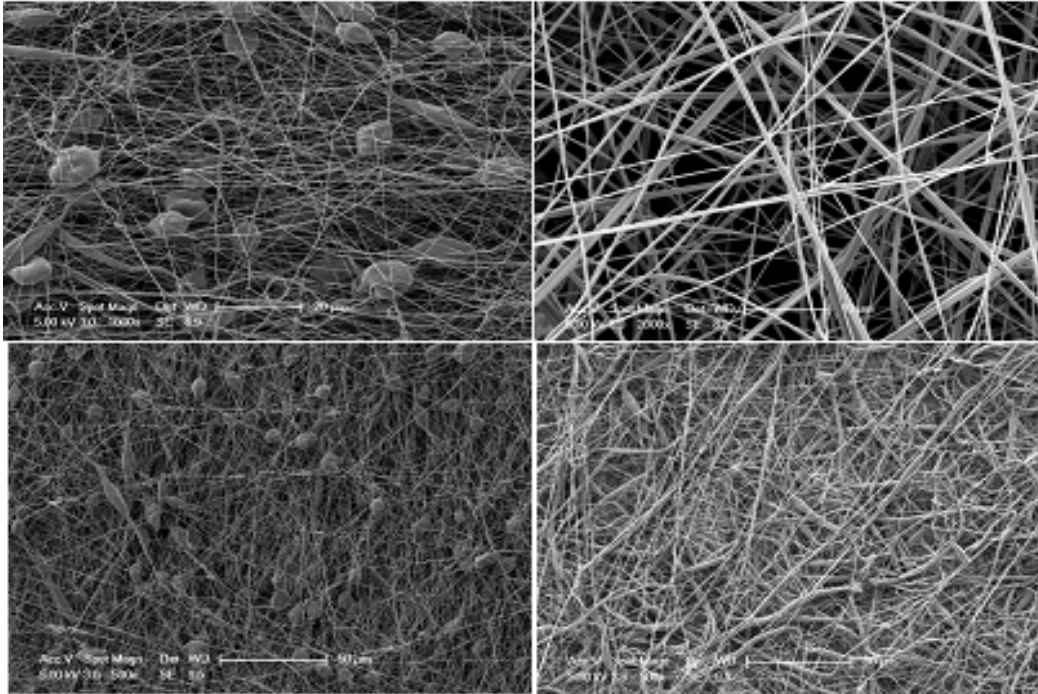
4.2. Çift Katmanlı PCL/SF Nanofibröz Membranların ve Spiral Formlu Doku İskelelerinin Karakterizasyonu

4.2.1. Morfolojik analiz

Ortopedik uygulamalarda kullanılmak üzere üretilen bir doku iskelesi tasarımında karşılaşılan en önemli güçlüklerden biri, kullanılan üç boyutlu yapının doku rejenerasyonuna biyolojik olarak destek olurken mekanik olarak da gereksinimi karşılayabilmesini sağlamaktır. Bu mekanik gereksinimin en fazla olduğu dokulardan biri de tendon ve ligamentlerdir. Bu nedenle, hücre büyüme ve yönlenmesini sağlarken tendonun elastik modülüne yaklaşık bir mekanik mukavemete sahip olabilme özelliklerine sahip elektroğirme prosesi ile üretilmiş polimer matların [91, 92, 93] ya da örgülü fibröz malzemelerin [94, 95] kullanımı artmaktadır. Ancak diğer geleneksel doku mühendisliği matriksleri ile karşılaştırıldığında, bu matriksler yoğun yapısı nedeniyle sınırlı bir hücre penetrasyonuna izin verebilmektedir. Doku iskelesinin bağlı yoğunluğunun (doku iskelesinin yoğunluğunun, iskelenin üretildiği materyalin yoğunluğuna oranı) artması hücre penetrasyonunun sterik olarak engellenmesine ve doku iskelesinin geçirgenliğinin azalmasına sebep olmaktadır [96]. Bağlı yoğunluğun daha az olduğu çok gözenekli (>90%) 3D yapılar ise hücre

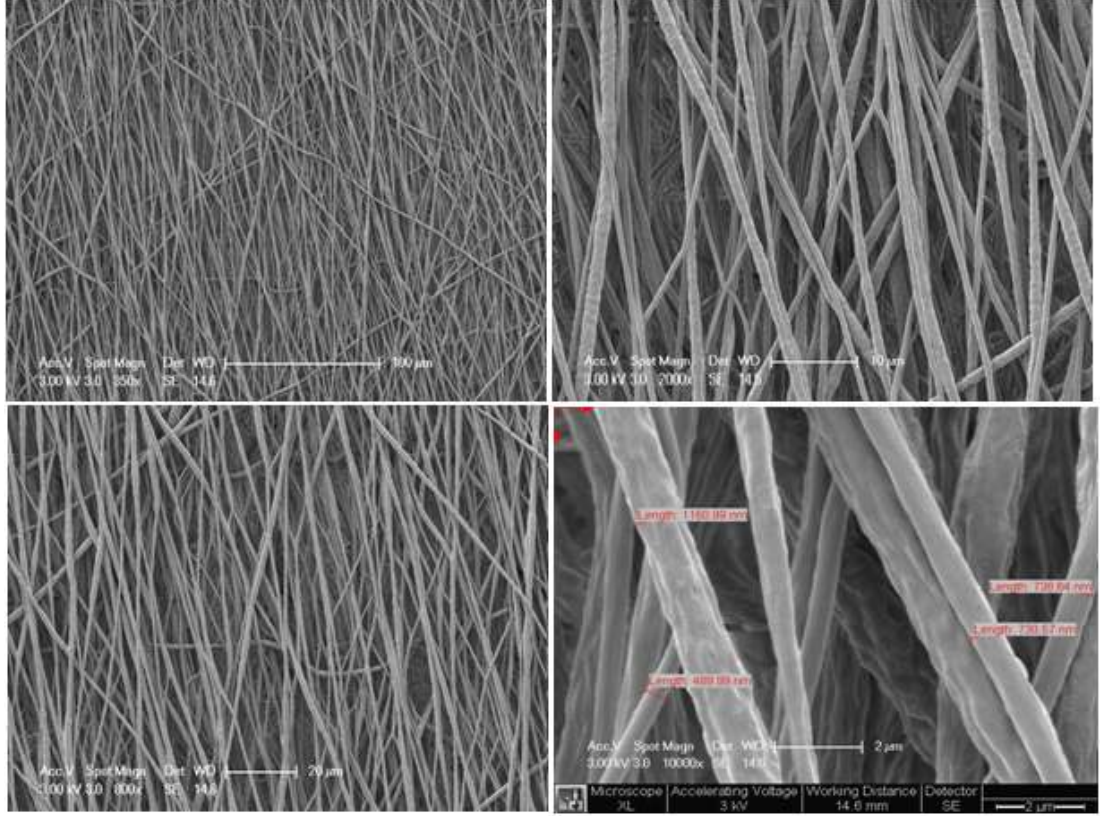
biyoaktivitesini desteklemesine rağmen tendon gibi mekanik dayanım isteyen ortopedik dokuların rejenerasyonu için çok yumuşak özelliktedir. Matrikslerin mekanik özelliklerinin artırılması için bir diğer yaklaşım da hücre ekilmiş matrikslerin *in vitro* ortamda mekanik stimülasyonudur [97, 98, 99]. Ancak bu stimülasyon bile doğal tendon ve ligamentin mekanik özelliklerine ulaşmak için yeterli gelmemektedir.

