

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**PEPTİDLERİN KENDİLİĞİNDEN DİZİLİMİ İLE
HİBRİT İSKELE YAKLAŞIMLARININ 3B DAMARLI
KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE KULLANIMI**

Cenk ÇELİK

Tez Danışmanı : Aylin ŞENDEMİR ÜRKMEZ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 612.01.00

Sunuş Tarihi : 04.05.2015

Bornova-İZMİR

2015

Cenk ÇELİK tarafından **Yüksek lisans** tezi olarak sunulan “**Hibrit İskele Yaklaşımlarının 3B Damarlı Kemik Doku Mühendisliği Amacıyla Üretim ve Karakterizasyonu**” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 04.05.2015 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı	: Aylin ŞENDEMİR ÜRKMEZ	
Raportör Üye	: Sultan GÜLÇE İZ	
Üye	: Aylin ZİYLAN ALBAYRAK	

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Hibrit İskele Yaklaşımlarının 3B Damarlı Kemik Doku Mühendisliği Amacıyla Üretim ve Karakterizasyonu” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

04 / 05 / 2015

İmzası

Cenk ÇELİK

ÖZET**HİBRİT İSKELE YAKLAŞIMLARININ
3B DAMARLI KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİ
AMACIYLA ÜRETİM VE KARAKTERİZASYONU**

ÇELİK, Cenk

Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Aylin ŞENDEMİR ÜRKMEZ
Mayıs 2015, 83 sayfa

Bu tezde elektroëğirilmiş fiber doku iskelelerinde kalsiyum fosfat (CaP) biyomineralizasyonu sağlanarak kemik doku mühendisliği için kullanılabilecek bir hibrit doku iskelesi üretimi amaçlanmıştır. Bu amaçla, jelatin ve polikaprolakton (PCL) polimerlerinden fiber doku iskeleleri üretilmiş ve karakterizasyonu yapılmıştır. Ardından karakterizasyonu yapılan iskeleler üzerinde CaP biyomineralizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Doku iskelelerinin karakterizasyonunda, fiber çaplarına, gözeneklilik oranlarına, fiberlerin su ile yapmış olduğu temas açlarına, ışık ve taramalı elektron mikroskobu ile fiber morfolojilerine, sıvı emme kapasitelerine, denatürasyon sıcaklıklarına, ısı analiz ile sıcaklık altındaki kütle kaybı yüzdelere, XRD ile kristal yapılarına, EDS analizi ile CaP oranlarına bakılmıştır. Ayrıca jelatinin doku kültürü sırasında sıvı içerisinde çözünmemesi için jelatin içeren tüm doku iskeleleri gluterdialdehit buharı ile çapraz bağlanmıştır. Çapraz bağlanmanın varlığı da yine aynı şekilde taramalı elektron mikroskopisi ile morfolojik olarak, FT-IR ve DTA analizi ile de nicel olarak gösterilmiştir.

CaP biyomineralizasyonu için doku iskeleleri 28 gün boyunca insan kanındaki iyon değerlerini içeren simüle vücut sıvısı (SBF) içerisinde inkübe edilmiştir. Biyomineralizasyonun varlığı, SEM, EDS, FTIR ve XRD ile gösterilmiştir. Sonuç olarak kemik doku mühendisliği için kullanılabilecek hibrit bir doku iskelesi üretilmiştir.

Anahtar sözcükler: Kemik doku mühendisliği, jelatin, polikaprolakton, kalsiyum fosfat, biyomineralizasyon.

ABSTRACT**PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF
HYBRID TISSUE SCAFFOLD APPROACHES FOR
3D VASCULARIZED BONE TISSUE ENGINEERING**

ÇELİK, Cenk

MSc in Bioengineering.

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Aylin ŞENDEMİR ÜRKMEZ

May 2015, 83 pages

In this dissertation, it is aimed to produce an electrospun hybrid scaffold for bone tissue engineering on which calcium phosphate (CaP) biomineralization has been formed. For this scope, fibrous tissue scaffolds were produced from gelatin and poly(caprolactone), and characterized. Afterwards, CaP biomineralization has been formed onto these fiber structures.

In order to characterize tissue scaffolds, their fiber diameters, porosity, water contact angles, morphologies via light and scanning electron microscope, water absorption capacities, denaturation temperatures, mass loss ratios by thermo-gravimetric analysis, crystal structures via XRD, and CaP ratios *via* EDS have been analyzed. In addition to those, in order to make gelatin insoluble in water, whole electrospun scaffolds that have gelatin were cross-linked by glutaric dialdehyde vapor. To demonstrate the success of cross-linking, SEM, FT-IR, and DTA analyses were used.

CaP biomineralization has been achieved by incubating electrospun tissue scaffolds in simulated body fluid (SBF) that has same ionic concentration with human blood plasma. Biomineralization was demonstrated by SEM, EDS, FT-IR, and XRD. As a result, a hybrid tissue scaffold for bone tissue engineering has been produced successfully.

Keywords: Bone tissue engineering, gelatin, polycaprolactone, calcium phosphate, biomineralization.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince karakterizasyon çalışmalarında gerekli cihazların kullanımında yardımcı olan Araştırma Görevlileri Oylum ÇOLPANKAN, Haydar KAHRAMAN, Serhan KÖKTAŞ ve İbrahim Hayri KESER'e; yardımlarının yanında çalışmalarında bana bir arkadaş olan Tekniker Dalyan ÖZKAN'a; bana Dokuz Eylül Üniversitesi Metalürji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü Kimya Laboratuvarını açan ve polimer kimyası üzerine değerli bilgilerinden yararlandığım Sayın Yrd. Doç. Dr. Aylin ZİYLAN ALBAYRAK'a, jüri üyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Sultan GÜLÇE İZ'e ve gerek Lisans gerekse Yüksek Lisans çalışmalarım sırasında her türlü bilgi yardımı ve fedakârlıktan kaçınmayan danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Aylin ŞENDEMİR ÜRKMEZ'e teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
İÇİNDEKİLER	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxi
1.GİRİŞ	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1.Doku Mühendisliği	3
2.1.1.Doku mühendisliğinde hücreler	3
2.1.2.Doku mühendisliğinde doku iskeleleri	4
2.1.3.Doku mühendisliğinde büyüme faktörleri	6
2.2.Kemik Dokusu	7
2.2.1.Kortikal kemik dokusu	8
2.2.2.Süngerimsi kemik dokusu	8
2.2.3.Kemik iliği	8
2.2.4.Kemik fizyolojisi	9
2.2.5.Kemik doku mühendisliği (KDM)	9

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.2.6.Kemik Doku Mühendisliğinde Doku İskeleleri.....	10
2.3.Doku İskelesi Üretim Yöntemleri.....	16
2.3.1.Faz ayırım tekniği.....	16
2.3.2.Dondurarak kurutma (liyofilizasyon) tekniği.....	16
2.3.3.Gaz köpüklendirme tekniği.....	17
2.3.4.Elektroeğirme tekniği.....	17
2.3.5.Hızlı prototipleme tekniği.....	17
2.3.6.Kendiliğinden dizilim.....	17
2.4.Elektroeğirme.....	18
2.5.Biyomineralizasyon.....	22
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
3.1.Elektroeğirme Çözeltilerinin Hazırlanması.....	24
3.2.Çözeltilerin Elektriksel İletkenlik Değerleri.....	25
3.3.Elektroeğirilmiş İskelelerin Hazırlanması ve Optimizasyonu.....	25
3.4.Elektroeğirilmiş Fiberlerin Morfolojik Karakterizasyonu.....	25
3.4.1.Elektroeğirilmiş Örneklerin Işık Mikroskobunda İncelenmesi.....	26
3.4.2.Elektroeğirilmiş Örneklerin Taramalı Elektron Mikroskobunda İncelenmesi.....	26
3.5.Elektroeğirilmiş İskelelerin Gözeneklilik Oranı Hesabı.....	26

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.6.Elektroegirilmiş İskelelerin Temas Açısı Hesabı.....	27
3.7.Jelatin ve Jelatin/PCL Fiberlerinin Çapraz Bağlanması.....	28
3.8.Çapraz Bağlanmanın Test Edilmesi.....	29
3.9.Çapraz Bağlanmış İskelelerin Sıvı Emme Kapasitesi Hesabı.....	29
3.10.Doku İskelelerinin Kütle Kaybı Hesabı.....	30
3.11.Doku İskelelerinin Denatürasyon Sıcaklıklarının Hesabı.....	30
3.12.Doku İskelelerinde Kalsiyum Fosfat (CaP) Biyomineralizasyonu.....	30
4.BULGULAR.....	33
4.1.Elektroegirme Çözeltilerinin Elektriksel İletkenlikleri.....	33
4.2.Elektroegirilmiş İskelelerin Hazırlanması ve Optimizasyonu.....	33
4.3.Elektroegirilmiş İskelelerin Morfolojik Karakterizasyonu.....	34
4.3.1.Işık mikroskobu görüntüleri.....	34
4.3.2.Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.....	35
4.4.Elektroegirilmiş İskelelerin Fiber Çapları.....	36
4.5.Elektroegirilmiş İskelelerin Gözeneklilik Oranları.....	37
4.6.Elektroegirilmiş İskelelerin Su Temas Açıları.....	38
4.7.Jelatin İçeren İskelelerin Çapraz Bağlanması.....	39
4.8.İskelelerin Sıvı Emme Kapasiteleri.....	43
4.9.Elektroegirilmiş İskeleler Üzerinde CaP Biyomineralizasyonu.....	44

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
5.TARTIŞMA.....	51
6.ÖNERİLER.....	56
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	79

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Kemik dokusunun genel yapısı.....	7
2.2 Polikaprolaktonun genel formülü.....	12
2.3 (A) Faz ayırma tekniği şematik gösterimi. (B) Bu teknik ile üretilmiş doku iskelesinin SEM görüntüsü.....	16
2.4 Kendiliğinden dizilmiş peptid amfifil nanofiber ağının (A) moleküler (B) nano ve (C) mikro ve makro yapısı.....	17
2.5 Elektroeğirme düzeneği.....	19
3.1 Manyetik karıştırıcı üzerinde %12'lik jelatin çözeltisi.....	24
3.2 Fiberlerin su ile yaptığı temas açısı ölçme düzeneği. (A) Önden bir kesit. (B) Sağ profilden bir kesit.....	27
3.3 Temas açısı sisteminde fotoğrafı çekilen sistemler ImageJ yazılımı ile analiz edildi.....	28
3.4 Jelatin içeren doku iskelelerini çapraz bağlama sistemi.....	28
3.5 CaP biyomineralizasyonun şematik görüntüsü.....	30
3.6 Doku iskeleleri 28 gün boyunca 37°C'de inkübe edildi.....	32
4.1 Polimer çözeltilerinin elektriksel iletkenlik değerleri.....	33
4.2 Elektroeğirilmiş doku iskelelerinin 10x objektif büyütmesindeki fotoğrafları.....	35
4.3 Doku iskelelerinin SEM görüntüleri.....	36
4.4 Doku iskelelerinin fiber çap ortalamaları.....	37
4.5 Doku iskelelerinin gözeneklilik oranları.....	38
4.6 Doku iskelelerinin su temas açıları.....	39