Bu tez kapsamında, hem tendon hücrelerinin büyüme ve 3 boyutlu penetrasyonun sağlanabileceği hem de mekanik olarak doğal tendon yapısına uygun özellikler gösterebilecek spiral formda doku iskeleleri tasarlanmıştır. Doku iskelelerinin hazırlanmasında kullanılmak üzere üretilen çift katmanlı ve yönlendirilmiş fiberlerden oluşan PCL ve ipek fibroin nanofibröz membranların SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.2 ve 4.3’de verilmiştir. Bölüm 4.2’de ayrıntılı Çizelgeler ile belirtildiği gibi, istenilen yönlendirmenin ve kusursuz fiber morfolojisinin elde edilmesi için birçok deneme yapılmıştır. Bu denemelerde elde edilen bazı membranların görüntüleri de örnek olarak Şekil 4.2’de verilmiştir. Burada uygulanan proses koşullarında yönlendirmenin olmadığı ve istenmeyen boncuksu yapıların oluştuğu açıkça görülmektedir.



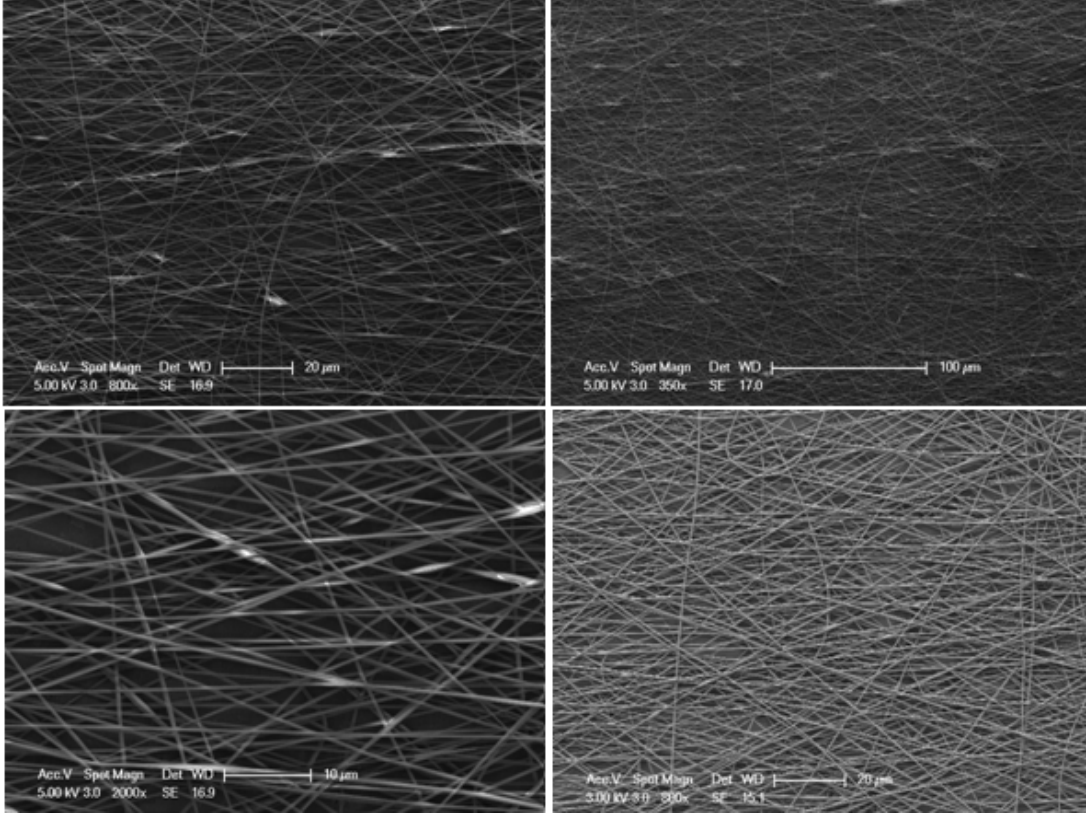
Şekil 4.1: İdeal bir yönlendirmenin olmadığı, boncuksu yapıların bulunduğu PCL nanofibröz membranlarının SEM görüntüleri

Yapılan denemeler sonucu PCL için seçilen Çizelge 4.19’da yer alan 171 no’lu proses şartlarında (çözelti konsantrasyonu: %12.5, pompa akış hızı: 0.8ml/h, uzaklık: 9cm ve voltaj:11kV) elde edilen fiberlerin çok iyi bir yönlenme gösterdiği Şekil 4.2’de de açıkça görülmektedir. Bu şartlarda üretilen fiber çaplarının 490-1160nm arasında değiştiği bulunmuştur.



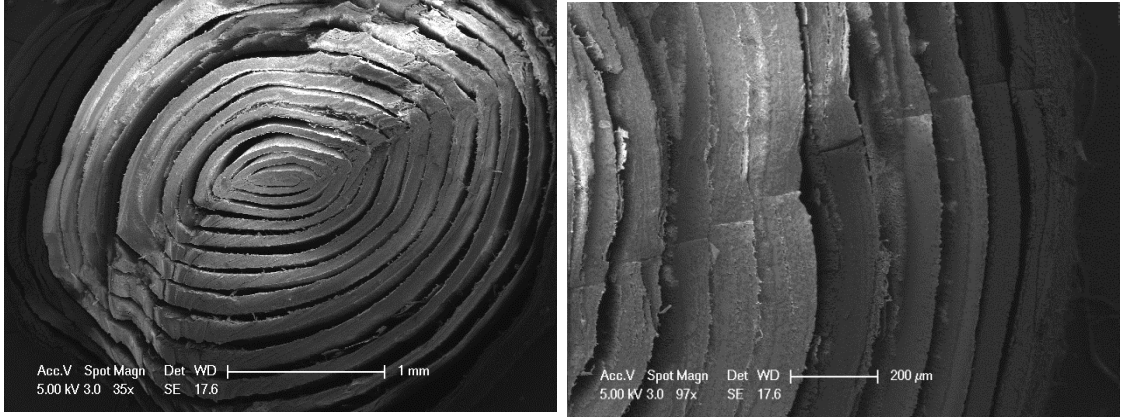
Şekil 4.2: Yönlendirilmiş nanofibrözPCL membranlarınınSEM görüntüleri.

İpek fibroinin ise yönlenmesinin PCL kadar iyi olmadığı halde, yine de nanofiberlerin aksenal bir yönelme eğilimi gösterdikleri söylenebilir (Şekil 4.3). Bununla birlikte, elde edilene fiberlerin çaplarının PCL’e göre çok daha küçük olduğu (ortalama 360nm) ve oldukça dar bir çap dağılımına sahip oldukları bulunmuştur.



Şekil 4.3: Yönlendirilmiş nanofibröz İpek Fibroin membranlarının SEM görüntüleri

Seçilen nanofibröz PCL ve SF membranların birleştirilip şekillendirilmesi ile hazırlanan spiral formdaki doku iskelelerinin SEM görüntüleri Şekil 4.4’de görülmektedir. Yukarıda da söz edildiği gibi, spiral form ile hem mekanik dayanıma katkı sağlanırken hem de katmanlar arası boşlukların membran üzerinde büyümekte olan tenositlerin doku iskelesinin iç bölgelere doğru ilerlemesi ve 3 boyutlu dokuyu oluşturması mümkün olabilecektir. Benzer bir tasarım, Zhang ve ark. tarafından kemik dokusu için hazırlanmış ve insan fetal osteoblastlarının bu yapılar üzerinde büyüyerek kemik dokusuna spesifik belirteçleri eksprese edebildikleri rapor edilmiştir [100].

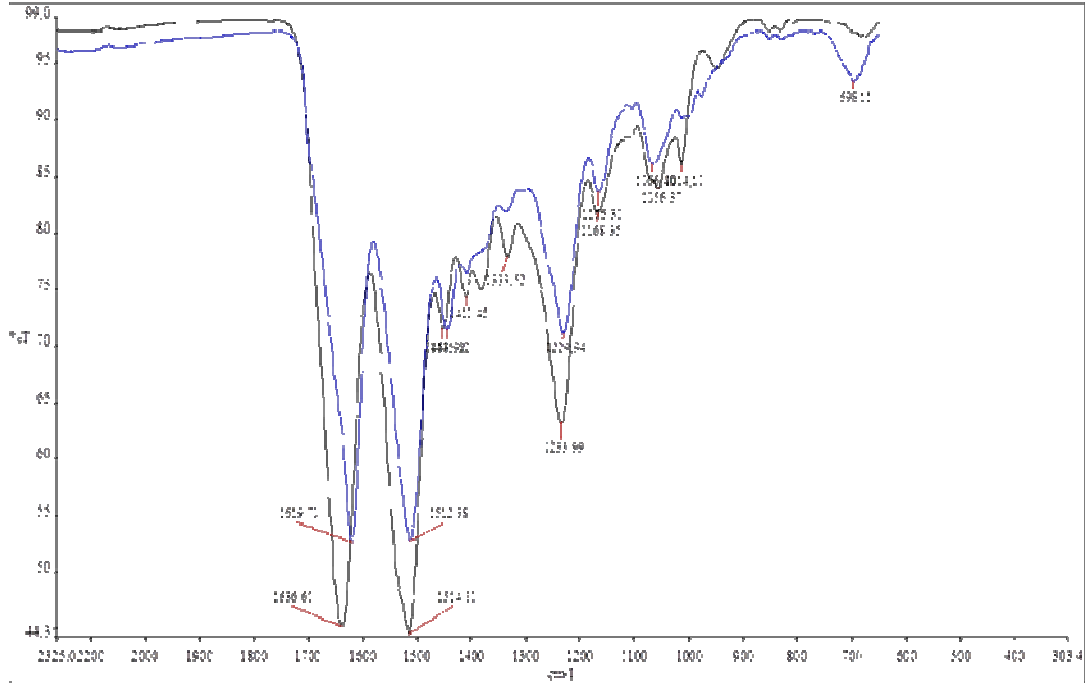


Şekil 4.4: Çift katlı nanofibröz PCL ve ipek fibroin membranlarından hazırlanan spiral formdaki tendon doku iskelesi.

4.2.2. Yapısal analiz

İkincil protein yapısındaki Bombyx mori ipek fibroin, ipek I ve ipek II olmak üzere iki temel konformasyonda bulunabilir. İpek I'in yapısını oluşturan konformasyonda α -heliks ve rastgele sarmal yapıların bulunması yarı kararlı ipek fibroinin suda çözünen bir protein yapısında bulunmasını sağlamaktadır. Birçok uygulama için bu durum istenilen bir özellik değildir. Anti-paralel β - düzlemsel tabakalar içeren ipek II konformasyonu suda çözünmeyen kararlı bir yapıdan oluştuğu için daha yaygın bir kullanımı vardır. Çift katmanlı membranlardaki SF katmanının sulu ortamda ayrılmadan bir bütün halde bulunması ve görevini yerine getirmesi açısından ipek fibroin ipek II yapısında kullanılmıştır. Çift katmanlı olarak hazırlanan membran 15 dk boyunca etanolle muamele edilerek üst katmandaki ipek fibroinin ikincil yapıya geçişi sağlanmıştır. Bu konformasyonel geçişin gerçekleştiği şekil 4.5'te FTIR spektrumunda görülmektedir. Etanol ve metanol gibi alkoller ipek fibroin molekülleri için iyi birer kristalizasyon ajanı olarak bilinirler. Kristalizasyon mekanizmasının polar karakterdeki alkolün ipek fibroin moleküllerinden suyu çekmesi ve bu nedenle alanin ve glisin gibi hidrofobik amino asitlerin kümelenerek β -tabaka yapısını oluşturması şeklinde olduğu düşünülmektedir [101]. Etanol ile muamele edilmeden önce İpek I yapısının karakteristik bandları olan amid I ve amid II, sırasıyla 1636 cm^{-1} (amid I), 1514 cm^{-1} (amid II)'de gözlemlenmiştir. Etanol ile muameleden sonra ise bu bandların sırasıyla 1619 cm^{-1} ve 1512 cm^{-1} 'e kaydığı

görülmektedir. Bu da β -tabaka konformasyonel yapısına geçişin sağlandığını ispatlamaktadır [102].