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.7 İskelelerin FT-IR grafikleri	39
4.8 İskelelerin DTA/TGA grafikleri	40
4.9 Çapraz bağlanmış iskelelerin morfolojileri	41
4.10 Çapraz bağlanmış jelatin içeren iskelelerin PBS içerisindeki hali	43
4.11 Doku iskelelerinin sıvı emme kapasiteleri	44
4.12 Jelatin doku iskeleleri üzerinde CaP biyomineralizasyonu	45
4.13 PCL doku iskeleleri üzerinde CaP biyomineralizasyonu	46
4.14 Jelatin/PCL doku iskeleleri üzerinde CaP biyomineralizasyonu	47
4.15 28 gün sonunda biyomineralize olmuş doku iskelelerinin XRD analizi sonuçları	48
4.16 28 gün sonunda biyomineralize olmuş doku iskelelerinin EDS analizi sonuçları	49
4.17 28 gün sonunda biyomineralize olmuş doku iskelelerinin FT-IR analizi sonuçları	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Nanofibröz doku iskelesi üretimi için kullanılan bazı yöntemler.....	18
2.2 Elektroeğirme parametrelerinin fiber morfolojisine etkisi.....	19
3.1 Stok çözeltilerden hazırlanan diğer çözeltilerin miktarları.....	24
3.2 İnsan kan plazması ve SBF içerisindeki iyon değerleri (pH 7.40).....	30
3.3 SBF içerisindeki iyon değerlerini sağlayacak kimyasal miktarları.....	31
4.1 Jelatin, PCL ve Jelatin/PCL biyokompozit çözeltilerinin elektriksel iletkenlik değerleri.....	33
4.2 Elektroeğirme için çözeltilerin optimum parametre değerleri.....	34
4.3 Elektroeğrilmiş Jelatin, PCL ve Jelatin/PCL biyokompozit fiber çapları (Örnek sayısı 20).....	37
4.4 Elektroeğrilmiş Jelatin, PCL ve Jelatin/PCL biyokompozit fiberlerin gözeneklilik oranı.....	38
4.5 Elektroeğrilmiş Jelatin, PCL ve Jelatin/PCL fiberlerinin temas açıları.....	39
4.6 Çapraz bağlanmış Jelatin ve Jelatin/PCL fiberlerin TGA analizi sonucunda kütle kayıpları.....	42
4.7 Çapraz bağlanmış Jelatin ve Jelatin/PCL fiberlerin denatürasyon sıcaklıkları.....	42
4.8 Elektroeğrilmiş Jelatin, PCL ve Jelatin/PCL biyokompozit fiberlerinin sıvı emme kapasiteleri.....	43

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
(k/h)	kütle/hacim
3B	Üç boyutlu
μm	mikrometre
μS	mikrosiemens
Ca^{+2}	kalsiyum iyonu
CaCl_2	Kalsiyum klorür
CaP	Kalsiyum fosfat
HCl	Hidroklorik asit
$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Potasyum fosfat trihidrat
KCl	Potasyum klorür
kV	kilovolt
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Magnezyum klorür heksahidrat
ml	mililitre
M_w	moleküler ağırlık
Na_2SO_4	Sodyum sülfat
NaCl	Sodyum klorür
NaHCO_3	Sodyum bikarbonat
nm	nanometre
PO_4^{-3}	fosfat iyonu
sa	saat
<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ALP	Alkalen fosfataz
BMP-2	Kemik morfojenik proteini-2
BMSC	Kemik iliği kök hücresi
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetri analizi
DTA	Diferansiyel termal analiz
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
FT-IR	Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

GDF-5	Büyüme farklılaştırma faktörü
HDM	Hücre dışı matris
HUVEC	İnsan göbek bağı damar endotel hücresi
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL-6	İnterlökin – 6
KİMKH	Kemik iliği mezenkimal kök hücresi
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
PBS	Fosfat tampon solüsyonu
RGD	Arjinin, Glisin ve Aspartik asitten oluşan aminoasit dizisi
SBF	Simüle vücut sıvısı
TGA	Termogravimetrik analiz
TGF-1	Dönüştürücü büyüme faktörü (beta) 1
VEGF	Vasküler endotel büyüme faktörü

1. GİRİŞ

Kemik yaralanmaları ve kemik hastalıklarının yanında yaşlanmayla birlikte kemik kayıplarının artması araştırmacıları biyomineralizasyonu uyarıcı hücre-matris etkileşimlerini anlamaya yöneltmiştir (Woo et al., 2007). Travma, doğuştan gelen defektler ve diğer kemik hastalıkları için var olan tedavi yöntemlerinin bazı kısıtları vardır (Raucci et al., 2010). Bu nedenle hastalıklı ya da hasarlı kemik dokusunun rejenerasyonu için yeni stratejiler gereklidir. Yapısal, mekanik ve biyofonksiyonel olarak doğal doku ile arabirim oluşturabilen yeni malzemelerin geliştirilmesi rejeneratif stratejilerin başarısı ile ilgilidir (W. L. Murphy et al., 2000).

Kemik doku mühendisliği iskelelerinde başarı elde etmenin anahtarları biyouyumluluk, biyobozunurluk, mekanik bütünlük ve osteokondüktivitedir. CaP tabanlı biyomalzemeler kemik mineral kompozisyonu ile biyobozunurluk, biyoaktivite ve osteokondüktivite özellikleri ile benzerlikler gösterir (de Groot, 1980). Diğer bir kemik özelliği olan birbiriyle bağlantılı gözenekli yapı CaP içeren biyomalzemelerin üretiminde de dikkate alınmaktadır (LeGeros, 2008). Biyouyumluluk ve bozunurluk uygun sentetik malzemenin seçimi ile kontrol edilebilir. CaP nanoparçacıkları içeren doku iskelelerinin bir kemik doku oluşumu belirteci olan alkalen fosfataz (ALP) aktivitesini ve osteojenik gen ekspresyonunu olumlu bir şekilde etkilediklerinden (Kanczler et al., 2008; Roohani-Esfahani et al., 2010; Sendemir-Urkmez et al., 2007) osteokondüktif olduğu bilinmektedir.

Kemik doku mühendisliğinin ilk adımı gözenekli, üç boyutlu doku iskelesinin tasarımı ve üretimi ile başlamaktadır (Hutmacher, 2000). Doğal hücre dışı matris (HDM) ortamındaki üç boyutlu yapı ve nano ölçekli morfolojinin hücre davranışını etkilediği bilinmektedir (V. J. Chen et al., 2006). Bu doğal yapıyı hem yapısal hem de fonksiyonel olarak taklit edebilen malzemeler kullanmak doku mühendisliğinde kilit noktadır. İki tür biyobozunur malzeme vardır: nişasta, aljinat, kitin/kitosan, jelatin gibi doğal kökenli malzemeler ve poli(laktik asit), poli(kaprolakton), poli(glikolik asit) gibi sentetik malzemeler (Rezwan et al., 2006). Bu malzemelerden çeşitli yöntemlerle üç boyutlu yapılar oluşturularak doku oluşumunu destekleyici iskeleler üretilmektedir. Hücre dışı

matris fiber yapıda bir polimer ağından meydana gelmektedir. Bu ağısı fiber mimari hücrelerin tutunması ve çoğalabilmesi gerekli uzamsal altyapıyı oluşturur (Green et al., 2002). Doku mühendisliği uygulamalarında da ağısı fiber mimariyi oluşturmak için elektroegirme en çok kullanılan yöntemdir (Shor et al., 2007).

Son zamanlarda tek bir tür malzeme kullanılmasından ziyade hem fonksiyonel hem de işlenebilir hibrit malzemeler üretilerek doku mühendisliğinde başarıya ulaşılmaya çalışılmaktadır. Kemik doku mühendisliği için de aynı şekilde hem doğal, hem de sentetik polimerler kullanılarak gerekli üç boyutlu yapının üretilip bunlar üzerinde kemik doku oluşumunu destekleyebilecek osteokondüktiviteyi sağlayabilecek modifikasyonlara gidilmesi söz konusudur. Bu çalışma ile kemik doku mühendisliği için doğal (jelatin) ve sentetik (polikaprolakton) polimer içeren hibrit polimer ile kemik doku oluşumunu destekleyebilecek olan kalsiyum fosfat biyomineralizasyonu sağlayan elektroegirilmiş doku iskeleleri üretilmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Doku Mühendisliği

Her ne kadar doku mühendisliği terimi 1993 yılında Langer ve Vacanti tarafından Science dergisinde yayımlanan bir makalede geçiyor olarak bilinse de bu terim ilk olarak 1988 yılında Amerikan Cerrah Koleji tarafından düzenlenen bir sunumda geçmiştir (Vacanti, 2006). Bu tanıma göre doku mühendisliği “mühendislik ve yaşam bilimleri prensiplerini dokuları tamir etmek, iyileştirmek ya da doku işlevini artırmak için biyolojik alternatiflerin geliştirilmesi amacıyla uygulayan disiplinler arası alandır” (R. Langer et al., 1993). Doku mühendisliğinde transplantasyonun aksine amaç doku tarafından tanınıp doku rejenerasyonunda kullanacağı bir yapı tasarlayarak vücudun doku hasarını kendi kendine tamir etmesine yardımcı olmaktır. Bu nedenle doku mühendisliğini oluşturan farklı bileşenler hücreler, doku iskelesi ve büyüme faktörleridir (Rim et al., 2013).

2.1.1. Doku mühendisliğinde hücreler

Doku mühendisliği yaklaşımlarında en çok göz önünde bulundurulmuş bileşen hücre kaynağı ve hücre proliferasyonu ile farklılaşmasının kontrol edilebilmesidir (Gomes et al., 2004b). Doku mühendisliğinde dokuyu oluşturmak için seçilen hücreler çevrelerine yanıt verebilmeli, farklılaşabilmeli, yeni doku oluşturabilmeli ve gerçek doku ile bütünleşebilmelidir (Barron et al., 2003b). Hastanın kendi sağlıklı dokularından elde edilen primer hücreler (otojen hücreler) yabancı doku reddinin önüne geçilmesi için ilk akla gelen seçenektir (Hardin-Young et al., 2000; Kost et al., 2001; Malafaya et al., 2002; Nerem, 2000), ancak bu hücreler birçok acil durumlarda yeterli miktarlarda elde edilememektedir. *in vitro* kültürler ile bu hücrelerin miktarı artırılabilir ancak hücre popülasyonunun yeterli sayıya ulaşması hücre tipine bağlı olarak haftalar alabilmektedir (Hardin-Young et al., 2000). Aynı (allojen) ya da farklı (zenojen) türe ait donörlerden türetilen primer hücreler en azından potansiyel donör sayısının fazla olabilmesi ya da hücrelerin soğukta saklanabilmesi gibi özelliklerinden dolayı konsept olarak düşünülmektedir. Ancak bu durumda konakta immün yanıt sonucu doku reddi ve

hastalık taşınması gibi riskler söz konusudur (Nerem, 2000). Hücre hatlarının kullanımı ile bu sorunların üstesinden gelinebilir ancak bu durumda ise immortalize edilmiş hücreler bazı özelliklerini kaybedebilirler (Kost et al., 2001).

İnsan embriyonik kök hücreleri doku mühendisliği için kültür koşullarına göre değişebilen bir hücre kaynağı olma olasılığına sahiptir (R. S. Langer et al., 1999). Ancak henüz doku kültüründe embriyonik hücrelerin farklılaşması tam anlamıyla kontrol edilememektedir (Young, 2011). Ayrıca, embriyonik kök hücreleri üzerinde çalışma yapmak bazı etik ve kanuni kısıtlamalara tabidir (Okita et al., 2007; Pedersen, 1999). Bu nedenle, dokulardan progenitor hücrelerin izole edilmesi ve kullanılması tercih edilebilmektedir. Bu kök hücreler kısmen farklılaşmış olmalarına rağmen gelişimlerini değiştirebilirler ve tamamen farklılaşmadıkları için birkaç hücre tipine dönüşebilme esnekliğine sahiptirler (R. S. Langer et al., 1999; Pedersen, 1999). Örneğin, insan kemik iliği ya da adipöz dokusundan progenitor hücreleri izole etmek ve laboratuvar ortamında kemikçi oluşturan osteoblastları üretmek mümkündür (Caplan et al., 1997; Dahl et al., 2013; Wlodarski et al., 2012).