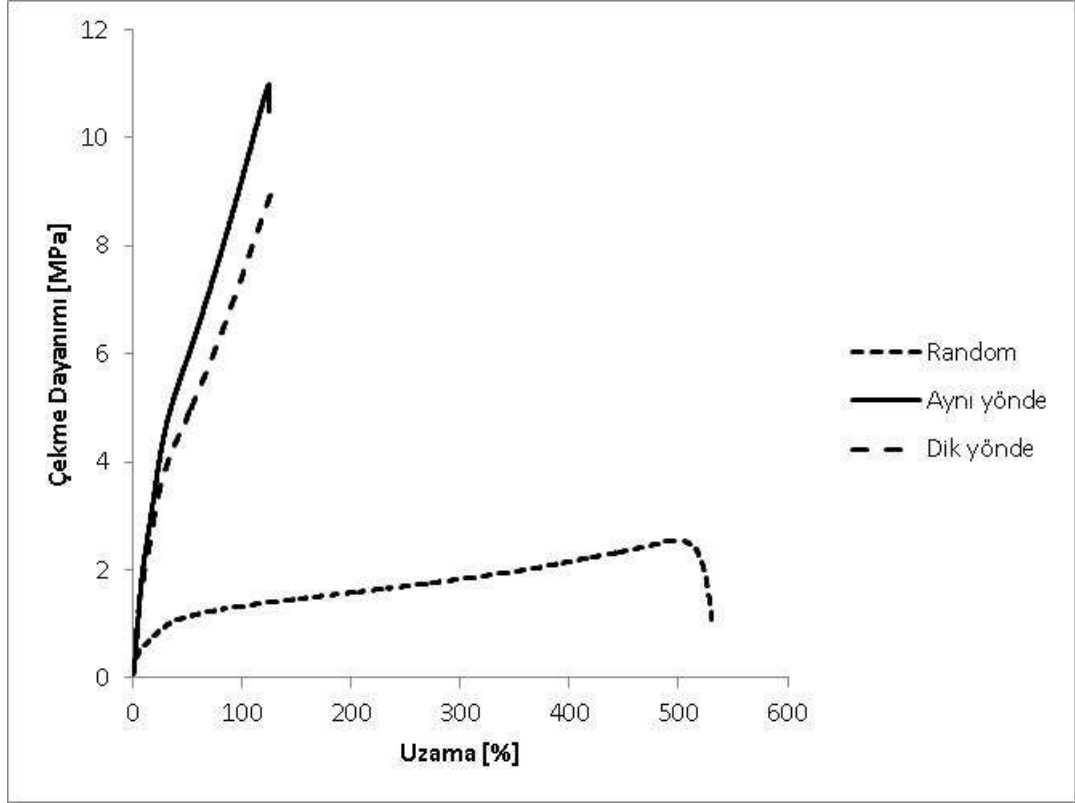
Şekil 4.5: İpek I ve İpek II yapısındaki membranların FTIR spektrumları

4.2.3. Mekanik testler

Vucüt içerisinde farklı yerlerde bulunan tendon ve ligamentlerin mekanik özellikleri de farklılıklar gösterir. Örneğin, omuzda bulunan ligamentlerin modülü 5-42 MPa arasında ve maksimum çekme dayanımı 1-6 MPa arasında değişmektedir [103]. Buna karşılık, yaşlı deneklerden alınan örneklerde insan anterior kord ligamentlerinde ortalama modülüsün 65-24 MPa olduğu rapor edilmiştir [104].

Bu çalışmada da, hazırlanan doku iskelelerinin mekanik özelliklerinin tendon dokusuna uygunluğunu değerlendirmek amacıyla elektroçirme ile elde edilen çift katmanlı PCL/SF membranlarına; fiberlerin birbirleri ile eş eksenli olmaları, dik yönlü olmaları ve rastgele sıralanmalarına göre çekme testleri uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara ait örnek grafik Şekil 4.6'da verilmiştir. Rastgele atılmış PCL ile ipek fibron fiberlerinden oluşan doku iskelesinin çekme dayanımı yönlenmiş yapıya göre çok düşük olduğu görülmüştür. Bu durum yönlenmeye bağlı olarak çekme dayanımının arttığını göstermiştir. PCL ile ipek fibron fiberlerinin birbirine dik açılı olacak şekilde oluşturdukları doku iskelesinin çekme deneyi sonuçları ise eş eksenli

yönlenme ile yakın çıkmıştır. Bu durum ipek fibroinin iskele yapısına fazla bir çekme dayanımı vermediği, asıl çekme dayanımının PCL polimerininin yönlenmesi ile oluştuğunu göstermiştir.



Şekil 4.6: Değişik fiber yönelme kombinasyonları ile birleştirilen PCL/SF çift katmanlı membranlarının örnek çekme-uzama grafiği

Çizelge 4.21'de mekanik test sonuçları sonucu elde edilen değerler verilmiştir. Fiberlerin aynı yönde ve birbirine dik yönde yönlenmiş olacak şekilde bir araya getirilmesi ile oluşturulan çift katmanlı membranların elastiklik modüllerinin ortalama 21 MPa olduğu ve bunun da spiral formun da etkisi ile artabileceği düşünüldüğünde, bu iki membran kombinasyonunda hazırlanan doku iskelelerinin tendon dokusu için yeterli bir mekanik mukavemete sahip olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.21: Çift katmanlı PCL/SF membranların mekanik özellikleri

PCL/SF Membran kombinasyonu	Elastiklik Modülü (MPa)	Çekme Dayanımı (MPa)	Uzama (%)
Aynı yönde	21.3	11.1	130
Dik yönde	21.2	9.26	130
Rastgele	11.5	2.46	560

5. SONUÇ

Sunulan tez çalışmasında, ileri derecedeki tendon hasarlarının tedavisinde kullanılmak üzere çift katmanlı kompozit membranlardan oluşan spiral formda doku iskelelerinin hazırlanması amaçlandı.Çift katmanlı membranları hazırlamak üzere sentetik polikaprolakton polimeri ile doğal bir polimer olan ipek fibroinden yararlanıldı.Tendon dokusunun doğal yapısı da göz önüne alınarak, hücrelerin yönlenmesinin sağlanması ve mekanik mukavemetin artırılması amacıyla yönlenmiş nanofiberlerden oluşan membranlar elektroğirme yöntemi kullanılarak üretildi. Optimum proses şartlarının bulunması amacı ile uygulanan voltaj, pompa hızı, polimer çözelti konsantrasyonu ve iğne-toplayıcı arası mesafe özellikleri değiştirilerek birçok deneme gerçekleştirildi. SEM analizleri sonucu uygun yönlenme ve fiber morfolojisine ulaşıldığı görüldü.Çift katmanlı membranlar sarılara spiral forma getirildi ve morfolojileri SEM ile incelendi.İstenilen formda, katmanlar arası hücre penetrasyon ve büyümesine izin verebilecek boşluklara sahip doku iskelelerinin başarı ile hazırlandığı ispatlandı. Fiber yönlenmesine göre fiberlerin birbirine dik, paralel ve rastgele yönlenmiş olacak şekilde hazırlanan çift katlı membranların mekanik testleri sonucu, fiberlerin dik ve paralel olmasının mekanik dayanıma bir etkisinin olmadığı ancak rastgele yönlenmiş fiberlerde bu dayanımın büyük ölçüde azaldığı gözlemlendi.

Bu çalışma sonunda elde edilen sonuçlar, spiral formda çift katmanlı yönlendirilmiş nanofibröz matrikslerin yeni nesil tendon doku iskelesi olarak iyi bir potansiyel oluşturabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **Hoffmann, A. and G. Gross**, 2007: Tendon and ligament engineering in the adult organism: mesenchymal stem cells and gene-therapeutic approaches. *International Orthopaedics*,
- [2] **Bagnaninchi, P., et al.**, 2006: Tissue engineering for tendon repair. *Br J Sports Med*, p.bjism.030643.
- [3] **Gunatillake, P. and R. Adhikari**, 2003: Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. *European Cells and Materials*, 5: p. 1-16.
- [4] **Moore, M.J., De Beaux, A.**, 1987: A quantitative ultrastructural study of rat tendon from birth to maturity. *Journal of Anatomy* 153, 163–169.
- [5] **Kastelic, J., Galeski, A., Baer, E.**, 1978: The multicomposite structure of tendon. *Connective Tissue Research* 6, 11–23.
- [6] **Jarvinen, M., Jozsa, L., Kannus, P., Jarvinen, T.L., Kvist, M., Leadbetter, W.**, 1997: Histopathological findings in chronic tendon disorders. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 7, 86–95.
- [7] **Stouffer, D.C., Butler, D.L., Hosny, D.**, 1985: The relationship between crimp pattern and mechanical response of human patellar tendon-bone units. *Journal of Biomechanical Engineering* 107, 158–165.
- [8] **Evans, J.H., Barbenel, J.C.**, 1975: Structural and mechanical properties of tendon related to function. *Equine Veterinary Journal* 7, 1–8.
- [9] **Duance, V.C., Restall, D.J., Beard, H., Bourne, F.J., Bailey, A.J.**, 1977: The location of three collagen types in skeletal muscle. *FEBS Letters* 79, 248–252.
- [10] **Lapiere, C.M., Nusgens, B., Pierard, G.E.**, 1977: Interaction between collagen type I and type III in conditioning bundles organization. *Connective Tissue Research* 5, 21–29.
- [11] **Birk, D.E., Fitch, J.M., Babiarz, J.P., Doane, K.J., Linsenmayer, T.F.**, 1990: Collagen fibrillogenesis in vitro: interaction of types I and V collagen regulates fibril diameter. *Journal of Cell Science* 95 (Part 4), 649–657.
- [12] **Fukuta, S., Oyama, M., Kavalkovich, K., Fu, F.H., Niyibizi, C.**, 1998: Identification of types II, IX and X collagens at the insertion site of the bovine achilles tendon. *Matrix Biology* 17, 65–73.
- [13] **Birk, D. E., Zycband, E. I., Winkelmann, D. A., and Trelstad, R. L.**, 1989: Collagen fibrillogenesis in situ: fibril segments are intermediates in matrix assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:4549-4553

- [14] **Gross, J., and Bruns, R. R.**, 1984: Another look at fibrillogenesis. *In* The Role of Extracellular Matrix in Development. R. L. Trelstad, editor. Alan R. Liss, Inc., New York. 479-512.)
- [15] **Wilmink, J., Wilson, A.M., Goodship, A.E.**, 1992: Functional significance of the morphology and micromechanics of collagen fibres in relation to partial rupture of the superficial digital flexor tendon in racehorses. *Research in Veterinary Science* 53, 354–359.
- [16] **Butler, D.L., Grood, E.S., Noyes, F.R., Zernicke, R.F.**, 1978: Biomechanics of ligaments and tendons. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 6, 125–181.
- [17] **Johnson, G.A., Tramaglini, D.M., Levine, R.E., Ohno, K., Choi, N.Y., Woo, S.L.**, 1994: Tensile and viscoelastic properties of human patellar tendon. *Journal of Orthopaedic Research* 12, 796–803.
- [18] **Elliott DH.**, 1965: Structure and function of mammalian tendon. *Biol Rev Camb Philos Soc* 40:392– 421.
- [19] **Woo SL, Debski RE, Zeminski J, Abramowitch SD, Saw SS, Fenwick JA.**, 2000: Injury and repair of ligaments and tendons. *Annu Rev Biomed Eng* 2000;2:83–118.
- [20] **Almekinders, L.C., Temple, J.D.**, 1998: Etiology, diagnosis, and treatment of tendonitis: an analysis of the literature. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 30, 1183–1190.
- [21] **Jozsa, L., Kannus, P.**, 1997: Human tendons: anatomy, physiology, and pathology. *Human Kinetics*, 164.
- [22] **Khan, K.M., Maffuli, N.**, 1998: Tendinopathy: an Achilles' heel for athletes and clinicians. *Clinical Journal of Sport Medicine* 8, 151–154.
- [23] **Yasuda, T., Kinoshita, M., Abe, M., Shibayama, Y.**, 2000: Unfavorable effect of knee immobilization on Achilles tendon healing in rabbits. *Acta Orthopaedica Scandinavica* 71, 69–73.
- [24] **Yasuda, K., Hayashi, K.**, 1999: Changes in biomechanical properties of tendons and ligaments from joint disuse. *Osteoarthritis Cartilage* 7, 122–129.
- [25] **Yamamoto, N., Ohno, K., Hayashi, K., Kuriyama, H., Yasuda, K., Kaneda, K.**, 1993: Effects of stress shielding on the mechanical properties of rabbit patellar tendon. *Journal of Biomechanical Engineering* 115, 23–28.
- [26] **Sharma, P. and N. Maffulli.**, 2005: Tendon Injury and Tendinopathy: Healing and Repair. *JBone Joint Surg Am*, 87(1): p. 187-202.
- [27] **Sharma, P. and N. Maffulli.**, 2006: Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*, 6(2): p. 181-190.
- [28] **Miller, D. and R.J. Waterston S, Barrass V, Maffulli N.**, 2005: Conservative management, percutaneous or open repair of acute Achilles tendon