Doku mühendisliğinde hücre kaynağı olarak yetişkin kök hücreleri, somatik hücreler, totipotent kök hücreler kullanılmaktadır (Stock et al., 2001). Düşük proliferasyon ve farklılaşma özelliklerinden dolayı olgun hücrelerin kullanımı kısıtlanmıştır. Yetişkin kök hücreleri vücutta özel çevrelerde ya da doku bölümlerinde bulunan ve deri, kemik ve kan gibi dokusal bütünlüğün korunmasında görev alırlar (Vats et al., 2002), farklılaşmamış hücrelerdir ve özel doku tiplerine farklılaştırılmak üzere programlanabilirler. Memelilerde en az 20 ana yetişkin kök hücre kategorisi tanımlanmıştır. Kemik iliği, kan, kornea ve retina, diş pulpası, karaciğer, deri ve pankreasta bulunabilirler. Embriyonik kök hücreler blastositin iç kısmından elde edilir (Thomson et al., 1998). Farklılaşmamış, olgunlaşmamış ve sınırsız kendini yenileme ve farklılaşma özelliğine sahiptirler (McKay, 2000).

2.1.2. Doku mühendisliğinde doku iskeleleri

Doku mühendisliği hasarlı, hastalıklı ya da travmalı dokuların yenilenmesi

ve hatta bazı durumlarda yeni dokuların oluşturulması ve hasarlı organın değiştirilmesi olanağını sunar (Agrawal et al., 1997; Braybrook et al., 1990; Maquet et al., 1997; Mooney et al., 1994; Saad et al., 1996). Bu olay, ekilen hücrelerin tutunması, büyümesi ve farklılaşmış fonksiyonlarını sürdürebilmesi için geçici doku iskeleleri görevi gören ya da çevre doku oluşumunu hızlandıran biyobozunur biyomalzemelerin kullanımı ile gerçekleştirilir (Maquet et al., 1997; Mikos et al., 1994; Saad et al., 1996). Doku iskelesinin temel işlevi bir şablon oluşturarak hücre tutunması, büyümesi ve bütünleşmesi için gerekli mekanik ve geometrik yapıyı sağlamaktır. Bunların dışında doku iskeleleri şu özelliklere de sahip olmalıdır:

- Hücrelere bir niş sağlar bu nedenle 3B yapı gereklidir
- Hücrelere besin ulaştırabilecek ve hücreler üzerinde olumsuz etkilere yol açabilecek atıkları uzaklaştırabilecek bir yapıda olmalıdır
- Kullanıldığı dokuya özgü hücre dışı matris oluşumuna paralel olarak biyobozunur olmalıdır
- Biyouyumlu olmalıdır
- Toksik olmamalıdır
- Kolay üretilebilir olmalıdır (Barron et al., 2003b; Dersch et al., 2004; Hollister, 2005).

Hangi durumda olursa olsun biyomalzeme geçici bir süreliğine görev yapar, ancak başarı elde edilmesi için kritik bir rol üstlenir. Bu nedenle, doku iskelesi malzemesinin seçimi hem kritik hem de zor bir seçimdir. Metaller, seramikler ve polimerler arasında birçok biyouyumlu malzeme mevcuttur ancak biyobozunurluk ve kırılğan olmayan yapının sağlanabilmesi için metaller ve seramiklerin birçoğu doku iskelesi tanımının dışında kalır (Maquet et al., 1997; Thompson et al., 1995). Bu nedenle doku mühendisliği ve rejeneratif tıp uygulamalarında biyobozunur polimerlerin kullanımı söz konusudur. Dolayısıyla doku iskelesi tasarımında kilit nokta tasarım ve üretim için kullanılacak biyobozunur polimerin seçimidir.

Doku iskelesi tasarımı ve istenilen özelliklerin sağlanmasında, hedeflenen doku yanıtını tetikleyecek özelliğe sahip dokunun rejenerasyonu için kullanılacak doku mühendisliği yaklaşımı ile karar verilir (Gomes et al., 2004a; Hardin-Young et al., 2000). 3B gözenekli yapılar hücre tutunması ve proliferasyonu için en uygun yapılar olarak tanımlanmış ancak bazı çalışmalarda farklı malzeme tasarımlarının bileşimi ile kullanıldıkları görülmüştür (Greiner et al., 2007; Hutmacher, 2000; D. Li, Xia, Y., 2004; Pachence et al., 1997). Aslında yeni ve özel doku iskeleleri tasarımı için duyulan ihtiyaç doku mühendisliğini yönlendirmede aktif bir role sahiptir. Hücreleri yalnızca istenilen bölgede tutmaktan ziyade farklı özellikteki hibrit malzemelerin kombinasyonlarıyla fonksiyonel yapıların üretilmesi söz konusudur (Barron et al., 2003b; Cao et al., 2010; Gautam et al., 2013; Mikos et al., 1994).

2.1.3. Doku mühendisliğinde büyüme faktörleri

Büyüme faktörleri doku mühendisliğinin diğer bir temel bileşenidir. Büyüme faktörleri, morfoloji, vaskülerizasyon gibi biyoaktif ve mekanik şartlandırma gibi fiziksel faktörler olabilir (Barron et al., 2003b; Brandl et al., 2007; Burdick et al., 2009; A. H. Huang et al., 2010).

Sert doku oluşumunu düzenleyen biyoaktif faktörler TGF-1, IGF-1, GDF-5, BMP-2, integrinler ve bunların reseptörlerinden oluşmaktadır (Bose et al., 2012b; O'Driscoll et al., 2001; Rozman et al., 2007; Samee et al., 2008). Bu biyoaktif faktörler istenilen bölgeye kontrollü salım, doğrudan enjeksiyon ya da gen terapisiyle gönderilmektedir. Kemik doku mühendisliği alanında BMP gibi biyoaktif maddelerin osteogenesisi artırdığı gösterilmiştir (Einhorn et al., 2003; Luppen et al., 2002; Selvig et al., 2002; Wozney, 2002). Bu faktörler aynı zamanda kıkırdak doku oluşumu ya da tamiri için de kullanılabilir. Doku iskelesi matrisine özel proteinler eklenerek mezenkimal kök hücrelerin (MKH) doku büyümesi ve bütünleşmesini, hiçbir immün yanıt oluşmadan osteogenesisi artırdığı rapor edilmiştir (Barron et al., 2003b).

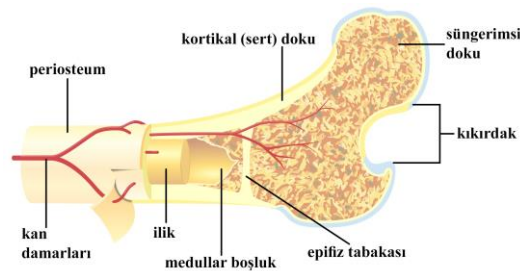
Doku oluşumunun yanı sıra hücreler oksijene ve besin maddelerine ihtiyaç duyar. Dokuların bu isteği vücut içerisinde kan damarları ile sağlanır. Bu sayede

hücreler canlı kalmaktadır. Doku mühendisliğinde transplantın damarlanmasının sağlanması hızlı etki gösteren fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi biyoaktif moleküllerle sağlanır (Cancedda et al., 2003; Rozman et al., 2007; Yun et al., 2010). FGF, doku iskelesine doğrudan eklenerek, kontrollü salım yoluyla, enjeksiyon ya da gen vektörleriyle aktarılabilmektedir (Hidaka et al., 2002; Kuroda et al., 2010; Potthoff et al., 2009; Strauss et al., 2009).

Doku mühendisliğiyle üretilecek kemik ve kıkırdak gibi sert dokularda en önemli faktörlerden birisi gerçek dokudaki mekanik özelliklere sahip olan bir ortamın varlığıdır. Son yıllarda biyomekanik ve biyokimyasal uyarının doku mühendisliği yapılarında hücre büyümesi için önemli olduğu bildirilmektedir (Barron et al., 2003a; C. T. Chen et al., 2003; Guan et al., 2011; Marlovits et al., 2003; Mauck et al., 2002; Nirmalanandhan et al., 2008). Günümüzde, biyoreaktörler kullanılarak doku iskelelerinin mekanik ve kimyasal özelliklerinin geliştirilmesi iskelelerin mekanik olarak şartlandırılarak simüle bir fizyolojik ortamda sağlanması yoluyla yapılması üzerine odaklanılmıştır (Barron et al., 2003b; Shearn et al., 2007).

2.2. Kemik Dokusu

Kemik görüldüğü gibi tek bir sert yapıdan oluşmamaktadır aksine büyük çoğunluğu viskoelastik matris olan bir yapıdır (Şekil 2.1). Kemiğin ana dokusu (kemiksi doku) görece sert ve hafiftir. Kemiksi dokunun matrisi kemiklere sertliği veren inorganik mineral olan kalsiyum fosfat (CaP) içeren hidroksiapatit formunda ve kırılmaya direnci sağlayan elastik bir protein olan organik kollajenden oluşan kompozit bir malzemedir (Schmidt-Nielsen, 1984).



Şekil 2.1 Kemik dokusunun genel yapısı

2.2.1. Kortikal kemik dokusu

Kemik dokusunun dış tabakasını oluşturan yapı kortikal kemik ya da sert kemik dokusu olarak adlandırılmaktadır. Kortikal kemik osteon adı verilen mikroskopik sütunlardan oluşur. Her bir sütun metabolik olarak aktiftir ve osteon içerisindeki hücrelerin konumu ve doğası tekrar tekrar oluşturulur. Kortikal kemik dokusu dıştan periosteum içten ise endosteum adı verilen bir tabaka ile kaplıdır. Endosteum kortikal kemik dokusu ve süngerimsi kemik dokusu ile bir bağ oluşturur (Deakin et al., 2006).

2.2.2. Süngerimsi kemik dokusu

Kemik dokusunun iç kısmını dolduran bölüm süngerimsi (trabeküler, boşluklu) kemik dokusu olarak bilinmektedir. Bu doku açık gözenek ağına sahiptir. İnce osteoblast tabakası (olgunlaşmamış kemik hücreleri) endosteumu çevreleyerek düzensiz ağsı boşluk yapısı oluştururlar (Deakin et al., 2006). Bu boşluklar içerisinde plateletleri, kırmızı kan hücreleri ve beyaz kan hücrelerini oluşturan kemik iliği ve hematopoietik kök hücreleri bulunur. Süngerimsi ilik çubuksu ve tabaka benzeri elementlerden oluşarak organın daha hafif olmasını ve kemik iliği ile damarlara bir odacık sağlayan yapı oluşturur. Süngerimsi kemik dokusu toplam kemik kütlelerinin %20'sini oluşturur ancak kortikal kemik dokusuna göre on kat daha fazla yüzey alanına sahiptir (Hall, 2007).

2.2.3. Kemik iliği

Kemik iliği kemiklerin iç kısmında yer alan esnek bir dokudur. İnsanlarda kırmızı kan hücreleri hematopoiesis adı verilen bir süreç ile uzun kemiklerin baş kısımlarındaki süngerimsi yapılarda kemik iliği tarafından üretilir. Kemik iliği insanlarda ortalama insan ağırlığının %4'ünü oluşturmaktadır. Kemik iliğinin hematopoietik bileşeni günde yaklaşık 500 milyar kan hücresi üretir (Vunjak-Novakovic et al., 2010).