rupture: a retrospective study. *Scottish Medical Journal*, 50(4): p. 160-165.

- [29] **Mahoney, J., L. Farkas, and W. Lindsay., 1976:** Quality of tendon graft healing in silastic pseudosheaths: breaking-strength studies. *Surgical Forum*, 27(62): p. 572-573.
- [30] **Beris, A., et al., 2003:** Two-stage flexor tendon reconstruction in zone II using a silicone rod and a pedicled intrasynovial graft. *The Journal of Hand Surgery*, 28(4): p. 652- 660.
- [31] **Bagnaninchi, P., et al.,2006** Tissue engineering for tendon repair. *Br J Sports Med*, p. bjsm.030643.
- [32] **Giovannini, S., et al., 2007:** Multilineage differentiation potential of equine blood-derived fibroblast-like cells. *Differentiation*, epub.
- [33] **Peacock EE Jr., 1964** Fundamental aspects of wound healing relating to the restoration of gliding function after tendon repair. *Surg Gynecol Obstet*, 119:241–250.
- [34] **Beredjikian PK., 2003:** Biologic aspects of flexor tendon laceration and repair. *J Bone Joint Surg*, 85A:539 –550.
- [35] **Sharma P, Maffulli N., 2005:** Basic biology of tendon injury and healing. *Surgeon*, 3:309 –316.
- [36] **Lindsay WK, Birch JR., 1964:** The fibroblast in flexor tendon healing. *Plast Reconstr Surg*, 34:223–232.
- [37] **Myers B, Wolf M., 1974:** Vascularization of the healing wound. *Am Surg*, 40:716 –722.
- [38] **Garner WL, McDonald JA, Koo M, Kuhn C III, Weeks PM., 1989:** Identification of the collagen-producing cells in healing flexor tendons. *Plast Reconstr Surg*, 83:875– 879.
- [39] **Fenwick SA, Hazleman BL, Riley GP., 2002:** The vasculature and its role in the damaged and healing tendon. *Arthritis Res*, 4:252–260.
- [40] **Liu SH, Yang RS, al-Shaikh R, Lane JM., 1995:** Collagen in tendon, ligament, and bone healing. A current review. *Clin Orthop Relat Res*, 318:265–278.
- [41] **Buckwalter J. A., 1991:** Healing of the musculoskeletal tissues, In: *Fracture in adults*. Vol 1.3rd ed. C A Rockwood Jr editör, J B Lippincott Co, New York, 203-232
- [42] **Langer, R., Vacanti, J.P., 1993:** Tissue engineering, *Science*, 260, 920–927.
- [43] **Jin QM, Zhao M, Webb SA, Berry JE, Somerman MJ, Giannobile WV., 2003:** Cementum engineering with threedimensional polymer scaffolds. *J Biomed Mater Res A*, 67:54-60.
- [44] **Gumusderelioğlu, M., Mavis, B., Karakeçili, A., Kahraman, A. S., Cakmak, S., Tıǧlı, S.,Demirtas, T., Aday, S., Ekim 2007:** Doku Muhendisliğinde Nanoteknoloji, *Bilim ve TeknikYeni Ufuklara Eki*.

- [45] **Boyan, B.D., Lohmann, C.H., Romero J.**, 1999: Bone and cartilage tissue engineering, *Clin. Plast. Surg.*, 26(4), 629–645.
- [46] **Muschler, G.F., Nakamoto, C., Griffith, L.G.**, 2004: Engineering principles of clinical cell-based tissue engineering, *J. Bone Joint Surg. Am.*, 86A, 1541–1558.
- [47] **Karageorgiou, V., Kaplan, D.**, 2005: Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis, *Biomaterials*, 26, 5474–5491.
- [48] **Drosse, I., Volkmer, E., Capanna, R., Biase, P.D., Mutschler, W., Schieker, M.**, 2008: Tissue engineering for bone defect healing: an update on a multi-component approach, *Int. J. Care Injured*, 39(2), 9–20.
- [49] **Li, W. J., Laurencin, C. T., Caterson, E. J., Tuan, R. S., and Ko, F. K.**, 2001: Electrospun Nanofibrous Structure: A Novel Scaffold for Tissue Engineering. Wiley Periodicals, Inc. 613-621.
- [50] **Hutmacher, D.W.**, 2000: Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage, *Biomaterials*, 21(24), 2529–2543.
- [51] **Chan, B. P., and Leong, K. W.**, 2008: Scaffolding in Tissue Engineering: General Approaches and Tissue-Specific Considerations. *Eur Spine J* 17 (Suppl4):S467–S479.
- [52] **Peter, X. Ma.**, 2004: “Scaffolds for Tissue Fabrication, *Materialstoday*”, s. 35-38.
- [53] **Pachence, J.M., Kohn, J.**, 2000: Biodegradable polymers. Principles of Tissue Engineering. 2nd edition. Lanza, R.P., Langer, R., Vacanti, J. (eds.), Academic Press, California. pp. 251-262.
- [54] **Burg, K.J.L., Porter, S., Kellam, J.F.**, 2000: Biomaterial developments for bone tissue engineering, *Biomaterials*, 21, 2347-2359.
- [55] **Hasirci, V., Lewandrowski, K., Gresser, J.D., Wise, D.L., Trantolo, D.J.**, 2001: Versatility of biodegradable biopolymers: degradability and an in vivo application, *Journal of Biotechnology*, 86, 135–150.
- [56] **Lee, S.H., Shin H.**, 2007: Matrices and scaffolds for delivery of bioactive molecules in bone and cartilage tissue engineering, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, 339–359.
- [57] **Khang, G., Kim, M. S., and Lee, H. B.**, 2007: A Manual for Biomaterials & Scaffold Fabrication Technology. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore
- [58] **Vepari, C., Kaplan, D.L.**, 2007: Silk as a biomaterial, *Prog Polym Sci*, 32, 991-1007.
- [59] **Stevens, M.M.**, 2008: Biomaterials for bone tissue engineering, *Materials Today*, 11(5), 18-25.
- [60] **Potenza, A.**, 1962: Tendon healing within the flexor digital sheath in the dog. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 44(A): p. 49-64.

- [61] **Towler, D. and R. Gelberman.**, 2006: The alchemy of tendon repair: a primer for the (S)madscientist. *Journal of Clinical Investigation*, 116(4): p. 863-866.
- [62] **Meyers, S., et al.**, 1989: Effect of hyaluronic acid/chondroitin sulfate on healing of fullthickness tendon lacerations in rabbits. *Journal of Orthopaedic Research*, 7(5): p. 683-689.
- [63] **Hankemeier, S., et al.**, 2007: Tissue engineering of tendons and ligaments by human bone marrow stromal cells in a liquid fibrin matrix in immunodeficient rats: Results of a histologic study. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*.
- [64] **Sachlos, E. and J. Czernuszka.**, 2003: Making Tissue Engineering Scaffolds Work. Review: Theapplication of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds *European Cells and Materials*, 5: p. 29-40.
- [65] **Young, R. and D.L.B.W.W.A.I.C.S.L.G.D.J. Fink.**, 1998: Use of mesenchymal stem cells in acollagen matrix for achilles tendon repair. *Journal of Orthopaedic Research*, 16(4): p. 406-413.
- [66] **Ide, A., et al.**, 2001: Collagen hybridization with poly(l-lactic acid) braid promotes ligamentcell migration. *Materials Science & Engineering C*, 17(1): p. 95-99.
- [67] **Funakoshi, T., et al.**, 2005: Application of Tissue Engineering Techniques for Rotator CuffRegeneration Using a Chitosan-Based Hyaluronan Hybrid Fiber Scaffold. *Am J SportsMed*, 33(8): p. 1193-1201.
- [68] **Rezwan,K., et al.**, 2006: Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic compositescaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27(18): p. 3413-3431.
- [69] **Badylak, S., et al.**, 1999: Aturally Occurring Extracellular Matrix as a Scaffold for Musculoskeletal Repair. *Clinical Orthopaedics & Related Research*, 367(Supplement): p. S333-343.
- [70] **Mikos, A.G., Thorsen, A.J., Czerwonka, L.A., Bao, Y., Langer, R., Winslow, D.N.**, 1994: Preparation and Characterization of Poly(L-Lactic Acid) Foams. *Polymer*, 35, 1068 1077.
- [71] **Boccaccini A.R., Maquet V.**, 2003: Bioresorbable and bioactive polymer / Bioglass composites with tailored pore structure for tissue engineering applications, *Compos. Sci. Technol.*, 63: 2417–2429.
- [72] **Thomson, R.C., Shung, A.K., Yazsemki, M.J., Mikos, A.G.**, 2000: Polymer scaffold processing. *Principles of Tissue Engineering*. 2nd edition. Lanza, R.P., Langer, R., Vacanti, J. (eds.), Academic Press, California. pp. 251- 262.
- [73] **Harris, L.D., Kim, B.S., Mooney, D.J.**, 1998: Open pore biodegradable matrices formed with gas foaming, *J Biomed Mater Res*, 42, 396–402.

- [74] **Liu, C., Xia, Z., Czernuszka, J.T.**, 2007: Design and development of threedimensionalscaffolds for tissue engineering, *Trans IChemE, Part A, Chemical Engineering Research and Design*, 85(A7), 1051–1064.
- [75] **Subia, B., Kundu, J., and Kundu, S. C.**, 2010: *Biomaterial Scaffold Fabrication Techniques for Potential Tissue Engineering Applications*. Department of Biotechnology, Indian Institute of Technology, Kharagpur, India.
- [76] **Tsang, V.L., Bhatia, S.N.**, 2004: Three-dimensional tissue fabrication, *AdvancedDrug Delivery Reviews*, 56, 1635–1647.
- [77] **Andrady Anthony L.**, 2008: *Science and Technology of Polymer Nanofibers*, John Wiley & Sons, ISBN 978-0-471-79059-4, Kanada, 28p.
- [78] **He Ji-Huan, Liu Yong, Mo Lu-Feng, Wan Yu-Qin and Xu Lan.**, 2008: *Electrospun Nanofibres and Their Applications*, iSmithers, ISBN: 978-1-84735-145- 6, Shawbury, 8p.
- [79] **Süpüren, G., Kanat E.Z., Çay A., Kırıcı T., Gülümser T., Tarakçıoğlu I.**,2007: Nano Lifler (Bölüm 2) *Tekstil ve Konfeksiyon*, 2:83-89.
- [80] **Ramakrishna, S., Fujihara K., Teo W.E., Lim T.C., Ma Z.**,2005: *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers*, World Scientific Publishing Co., Singapore, 381 p.
- [81] **Travis J., Sill, Horst A. von Recum.**, 2008: Electrospinning: Applications in drugdelivery and tissue engineering,*BIOMATERIALS* 29 :1989-2006.
- [82] **Aussawasathien Darunee.**, 2006: *Electrospun Conducting Nanofiber-Based Materials and Their Characterizations: Effects of Fiber Characteristics on Properties and Applications*, Doctor of Philosophy, University of Akron, Polymer Engineering, 14-20p.
- [83] **Li, D., and Xia, Y.**,2004: Elelctrospinning of Nanofibers: Reinventing the Wheel, *Advanced Materials*, 16-14, 1151-1169.
- [84] **Pham Q. P., Sharma U., Mikos A. G.**, 2006: Electrospinning of Polymeric Nanofibers for Tissue Engineering Applications: A Review, *Tissue Engineering*, 12(5): 1197-1211.
- [85] **Tan, E.P.S., and Lim, C.T.**,2005: Mechanical Characterization of Nanofibers – A Review, *Composites Science And Technology*,.
- [86] **Yu-Qing Z, Mei-Lin T, Wei-De S, Yu- Zhen Z, Yue D, Yan M, Wen-Lin Z.**, 2004: “Immobilization of L-asparaginase on the microparticles of the natural silk sericin protein and its characters”, *Biomaterials* 25, s. 3751–3759.
- [87] **Sashina, E. S., Bochek, A. M., Novoselov, N. P., and Kirichenko, D. A.**, 2006: *Structure and Solubility of Natural Silk Fibroin*. St. Petersburg State University of Technology and Design, St. Petersburg, Russia.Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia.