Kemik iliği aynı zamanda ilik stromal hücreleri olarak bilinen mezenkimal kök hücreleri (MKH) de içerir. Bu hücreler multipotent özellikte olup birçok

farklı türdeki hücelere farklılaşabilme kapasitesine sahiptir (Rubin et al., 2007).

2.2.4. Kemik fizyolojisi

Kemik homeostazisi çoklu ancak düzenli hücresel ve moleküler olaylar dizisi ile sürdürölmektedir (Raggatt et al., 2010). Kemik metabolizmasından iki tip hücre sorumludur: osteoblastlar (yeni kemik oluşumundan sorumlu) ve osteoklastlar (kemik yıkımından sorumlu). Kemiğin yeniden şekillenme bölümlerindeki yeterli kalsiyum desteğı bu iki hücre tipi arasındaki ilişkiyi düzenler (Sims et al., 2014).

Kemik metabolizması karmaşık sinyal yollarına ve kontrol mekanizmalarına bağı olarak düzenli büyüme ve farklılaşma hızını yakalamaya çalışır. Bu kontroller, hormon etkileşimleri (paratiroid hormonu), D vitamini, büyüme hormonu, steroidler, kalsitoninin yanında birçok kemik iliğı kökenli membran ve çözünebilir sitokin ve büyüme faktörlerinden (VEGF, IL-6 ailesi) oluşur. Sonraki uygun sinyal ile osteoklastlar resorpsiyon için kemik yüzeyine hareket ederler ve ardından osteoblastlar tarafından kemik depozisyonu gerçekleşir. Bu süreç kemiğin yeniden modellenmesi olarak bilinir (Pietrzak, 2008).

2.2.5. Kemik doku mühendisliğı (KDM)

Kemik, koruma, hareket, diğerkritik organlara destek, kan üretimi, mineral depolama ve homeostazi, kan pH'ı düzenleme gibi görevleri olan, mezenkimal ve hematopoietik kök hücreleri gibi çoklu progenitör hücelere sahip olan ve insan fizyolojisinde kritik işlevlerde anahtar rol oynayan bir organdır (Porter et al., 2009). Kemik, kollajenden oluşan organik matrisi ve hidroksiapatitten oluşan mineral fazı içeren kompozit bir materyaldir (Hutmacher et al., 2007). Cam kemik hastalığı, osteoartirit, osteomiyelit ve osteoporoz gibi kemik hastalıkları ve travmatik hasar, enfeksiyon ve primer tümör oluşumu kemik dokuda kendiliğinden yenilenemeyecek ölçüde geniş hasara ya da boşluklara yol açmaktadır (Porter et al., 2009). Günümüzde var olan tedavi yöntemleri otolog kemik greftleri, otojenik kemik greftleri veya metal ya da seramik gibi alternatif

kemik greftleri ile sağlanmaktadır. Otolog kemik greftleri hastanın başka bir yerinden alınan ve yıllar boyunca altın standart olarak kullanılan protezlerdir. Ancak greft alımı sırasındaki invaziv cerrahi işlemleri donör alan yaraları ve morbidite oluşumuna sebebiyet vermektedir. Allogreftler ise bir başkasının vücudundan alınır. Ancak hasta ile birleşme hızı otogreftlere göre yavaştır. Ayrıca transplantasyondan sonra immün reddi ve donörden hastaya patojen bulaşma olasılığı yüksektir. Bu iki kemik greftine alternatif olarak metaller ve seramikler kullanılmaktadır. Ancak her iki materyal de bazı dezavantajlara sahiptir. Örneğin, metaller her ne kadar mekanik desteği sağlasa da implantasyon bölgesinde doku ile yetersiz uyum gösterir ve kemik erimesine neden olur. Diğer bir taraftan seramikler kompakt kemik yapısına oranla düşük mekanik dayanıma ve yüksek oranda kırılabilirliğe sahiptir. Bu nedenle seramikler yüksek yükleme, bükme ya da kayma gerilimine sahip olan bölgelerde kullanılamamaktadır (A. J. Salgado et al., 2004). Açıkça görüldüğü üzere henüz kemik yerine geçebilecek yeterli bir ürün bulunamamıştır.

Mekanik, kimyasal ve hematolojik işlevleri bir arada bulundurması kemiği kendini sürekli yenileyen ve bağ dokunun fazlaca özelleşmiş bir biçimine dönüştürmüştür (Hutmacher et al., 2007). Kemiğin oluşum mekanizması sıkı kontrollü ve karmaşıktır; ayrıca henüz tamamen anlaşılmamıştır. Son yıllarda birçok mekanizma açığa çıkarılmıştır ve kemik doku mühendisliği stratejilerinde uygulanmaya başlanmıştır. Kemik doku mühendisliğinin hedefi canlı, klinikte cerrahi yöntemlerde kullanılabilir yaklaşımlarla kemiğin tekrardan yapılandırılması ve hasarlı kemiğe işlevsellik kazandırılmasıdır (Hollister et al., 2011).

2.2.6. Kemik Doku Mühendisliğinde Doku İskeleleri

Kemiğin iyileşmesinde hücre göçü ve osteoprogenitör hücrelerin görev almasını takiben hücrelerin proliferasyon, farklılaşma ve matris oluşumu gibi kemiği yeniden modelleyen karmaşık ve dinamik bir süreç olduğu bilinmektedir. Kemik doku mühendisliği iskeleleri genellikle gözenekli ve biyobozunur malzemelerden oluşup hasarlı ya da hastalıklı kemiğin tamiri ve rejenerasyonu süresince mekanik destek sağlamaktadır (Bose et al., 2012a). Doku iskeleleri

kemik doku mühendisliğinde mekanik destek görevinin yanında biyomoleküllerin taşınmasında kullanılmaktadır. Doku iskelelerine eklenen biyomoleküller, protein ya da TGF- β , BMP, IGF, FGF ve VEGF gibi büyüme faktörleridir. Bu büyüme faktörleri osteogenezisi, vaskulogenesisi, kemik doku rejenerasyonunu ve osteoprogenitör hücrelerin özelleşmiş türlere farklılaşarak hücre dışı matris oluşumunu kontrol eder (Cao et al., 2010). Kemik matrisi iki bileşenden oluşur: matrisin %65-70'ini oluşturan hidroksiapatiti içeren mineral kısım ve geriye kalan %25-30'unu oluşturan tip 1 kollajen, glikoprotein, proteoglikan, sialoprotein ve kemik “gla” proteinlerinden oluşan organik kısım (A. J. Salgado et al., 2004). Kemiğin mekanik özellikleri ile birlikte geometrisi süngerimsi dokudan kortikal kemiğe doğru değişken yapıda olması “ideal kemik doku iskelesi” tasarlamayı zorlaştırmaktadır. İdeal bir doku mühendisliği iskelesi için gereken anahtar faktörler şunlardır:

- Makro (gözenek büyüklüğü $> 100 \mu\text{m}$) ve mikro-gözeneklilik (gözenek büyüklüğü $< 20 \mu\text{m}$),
- *in vivo* doku oluşumu için birbirine bağlı gözeneklilik,
- Yeterli mekanik dayanım ve çevre doku ile uyumlu bozunma kinetiği.
- Osteokondüktivite

Mühendislik yöntemleri çeşitli üç boyutlu morfoloji ile birlikte hazır bir form olarak doku iskelelerini üretmek için mevcut biyokimyasal ligandlar ve büyüme faktörleri ile birlikte yüzeylerini modifiye ederek ve biyomimetik doku iskelelerini oluşturmak için onların nano ve mikro ölçekli geometrilerini kontrol etmek için kullanılmıştır (Beachley et al., 2010).

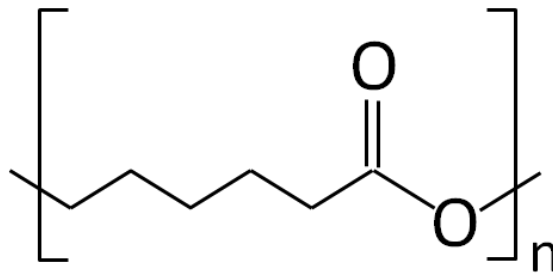
Nanofiberler doku mühendisliği uygulamalarında sahip olduğu özelliklerden dolayı oldukça önemlidir. Nanofiberler yüksek yüzey alanı/hacim oranına sahiptir. Böylelikle hücre tutunması, proliferasyon (Venugopal et al., 2006), hücre göçü (Y. Zhang et al., 2005) ve farklılaşması (Badami et al., 2006) için iyi bir yapı

oluştururlar. Üretilen fiberlerin fonksiyonelleştirilmesinin kolay olması da nanofiberlerin bir diğer avantajıdır. Çeşitli polimer çözeltileri kullanılarak karışımlar yapılabilir (Chong et al., 2007; Gautam et al., 2013; Hassan et al., 2014a; Hassan et al., 2014b) ve eğirme öncesi ya da eğirme sonrasında yüzey fonksiyonel hale getirilebilmektedir (T. G. Kim et al., 2006; Yoo et al., 2009).

Nanofiber doku iskelelerinin oluşturulması için elektro eğirme, kendiliğinden dizilim, kalıplama, tel çekme, buhar faz ayrılması ve faz ayrılması gibi yöntemler incelenmiştir (Beachley et al., 2010). Bir üretim malzemesi olarak polimerler, nanofibröz yapılar haline getirilebilir biyouyumlu ve çok çeşitli oldukları için doku mühendisliği iskelelerinin tasarımı için uygun malzemelerdir. Kollajen, jelatin, elastin, kitosan, dekstran, fibrinojen, laminin, hiyaluronik asit gibi doğal (Beachley et al., 2010) ve polietilen oksit, polikaprolakton, poli(laktik asit), poli(glikolik asit) gibi sentetik (Bose et al., 2012a) biyouyumlu polimerler, mekanik özellikleri, bozulma hızları ve uygun hücre-malzeme etkileşimleri ile tercih sebebi özelliklerini kanıtlamakta, öte yandan polimerlerin yeni türleri de sentezlenmeye devam edilmektedir. Özellikle inorganik ve biyolojik yapı taşlarını hiyerarşik olarak bir araya getiren gelişmiş hibrit nano yapı malzemelere doku mühendisliğindeki geniş uygulamaları ve biyouyumlulukları nedeniyle büyük ilgi duyulmaktadır (Chung et al., 2009; Darder et al., 2007; Hnilova et al., 2012; Smith et al., 2009).

2.2.6.1. Bir doku iskelesi olarak polikaprolakton (PCL)

Polikaprolakton, doğrusal, hidrofobik ve yüksek mekanik dayanıklılığa sahip sentetik bir polimerdir (Y. Zhang et al., 2005).



Şekil 2.2 Polikaprolaktonun genel formülü

PCL'nin polimerizasyonunu etkileyen birçok mekanizma vardır. Polimerizasyonda kullanılan bütün yöntemlerde polimer, molekül ağırlığı (M_w), molekül ağırlık dağılımı, son grup bileşimi ve kopolimerlerin kimyasal yapılarından etkilenir (Murthy, 1997). PCL -60°C camsı geçiş sıcaklığına (T_g) ve doğal PCL'nin kristalin yapısına bağlı olarak 59 ila 64°C arasında değişebilen erime noktasına sahip yarı kristalin bir polimerdir. PCL örneklerinin ortalama molekül ağırlığı $10,000$ ile $42,500$ arasında değişebilmektedir. PCL oda sıcaklığında kloroform, diklorometan, karbon tetraklorür, benzen, tolüen, sikloheksanon ve 2-nitropropan gibi çözüenlerde çözünmektedir. PCL stres çatlak direnci, çekilebilirlik ve adezyon gibi özellikler kazanması için diğer bazı polimerlerle karıştırılabilir. İlaç salım uygulamalarında selüloz asetat, polilaktik asit, polilaktik-ko-glikolik asit gibi polimerlerle karıştırılıp kullanılmıştır (Chang et al., 1987).