- [88] **Baimark, Y., Srihanam, P., and Srisuwan, Y.**, 2009: Preparation of Flexible Silk Fibroin Film Plasticized with Glucose. Center of Excellence for Innovation, Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahasarakham University, Mahasarakham, Thailand.
- [89] **Zhang, H., Li, L., Dai, F., Zhang, H., Ni, B., Zhou, W., Yang, X., and Wu, Y.**, 2012: Preparation and Characterization of Silk Fibroin as A Biomaterial with Potential for Drug Delivery. *Journal of Translational Medicine*, 10:117.
- [90] **İşoğlu, A, İ.**, 2009: Kemik doku mühendisliği için elektro-eğrilmiş poli(ϵ -kaprolakton) membran esaslı doku iskeleleri, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, 142s
- [91] **Li, X., J. Xie, J. Lipner, X. Yuan, S. Thomopoulos, Y. Xia**, Nanofiber scaffolds with gradations in mineral content for mimicking the tendon-to-bone insertion site, *Nano Lett*, 9 (2009), pp. 2763–2768
- [92] **K.L. Moffat, A.S. Kwei, J.P. Spalazzi, S.B. Doty, W.N. Levine, H.H. Lu**, Novel nanofiber-based scaffold for rotator cuff repair and augmentation, *Tissue Eng Part A*, 15 (2009), pp. 115–126
- [93] **Q.P. Pham, U. Sharma, A.G. Mikos**, Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: a review, *Tissue Eng*, 12 (2006), pp. 1197–1211
- [94] **S. Sahoo, S.L. Toh, J.C. Goh**, A bFGF-releasing silk/PLGA-based biohybrid scaffold for ligament/tendon tissue engineering using mesenchymal progenitor cells, *Biomaterials*, 31 (2010), pp. 2990–2998
- [95] **G.H. Altman, R.L. Horan, H.H. Lu, J. Moreau, I. Martin, J.C. Richmond et al.**, Silk matrix for tissue engineered anterior cruciate ligaments, *Biomaterials*, 23 (2002), pp. 4131–4141
- [96] **F.J. O'Brien, B.A. Harley, M.A. Waller, I.V. Yannas, L.J. Gibson, P.J. Prendergast**, The effect of pore size on permeability and cell attachment in collagen scaffolds for tissue engineering, *Technol Health Care*, 15 (2007), pp. 3–17
- [97] **N. Juncosa-Melvin, J.T. Shearn, G.P. Boivin, C. Gooch, M.T. Galloway, J.R. West et al.**, Effects of mechanical stimulation on the biomechanics and histology of stem cell-collagen sponge constructs for rabbit patellar tendon repair, *Tissue Eng*, 12 (2006), pp. 2291–2300
- [98] **S. Saber, A.Y. Zhang, S.H. Ki, D.P. Lindsey, R.L. Smith, J. Riboh et al.**, Flexor tendon tissue engineering: bioreactor cyclic strain increases construct strength, *Tissue Eng Part A*, 16 (2010), pp. 2085–2090
- [99] **K. Chokalingam, N. Juncosa-Melvin, S.A. Hunter, C. Gooch, C. Frede, J. Florert et al.**, Tensile stimulation of murine stem cell-collagen sponge constructs increases collagen type I gene expression and linear stiffness, *Tissue Eng Part A*, 15 (2009), pp. 2561–2570.

- [100] **Zhang X, Chang W, Lee P, Wang Y, Yang M, et al.** (2014) Polymer-Ceramic Spiral Structured Scaffolds for Bone Tissue Engineering: Effect of Hydroxyapatite Composition on Human Fetal Osteoblasts. *PLoS ONE* 9(1): e85871.
- [101] **Um I. C., Kweon H. Y., Park Y. H., and Hudson S.,** 2001: Structural Characteristics and Properties of the Regenerated Silk Fibroin Prepared from Formic Acid. *Int J Biol Macromol.* 20;29(2):91-7.
- [102] **Amiraliyan N., Nouri M., and Kish M. H.,** 2010: Structural Characterization and Mechanical Properties of Electrospun Silk Fibroin Nanofiber Mats. *Polymer Science.* Vol. 52, No. 4, pp. 407–412.
- [103] **Jung, H.J., Fisher, M.B., and Woo, S.L.Y.** Role of biomechanics in the understanding of normal, injured, and healing ligaments and tendons. *Sports Med Arthrosc Rehabil Ther Technol* 1, 1, 2009.
- [104] **Noyes, F., and Grood, E.** The strength of the anterior cruciate ligament in humans and Rhesus monkeys. *J Bone Joint Surg Am* 58, 1074, 1976.

ÖZGEÇMİŞ

Doğum Tarihi : 13.06.1988

Doğum Yeri : Altındağ

Lise : 2002-2005 Fethiye Lisesi

Lisans : 2007-2011 İnönü Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi,
Kimya Mühendisliği

Yüksek Lisans : 2011-2014 Yalova Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Polimer Mühendisliği Anabilim Dalı,
Polimer Mühendisliği Programı

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

- K. Tuzlakoglu, U. Balta, I. A. Isoglu, “Production of aligned and spiral shape biodegradable scaffolds for tendon repair and regeneration”, The European Chapter Meeting of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society (TERMIS-EU 2013), 17-20 Haziran 2013, İstanbul, Turkey.