PCL'nin biyobozunurluğunun diğer polimerlere göre yavaş olması doku mühendisliği ve ilaç salım uygulamalarında kullanılmasını mümkün kılmıştır. PCL'nin biyobozunurluğu iki aşamadan oluşmaktadır (Sinha et al., 2004):

- Zincirlerin kesilmesinden dolayı molekül ağırlığının 5000 'e kadar düşmesi
- Kütle kaybının oluşması

PCL'nin dört (C. L. Salgado et al., 2012; Sung et al., 2004) – 6 ay (Chawla et al., 2002; Cohn et al., 2005) gibi uzun olan biyobozunurluk süresi polilaktik asit, poliglikolik asit gibi polimerlerle karıştırılarak düşürülebilmektedir (Koleske, 1978). Bu durum özellikle doku mühendisliği uygulamaları için bazı durumlarda gerekli olabilmektedir. Böylelikle doku hasarı ya da defekt bölgesinin iyileşmesi için farklı oranlarda polimer karışımları hazırlanarak ideal bir biyobozunurluk süresi elde edilebilir.

PCL'nin biyomalzeme olarak kullanımı özellikle doku mühendisliği ve ilaç taşıma sistemlerinde artış göstermektedir (Lam et al., 2009). Toksisitesinin olmaması, düşük üretim maliyeti ve yavaş bozunma hızı nedeniyle PCL, doku

mühendisliği iskeleleri üretimi için sıklıkla tercih edilen bir polimerdir (Yoshimoto et al., 2003). Elektroeğirilmiş PCL sistemleri 2B, birbirleriyle bağlantılı gözenekliliğe ve yüksek yüzey/hacim oranına sahiptir. Ancak elektroeğirilmiş PCL sistemlerinde her ne kadar istenen mimari taklit edilebilse de PCL'nin düşük hidrofilisitesi hücre tutunması, hücre göçü, proliferasyonu ve farklılaşmasında bir düşüşe neden olmaktadır (Chong et al., 2007; C. H. Kim et al., 2006; Tan et al., 2007). Bu yüzden hücre tutunması ve proliferasyonu için üzerinde modifikasyonlar yapılmalıdır ya da bu iki özelliği başka bir şekilde sisteme entegre etmek gerekmektedir. Örneğin, PCL'nin ıslanabilirliği, dolayısıyla hidrofilikliği, hidrofilik polimerlerle birlikte kullanılarak artırılabilir (Ghasemi-Mobarakeh et al., 2010; C. H. Kim et al., 2006; Kim, 2008). Bir başka çalışmada Yoshimoto ve ark. (2003) PCL fiberlerini deksametazon, β -gliserofosfat ve askorbik asit gibi osteojenik ajanlarla kültüre ederek mezenkimal kök hücrelerin farklılaşmalarını sağlayabilmişlerdir. Dört hafta boyunca dinamik kültürde kalan PCL fiber iskelelerinin kalsifiye hücre dışı matris oluşturduğunu tespit etmişlerdir (Yoshimoto et al., 2003).

2.2.6.2. Bir doku iskelesi olarak jelatin

Doğal polimerler biyouyumlulukları nedeniyle doku iskelesi üretiminde sıklıkla kullanılırlar. Örneğin, kollajen ve elastin (hücre dışı matrisin temel yapısal bileşenleri) elektroeğirilerek doku iskelesi olarak kullanılmaktadır (Boland et al., 2004). Jelatin ise hayvanların deri, kemik ve bağ dokularından kollajenin kontrollü hidrolizle denatürasyonu sonucu oluşturulan doğal bir polimerdir. Hidroliz süreci boyunca, tekil kollajen iplikçikleri arasındaki doğal moleküler bağlar kopar ve daha kolay düzenlenebilir bir forma geçer. Birçok durumda kimyasal bileşimi, temel aldığı kollajene benzemektedir (Ward et al., 1977). Jelatin sıcak suda çözünür ve soğudukça jel haline bürünür. Doğrudan soğuk suya eklenen jelatin iyi çözünmemektedir. Jelatinin mekanik özellikleri sıcaklık değişimlerine oldukça hassastır. Jelatinin saflığı ve konsantrasyonuna göre erime noktası değişmektedir. Genellikle 35°C civarında olan erime noktası insan vücut sıcaklığından düşüktür (Cole, 2000).

Genellikle jelatinin iki tipi kullanılmaktadır: tip A ve tip B. Bu ayrım

kollajenden jelatinin ayrılması için hidroliz koşullarından doğmaktadır (Bhardwaj et al., 2010). Tip A jelatin domuz derisinden asit muamelesi ile, tip B jelatin ise sığır kemiğinden kireç muamelesi ile elde edilir (Sigma-Aldrich, 2015). Tip A ve tip B jelatin, amino asit içeriği, molekül ağırlığı dağılımı (Mariod et al., 2013) ve kimyasal özellikleri açısından birbirlerinden farklıdır. Tip A ve tip B jelatinin amino asit içerikleri özellikle glisin, prolin ve arjinin bakımından birbirlerinden farklılık göstermektedir (Hafidz et al., 2011; Mariod et al., 2013). Tip A jelatin içeriğinde glisin ve prolin amino asitleri, tip B jelatine göre daha fazla bulunmaktadır (Hermanto et al., 2013). Ayrıca tip A jelatin daha fazla hidrojen bağı içerdiğinden tip B jelatine göre daha sağlamdır (Arnesen et al., 2002).

Her iki tip jelatin de fizyolojik çevrelerdeki biyouyumlulukları ve biyobozunurlukları nedeniyle medikal ve farmasötik uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Bhardwaj et al., 2010). Jelatinin içerdiği RGD amino asit dizilimi ile hücre membranındaki integrin reseptörleri arasındaki özgül etkileşimler sayesinde hücre tutunması ve proliferasyonunda önemli etkisi vardır (Vatankhah et al., 2014). Örneğin bir çalışmada, Castello ve ark., RGD amino asit dizisini yüzey kaplama malzemesi olarak kullanmış ve insan fibroblast hücrelerinin tutunması ve kültüründe olumlu etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir (Castelletto et al., 2014). Aynı şekilde Wohlrab ve ark., örümcek ağı fiberleri üzerine RGD amino asit dizisi ekleyerek 3T3 fare fibroblastlarının proliferasyon ve tutunma profillerini incelemişler ve doğrusal RGD ile işlenmiş örümcek ağı fiberlerinin hücre tutunma ve proliferasyonuna olumlu etkileri olduğunu göstermişlerdir (Wohlrab et al., 2012). Bunların yanında kemik doku mühendisliği uygulaması olarak da RGD amino asit dizisinin etkileri gösterilmiştir. Örneğin, RGD dizisinin hücre proliferasyonunu artırdığı ve osteojenik belirteçlerin üretilmesini desteklediği gösterilmiştir (Moore et al., 2011). Bir başka çalışmada, halkasal RGD-peptid ile işlenmiş biyometal yüzeylerinde kemik iliği kök hücrelerinin osteoblastik potansiyellerinin olumlu bir şekilde arttığı gösterilmiştir (Jager et al., 2013). Her ne kadar yüksek biyouyumluluk ve hücre tutunma profiline sahip olsa da jelatin mekanik özellikleri bakımından oldukça zayıftır (X. K. Li et al., 2007). Bu nedenle doku mühendisliği uygulamalarında kullanılabilmesi için jelatinin mekanik özellikleri artırılmalıdır. Ayrıca oda sıcaklığı gibi düşük sıcaklıklarda jel haline gelmesi nedeniyle herhangi bir ek

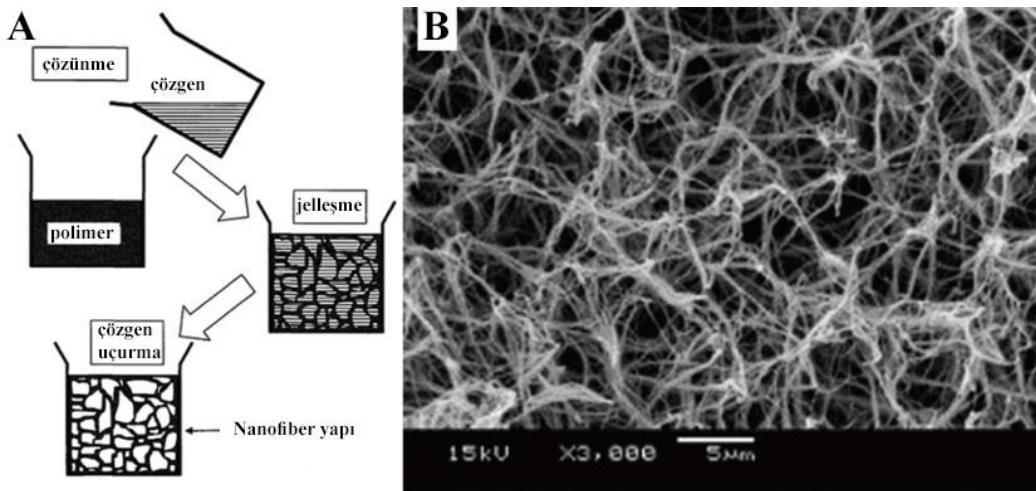
modifikasyon yapılmadan (örn. çapraz bağlama) doku mühendisliğinde kullanılması tercih edilmemektedir (Ma et al., 2005). Bu nedenle elektroeğirilmiş jelatin doku iskelelerinin doku mühendisliğinde kullanımı için diğer polimerlerle karıştırılması gerekli olabilmektedir (Chong et al., 2007; Gautam et al., 2013; X. K. Li et al., 2007; Y. Zhang et al., 2005).

2.3. Doku İskelesi Üretim Yöntemleri

Doku mühendisliği ürünlerinin üç ana bileşeninden birisi olan doku iskelesi üretimi için birçok yöntem keşfedilmiştir (F. Yang et al., 2008). Bu tekniklerden başlıcaları şunlardır:

2.3.1. Faz ayırma tekniği

Polimer çözeltisinin termodinamik etkileşimler ile fazlara ayrılmasına dayanan bir yöntemdir. Bu yöntemde (a) polimerin çözgüde çözünmesi, (b) faz ayrılması ve düşük sıcaklıkta polimerin jelleşmesi, (c) çözgenin değiştirilmesi, (d) dondurma ve dondurarak kurutma basamakları bulunmaktadır (Xing et al., 2012). Sonuçta fiber yapıda doku iskelesi oluşturulabilmektedir.



Şekil 2.3 (A) Faz ayırma tekniği şematik gösterimi. (B) Bu teknik ile üretilmiş doku iskelesinin SEM görüntüsü (Xing et al., 2012)

2.3.2. Dondurarak kurutma (liofilizasyon) tekniği

Dondurarak kurutma tekniğinde polimerler bir çözgüde çözüldükten sonra

dondurulur ve vakum altında düşük sıcaklıklarda süblimeşen solventin uzaklaşmasıyla gözenekli bir iskele oluşur (Basu et al., 2014).

2.3.3. Gaz köpüklendirme tekniği

Bu teknik ile yüksek basınç altında karbondioksit gazına maruz bırakılan çözülmüş polimerde gaz molekülleri köpürerek gözenek oluşturur. Böylelikle gözenekli bir iskele elde edilir (Colosi et al., 2013; Ji et al., 2012).

2.3.4. Elektroeğirme tekniği

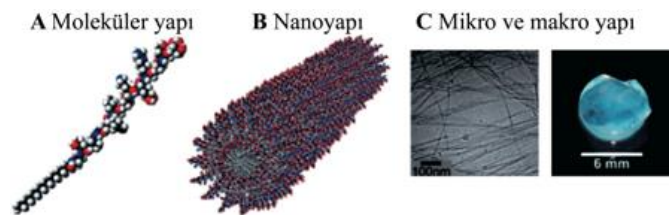
Yüklü polimer çözeltisinin elektrik alanda ilerlerken solventin buharlaşmasıyla fiber yapıda sürekliliğe sahip iskele oluşturulabilen bir tekniktir. Bölüm 2.4'te ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

2.3.5. Hızlı prototipleme tekniği

Son zamanlarda oldukça gündemde olan bir tekniktir. Hedef organ ya da doku yapısının üç boyutlu tarayıcılar yardımıyla dijital ortama aktarılıp daha sonra 3B yazıcılar ile basılması tekniğidir (Billiet et al., 2012).

2.3.6. Kendiliğinden dizilim

Kendiliğinden dizilim, hidrojen bağları, hidrofobik kuvvetler ve elektrostatik etkileşimler gibi kovalent olmayan kuvvetler yardımıyla moleküllerin kendilerini organize etmesi ve bir doku oluşturabilecek düzen içerisine girmesi olayıdır (Berndt et al., 1995). Fiber doku mühendisliği üretiminde kullanılmaktadır (Babin, 2008; Chung et al., 2009).



Şekil 2.4 Kendiliğinden dizilmiş peptid amfifil nanofiber ağının (A) moleküler (B) nano ve (C) mikro ve makro yapısı (Jun et al., 2005)

Çizelge 2.1 Nanofibröz doku iskelesi üretimi için kullanılan bazı yöntemler

	Avantaj	Dezavantaj
Elektroegirme	İstenen oranda ve yüzey alanında ince fiber üretilmesi	Düşük üretim hızı
Faz ayırma	Basit düzenek Nano ve mikro mimarinin rasgele oluşumu	Uzun ve karmaşık üretim süreci
Kendiliğinden dizilim	Tabakalı ya da lamellar yapıların üretiminin mümkün olması Sistemin bileşenleri geri kazanılabilmesi	Zaman alan süreç Ekonomik olmaması

2.4. Elektroegirme

1500’lü yıllarda William Gilbert keşfedilen küre şeklindeki bir su damlasına elektrostatik kuvvet uygulandığında damlanın konik şekil alması olayı 1882’de Lord Rayleigh tarafından tekrar gözden geçirilerek 1914’te Zeleny ve ark. tarafından polimer damlası kullanılmasıyla bugünkü elektroegirme sistemi halini almıştır (Taylor, 1966). Tipik bir elektroegirme sisteminde bir yüksek güç kaynağı, şırınga pompası (mikro pompa), şırınga, enjektör iğnesi ve topraklanmış bir iletken toplayıcı bulunmaktadır (Şekil 2.5). Polimer çözeltisi şırıngaya yüklenir ve enjektör iğnesi ucuna takılır. Ardından şırınga, şırınga pompasına takılır ve belirli bir akış hızı ile polimer enjekte edilir. Polimer çözeltisine şırınganın ucu ile toplayıcı levha arasında yüksek voltaj uygulandığında oluşan elektrostatik kuvvet iğne ucundaki polimer damlasının yüzey gerilimini yener ve Taylor konisi adı verilen bir yapı oluşur. Taylor konisini takiben polimer çözeltisi akışkan jeti adı verilen bir yapıya dönüşür ve uzamaya başlar. Yüklü akışkan jeti iğne ucu ile topraklanmış iletken toplayıcı arasındaki elektriksel potansiyel farkı sayesinde toplayıcı üzerinde toplanır. İğne ucu ile toplayıcı arasında gerçekleşen polimer jetinin kırbaç hareketi polimerin içinde bulunduğu çözgenin buharlaşmasını sağlar ve toplayıcı üzerinde kuru polimer fiberleri toplanır (Y. S. Lee et al., 2011).



Şekil 2.5 Elektroeğirme düzeneği

Çizelge 2.2 Elektroeğirme parametrelerinin fiber morfolojisine etkisi (Bhardwaj et al., 2010)

Parametre	Fiber morfolojisine etkisi
Çözelti parametreleri	
Viskozite	Az boncuk oluşumu, fiber çapında artış, boncuk oluşmaması
Polimer konsantrasyonu	Konsantrasyon artışı ile fiber çapı da artar
Polimerin moleküler ağırlığı	Moleküler ağırlık artışı ile boncuk sayısı azalır
Elektriksel iletkenlik	Elektriksel iletkenliğin azalması fiber çapını da küçültür
Yüzey gerilimi	Fiber morfolojisi ile doğrudan bir ilişkisi yoktur, yüksek yüzey gerilimi jet akışının düzenini bozar
İşletme parametreleri	
Uygulanan gerilim	Gerilim arttıkça fiber çapı küçülür
İğne ile toplayıcı arasındaki mesafe	Çok uzak ya da çok yakın olması durumunda damla görülür, homojen fiber oluşumu için optimum uzaklık gereklidir
Besleme hızı	Besleme hızı azaldıkça fiber çapı da küçülür, çok yavaş hızlarda boncuk oluşumu görülür
Çevresel parametreler	
Nem	Nemin yüksek olması fiberler üzerinde dairesel gözenek oluşumuna neden olur
Sıcaklık	Sıcaklık artışı fiber çapını küçültür

Birçok çalışmada nanofiber üretimi için kullanılan elektroegirme sistemini etkileyen parametreler gösterilmiştir (Çizelge 2.2) (Dersch et al., 2004; Greiner et al., 2007, 2008; Z. M. Huang et al., 2003; D. Li, Xia, Y., 2004; Reneker et al., 2007). Fiber çapları, kurdele şekilli fiber oluşumu, damlacık oluşumu, gözenekli fiber oluşumu ve dallanmış fiber oluşumu parametrelerin kontrolü ile belirlenebilmektedir. İğne ucunun çapındaki bir azalmanın fiber çapını da azalttığı bilinmektedir (Katti et al., 2004). İletken toplayıcının da iğne ucuna olan uzaklığının fiber çapı üzerindeki etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir (Arayanakul et al., 2006; Chase et al., 2004; Deitzel et al., 2001; Fong et al., 1999; Jarusuwannapoom et al., 2005; Son et al., 2004; Yu et al., 2006; Zuo et al., 2005).

Toplayıcı ile iğne ucundaki mesafe arttıkça fiber çaplarının azalmasının yanında daha düz yapılı fiberler elde edilmektedir (Jarusuwannapoom et al., 2005). Ancak mesafe artışı aynı zamanda boncuklu fiber oluşumuna da neden olabilmektedir. Bunların yanında sisteme besleme hızı arttıkça fiber ve boncuk çapları da büyümektedir (Beachley et al., 2009; Doshi et al., 1995; Mituppatham et al., 2004; Supaphol et al., 2005; Suslu et al., 2014; Wannatong et al., 2004). Besleme hızı fiberlerin son çaplarını belirlemede anahtar bir rol oynamaktadır (Fridrikh et al., 2003). Polimerin yüzey gerilimi ve elektriksel iletkenlikleri esasen çözgen özellikleriyle belirlenmektedir. Böylelikle akış hızı da fiber çapını belirlemede temel bir parametre halini almaktadır. Fiber çapının akış hızı ile arttığı düşük gerilim altındaki deneysel çalışmalarda gözlenmiştir. Aynı zamanda çözeltinin viskozitesi de fiber morfolojisinde önemli bir rol oynamaktadır (Arayanakul et al., 2006; Deitzel et al., 2001; Fong et al., 1999; Jarusuwannapoom et al., 2005; Yu et al., 2006; Zuo et al., 2005). Ayrıca fiber çapı yüksek polimer konsantrasyonları ya da polimer çözeltisi içerisindeki polimerin molekül ağırlığının artışı ile de artacaktır. Başlangıç egirme polimer konsantrasyonları %1 ila %30 (bazı durumlarda %40) oranlarına kadar değişiklik göstermektedir (Fong et al., 1999; Theron et al., 2004).

Birkaç çalışmada ise elektroegirme sistemlerinde kullanılan çözgenlerin buhar basıncından etkilendikleri gösterilmiştir (Gupta et al., 2005; Jarusuwannapoom et al., 2005; Q. Yang et al., 2004) ancak morfolojik değişimler elektriksel iletkenlik, viskozite ya da yüzey gerilim etkisinden kaynaklanmaktadır.

Herhangi bir durumda çözgenin düşük buhar basıncına sahip olması iğne ucunu tıkayıcı bir etken olacaktır (Samatham et al., 2006).

Bir tuz varlığında ya da yokluğunda ortaya çıkan çözeltinin elektriksel iletkenliği elektroegirme sistemi için bir diğer önemli parametredir (Qin et al., 2007; Uyar et al., 2008). İletkenliğin artması boncuk oluşumunu baskılamaktadır (Liu et al., 2008). Elektriksel iletkenliği düşük ya da zayıf olan çözeltilerden elektroegirme sistemi ile fiber üretilmediği bilinmektedir (Qin et al., 2007). Bu gibi durumlarda egirme çözeltisine tuz eklenerek (Qin et al., 2007; Suslu et al., 2014) ya da elektriksel iletkenliği yeterli düzeyde olan başka bir polimerle karışım halinde kullanılması gerekmektedir.

Elektroegirme sürekliliğe ve yüksek gözeneklilik ve birbirleriyle bağlantılı kanallara sahip 3B polimerik nanofiber doku iskelesi üretimi için sık kullanılan tekniklerden bir tanesidir (Barnes et al., 2007). Doku mühendisliği uygulamaları için elektroegirme tekniğinin potansiyeli yüksektir çünkü elektroegirme ile doğal hücre dışı matrisin fiziksel boyutlarını taklit edebilecek nanofibröz polimerik doku iskeleleri üretmek mümkündür (Dahlin et al., 2011). Literatürde elektroegirme yöntemi ile doku mühendisliği amacıyla üretilmiş geniş bir spektruma sahip polimer ve çözgen ile bunların kombinasyonları bildirilmiştir (Pham et al., 2006). Bu doku iskeleleri hücrelerin tutunması için 3B mimari oluşturmanın yanı sıra yeni dokunun rejenerasyonunu da destekler (Bye et al., 2013). Doku mühendisliği iskeleleri üretmek için elektroegirme sisteminin avantajları şunlardır:

- Mikron seviyelerinden nanometre seviyelerine kadar değişen incelikte fiber üretilmesi mümkündür. Bu denli küçük boyutlardaki fiberler fiziksel olarak birçok doku ve organdaki hücre dışı matrisin yapısal özelliklerini taklit edebilmektedir.
- Üretilen doku iskeleleri yüksek oranda birbirleriyle bağlantılı ve yüksek yüzey alanı/hacim oranına sahip gözenekliliğe sahip bir mikroyapı sağlayabilmektedir.

- Elektroeğirme çok yönlüdür ve farklı birçok polimer, polimer karışımları, inorganik malzemeler ve biyomoleküllerin kullanılmasına olanak tanır.
- Farklı tipte doku iskelesi üretebilmek için basit ve düşük maliyetli bir yöntemdir (Barnes et al., 2007; Matsumoto et al., 2011; Y. Zhang et al., 2005).

Elektroeğirme ile üretilmiş doku iskelelerinin doku mühendisliği yanında yara örtü malzemesi olarak kullanılması da biyomedikal çalışmalarında yaygındır. İnsan yarası sürekli akıntı yapan bir yapıya sahiptir. Bu yüzden elektroeğirilmiş doku iskelelerinin sahip olduğu 3B birbirleriyle uzamsal olarak bağlı olan gözenekli yapı akıntının akmasına izin verir. Aynı zamanda nanofiber yapı mikrobiyal canlıların yaraya nüfuz etmesini engeller. Bunun yanında yine gözenekli yapı sayesinde gaz alışverişine de olanak sağlar (Kobsa et al., 2013). Bütün bu sahip olduğu özelliklerinden dolayı elektroeğirilmiş doku iskeleleri yara iyileşmesinde sıklıkla kullanılır (Naseri et al., 2014; Unnithan et al., 2012; Unnithan et al., 2015).

2.5. Biyomineralizasyon

Biyomineralizasyon farklı canlıların genellikle dokularını sertleştirmek için yaptıkları mineral üretme sürecidir. Böyle dokulara mineralize doku denir (Harris et al., 2014). En yaygın biyomineraller kalsiyumun fosfat ve karbonat tuzları olup bu mineraller doku mühendisliği uygulamalarında kollajen ve kitin gibi organik polimerlerle hibritlenerek kemiklere yapısal destek sağlamak için kullanılır (Vinn, 2013). Mineral büyüklüğü kontrol edilebilir bir süreçtir. Bu nedenle, biyomineralizasyonun kontrollü yapılabilmesi ve mekanizmasının anlaşılmasıyla kemik doku mühendisliği uygulamalarında kullanılabilmektedir (Boskey, 1998; Sarikaya, 1999).

Kemik minerali (inorganik kemik fazı, kemik tuzu, kemik apatit) kemiğin inorganik bölümüdür. Kemik minerali düşük kristalinitedeki (Bertazzo et al., 2006a) karbonlanmış hidroksiapatitten (Field et al., 1974; Legros et al., 1987)

oluşur. Kemik minerali kemiğin kollajen fibrilleri arasında yerleşerek daha büyük bir yapı oluşturmak üzere globüler ya da düzlemsel şekillerde oluşturur (Bertazzo et al., 2006a; Bertazzo et al., 2006b).

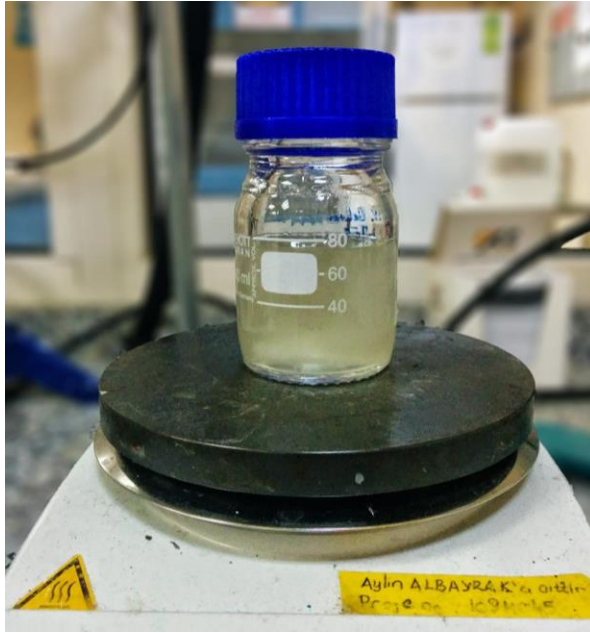
Hidroksiapatit (bir CaP formu) kemik ve diş gibi kalsifiye dokulardaki temel bileşendir. Sentetik hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) üstün osteoindüktif özelliklerinden dolayı kemik dolguları arasında kapsamlı bir kullanıma sahiptir (Kokubo et al., 2003). CaP ile zenginleştirilmiş yüzeylerin yüzey özelliklerinin (yüzey alanı ve yük gibi) yanına bazı kimyasalları adsorbsiyon yetenekleri de hücrel yanıt ve proliferasyonu etkileyerek mineralizasyonu artırır (Küçüköksel et al., 2014). CaP kemik doku mühendisliği iskele matris elemanı olarak, kontrollü ilaç salımı, kemik çimentoları, diş macunu katkı maddesi ve dental implantlar gibi birçok biyomedikal uygulamalarında kullanılmaktadır. Uygun 3B geometriye sahip olan CaP içeren biyomalzemeler endojen kemik morfogenetik proteinlerin birikimini yapabilir ve böylelikle kemik oluşumu için osteoindüktif bir malzeme olur (Rameshbabu et al., 2005).

Doğal kemik dokusu inorganik ve organik biyokompozitlerin karakteristik bir örneği olup çoğunluğu hidroksiapatitten olan %70 oranında inorganik kristaller ve çoğunlukla tip I kollajeninden oluşan %30'luk bir protein kısımdan oluşur (Glimcher, 1959). Bu nedenle CaP sahip olduğu yüksek biyoaktivite, gözeneklilik ve biyouyumluluk nedeniyle kemik-mineral fazı ve biyoseramik dolgu maddesi olarak düşünülebilir (Hong et al., 2005).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Elektroğırme Çözeltilerinin Hazırlanması

Jelatin ve polikaprolakton polimerlerinden %12^(k/h)'lik stok çözeltiler hazırlandı. Öncelikle 65ml TFE (2,2,2-trifluoroetanol, Sigma-Aldrich, ABD, T63002-500G, Lot # STBC9391V) içerisinde 7.8g jelatin (Gelatin from porcine skin, Sigma, ABD, G1890-100G, Lot# SLBK6158V) manyetik karıştırıcı üzerinde 750rpm'de 6 saat karışmaya bırakılıp çözdürüldü. Aynı şekilde, PCL de



Şekil 3.1 Manyetik karıştırıcı üzerinde %12'lik jelatin çözeltisi

Çizelge 3.1 Stok çözeltilerden hazırlanan diğer çözeltilerin miktarları

Hazırlanan	65ml %12 PCL (stok)		65ml %12 Jelatin (stok)	
	Stoktan alınan (ml)	TFE	Stoktan alınan (ml)	TFE
%10	12.5	2.5	12.5	2.5
%8	10.0	5	10.0	5
%4	5.0	10	5.0	10

(polikaprolakton, Aldrich, ABD, 440744-250G, Lot# MKBD9495V) 65ml TFE

içerisinde %12^(k/h) olacak şekilde çözündürüldü. %10^(k/h), %8^(k/h), %4^(k/h) jelatin ve PCL çözeltileri ile %10^(k/h), %8^(k/h), %4^(k/h), er Jelatin ve PCL içeren jelatin/PCL çözeltileri bu stoklardan TFE eklenerek seyreltme ile elde edildi. Çözelti oranlarına göre eklenen çözgen miktarları Çizelge 3.1’de gösterilmiştir. Hazırlanan her bir çözelti 750rpm’de 6 saat manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı (Şekil 3.1). Süre sonunda her bir çözeltide çözünmeyen madde ihtimaline karşı gözlem yapıldı. Çözeltiler oda sıcaklığında saklandı (25°C).

3.2. Çözeltilerin Elektriksel İletkenlik Değerleri

Hazırlanan bütün çözeltilerin elektriksel iletkenlik değerleri Cond 3110 SET1 (WTW, Almanya) elektriksel iletkenlik ölçme cihazı ile ölçüldü. İletkenlik değerleri ölçümleri çözeltilerin içerisine sırayla prob yerleştirilerek alınmıştır. Her işlem sonrasında prob distile su ile yıkanıp kurulanmıştır.

3.3. Elektroeğirilmiş İskelelerin Hazırlanması ve Optimizasyonu

Tüm elektroeğirme denemeleri, optimizasyonu ve fiber üretimi çalışmaları Gamma High Voltage Research (Ormond Beach, Florida) yüksek voltaj kaynağı, Syringe Pump (New Era Pump Systems, Inc, New York) mikro pompası ve alüminyum folyo ile yapılmıştır. Fiber üretmek için her çözeltinin ayrı ayrı optimizasyonu yapıldı. Optimizasyon sırasında voltaj (kV), çözelti akış hızı (ml/sa) ve enjektör ucu ile toplayıcı levha arasındaki uzaklık parametreleri değiştirilerek tüm elektroeğirme çalışmaları 22°C’de yürütülmüştür.

3.4. Elektroeğirilmiş Fiberlerin Morfolojik Karakterizasyonu

Fiber yapısının morfolojik karakterizasyonu hem ters faz ışık mikroskobunda hem de taramalı elektron mikroskobunda gözlemlendi. Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri ile hem fiber çapı analizi hem de yüzde olarak gözeneklilik oranları hesaplanmıştır.

3.4.1. Elektroeğirilmiş Örneklerin Işık Mikroskopunda İncelenmesi

Bütün örnekler Olympus ters faz kontrast ışık mikroskopunda (Hamburg, Almanya) incelenerek 10x objektif büyütmesinde örneklerin fiber morfolojilerine bakıldı ve fotoğrafları kaydedildi.

3.4.2. Elektroeğirilmiş Örneklerin Taramalı Elektron Mikroskopunda İncelenmesi

Hazırlanan örnekler önce Polaron Range SC7620 Sputter Coater ile 8×10^{-1} mbar/Pa oda basıncı altında 150 sn altın ile kaplandı. Ardından JSM-6060 model taramalı elektron mikroskopunda (JEOL, Inc., ABD) 100x, 500x ve 1000x büyütmelerinde 10kV ivme voltajı (acceleration voltage) ve 13mm çalışma mesafesinde (working distance) incelendi ve fotoğrafları kaydedildi.

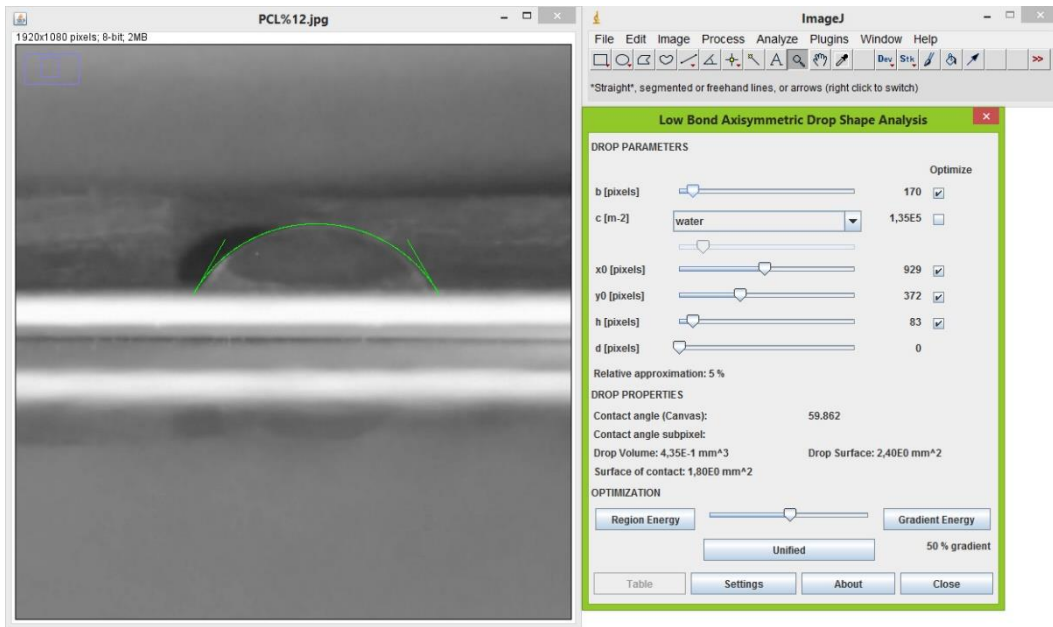
3.5. Elektroeğirilmiş İskelelerin Gözeneklilik Oranı Hesabı

Elektroeğirilmiş iskelelerin gözeneklilik hesabı için ImageJ yazılımı kullanıldı. Yazılım içerisinde açılan taramalı elektron mikroskobu fotoğrafı öncelikle 8-bit kalitesine getirildi. Ardından Process > Enhance Contrast menüsünden fotoğrafın kontrastı artırıldı. Color > Threshold menüsünden bir eşik değeri uygulandı (Triangle). Ardından Analyze > Measure komutu uygulandı ve % Area değeri gözeneklilik değeri olarak kaydedildi. Ayrıca teorik gözeneklilik hesabı da yapılarak görüntü işleme yolu ile elde edilen gözeneklilik değerleri ile karşılaştırıldı:

$$\text{Teorik Gözeneklilik} = \left(1 - \frac{\text{Görünür yoğunluk}}{\text{Kütlesel yoğunluk}}\right) \times 100$$

$$\text{Görünür yoğunluk} = \frac{\text{İskele ağırlığı}}{\text{İskele hacmi}}$$

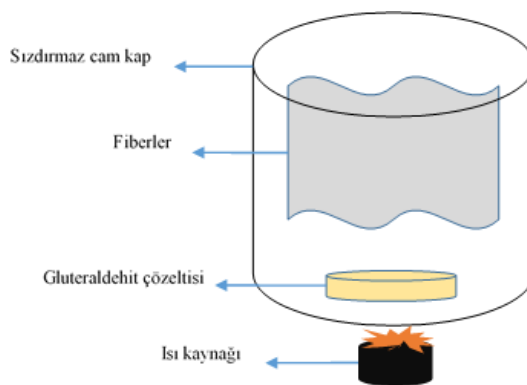
İskele hacmi 1cmx1cmx0.05cm olacak şekilde kesilip ağırlığı ölçüldü. Ağırlık/hacim oranıyla görünür yoğunluk elde edildi. Bu oran kullanılan polimerlerin üreticilerin belirlediği yoğunluk değerine bölündü. Bulunan oran 1'den çıkartılıp 100 ile çarpıldı ve yüzde olarak teorik gözeneklilik hesabı yapıldı.



Şekil 3.3 Temas açısı sisteminde fotoğrafı çekilen sistemler ImageJ yazılımı ile analiz edildi.

3.7. Jelatin ve Jelatin/PCL Fiberlerinin Çapraz Bağlanması

%10^(k/h) ve %12^(k/h) Jelatin ve Jelatin/ PCL hibrit fiberleri simüle vücut sıvısı içerisinde çözünmemesi için çapraz bağlandı. Çapraz bağlama işlemi fiberler gluterdialdehit (saflık>99.9, S4652503 641, Merck, ABD) buharına 37°C’de 24 saat maruz bırakılarak gerçekleştirildi. Bu işlem şu şekilde yapılmıştır:



Şekil 3.4 Jelatin içeren doku iskelelerini çapraz bağlama sistemi

Sızdırmaz cam bir kabın tabanına gluteraldehit çözeltisi yerleştirildi. Bu kap ayarlanabilen bir sıcaklıkta stabil kalabilen bir ısıtma sistemi üzerine konuldu. Üretilen fiberler alüminyum folyodan ayrılmadan dik bir şekilde cam kabın içerisine bırakıldı. Böylelikle kabın tavanında oluşan gluteraldehit buharının yoğunlaşması nedeniyle oluşan damlacıkların fiberler üzerine düşmesi engellendi.

3.8. Çapraz Bağlanmanın Test Edilmesi

Çapraz bağlamanın test edilmesi hem nicel hem de nitel yöntemlerle gerçekleştirildi. Öncelikle çapraz bağlanma olduğu varsayılan jelatin ve jelatin/PCL fiberleri 37°C'deki PBS (fosfat tamponlu salin) içerisine atılarak çözünüp çözünmediği gözlemlendi. Daha sonra diferansiyel ısı analiz (DTA-TGA) cihazı (DTG-60H, Simultaneous DTA-TG Apparatus, Shimadzu, Japonya) ile hem malzemenin sıcaklık artışı ile bünyesinde meydana gelen termal ve gravimetrik değişimleri belirlendi hem de sıcaklık artışı ile gerçekleşen kütle kayıpları hesaplandı. Örnekler en az 3mg olacak şekilde pana yerleştirildi. Referans olarak alüminyum kullanıldı. Pan olarak ise 600°C'de ergimeyecek alüminyum kullanıldı. Sıcaklık artış hızı 10°C/dak olarak belirlendi. Sıcaklık aralığı olarak ise 0-600°C seçildi. Atmosfer olarak azot gazı (N₂) kullanıldı.

Bir başka nicel yöntem olarak da Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR, Perkin Elmer FT-IR Spectrum BX System, ABD) kullanıldı. Çapraz bağlanmış ve bağlanmamış fiberler arasındaki bağ farklılıkları incelendi. Örnekler, sırayla FT-IR gözüne yerleştirildi ve 650-4000 cm⁻¹ dalga boyundaki absorban değerleri ölçülüp kaydedildi.

3.9. Çapraz Bağlanmış İskelelerin Sıvı Emme Kapasitesi Hesabı

Çapraz bağlanmış iskelelerin sıvı emme kapasitesi ölçümü için öncelikle fiberler 3'er adet 1cm² ölçüsünde kesildi. İskelelerin kuru ağırlıkları hassas terazi (A&D GR-200, ABD) yardımıyla tartıldı. Ardından her set 37°C'deki PBS içerisinde 5sn bekletildi. 5sn sonrasında kurutma kâğıdına alınarak üzerindeki fazla sıvı emdirildi ve tekrar tartıldı.

$$\text{Sıvı emme kapasitesi} = \frac{K_1 - K_0}{K_0} \times 100$$

formülü ile fiber iskelelerin sıvı emme kapasiteleri hesaplandı. Formülde K₀ iskelenin kuru ağırlığını, K₁ iskelenin sıvıyı emdikten sonraki ağırlığını belirtmektedir.

3.10. Doku İskelelerinin Kütle Kaybı Hesabı

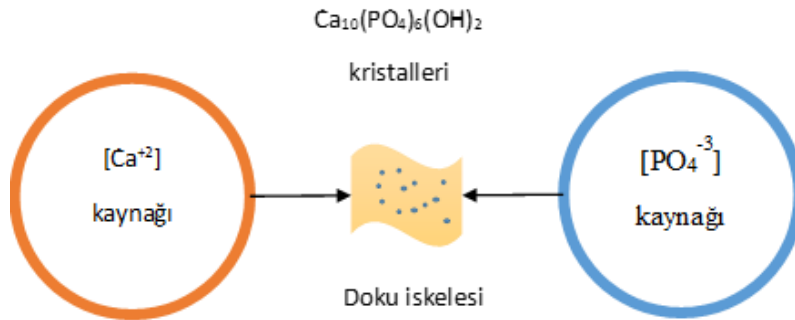
Çapraz bağlanmış ve kontrol doku iskelelerinin TGA analizi sonucunda 0-600°C sıcaklıkları arasındaki kütle kayıpları hesaplanmıştır. Shimadzu TA60 (Singapur) yazılımında TGA grafikleri seçilip kütle kayıpları yüzde (%) olarak hesaplanmıştır.

3.11. Doku İskelelerinin Denatürasyon Sıcaklıklarının Hesabı

Çapraz bağlanmış ve kontrol doku iskelelerinin DTA analizi sonucunda 0-200°C sıcaklıkları arasındaki pikleri üzerinden iskelelerin denatürasyon sıcaklıkları hesaplanmıştır. Grafikte pikin maksimum noktası denatürasyon sıcaklığını vermektedir.

3.12. Doku İskelelerinde Kalsiyum Fosfat (CaP) Biyomineralizasyonu

Doku iskelelerinde kalsiyum fosfat (CaP) çekirdeklendirilmesi simüle vücut sıvısı (SBF) içerisinde dört hafta inkübe edilerek gerçekleştirildi.



Şekil 3.5 CaP biyomineralizasyonun şematik görüntüsü

Çizelge 3.2 İnsan kan plazması ve SBF içerisindeki iyon değerleri (pH 7.40) (Kokubo et al., 2006)

	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
İnsan Kan Plazması	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	27.0	1.0	0.5
Simüle Vücut Sıvısı	142.0	5.0	1.5	2.5	147.8	4.2	1.0	0.5

Öncelikle SBF hazırlandı. Çizelge 3.2'deki iyon değerlerinin sağlanması için gerekli hesaplamalar yapıldı (Çizelge 3.3) ve kimyasallar tartıldı.

Çizelge 3.3 SBF içerisindeki iyon değerlerini sağlayacak kimyasal miktarları

Sıralama	Kimyasal adı	Miktar
1	NaCl	8.035g
2	NaHCO ₃	0.355g
3	KCl	0.225g
4	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0.231g
5	MgCl ₂ .6H ₂ O	0.311g
6	1.0M HCl	39ml
7	CaCl ₂	0.292g
8	Na ₂ SO ₄	0.072g
9	Tris -(hidroksimetil aminometan)	6.118g

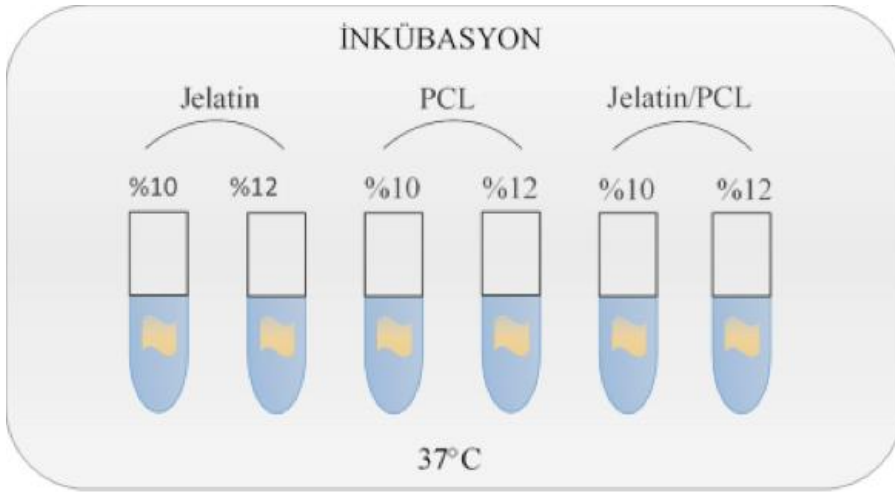
SBF içerisindeki iyonlar çevresel faktörlerin etkisine göre presipitasyon oluşturabileceğinden SBF şu şekilde hazırlandı: Öncelikle polipropilen beher içerisine (cam kap CaP presipitasyonuna neden olabilmektedir) 700ml ultra saf su eklendi ve 37°C'ye ısıtıldı. Tartılan kimyasallar Çizelge 3.3'teki sırayla çözeltiye eklendi (Bir basamaktaki kimyasal madde tamamen çözünmeden diğerine geçilmedi). Çözelti karışımı 900ml'ye tamamlandı ve pH metre sisteme dâhil edildi. Tris eklenmesi sırasında oldukça hassas davranıldı. Tris eklendikçe pH hızlı bir şekilde arttığından her 7.45'e ulaştığında 1.0M HCl eklenerek pH7.42'ye düşürüldü. Tris tamamen bittiğinde ise sıcaklık 36.5°C'ye sabitlendi ve pH 7.40'a getirildi. pH metre çıkarıldı ve ultra saf su ile yıkandı. Ardından karışım polipropilen mezüre aktarılarak 1000ml'ye tamamlandı. Sıcaklık 20°C'ye düşürüldü ve 1000ml'ye tamamlandı. Hazırlanmış SBF +4°C'de saklandı.

Doku iskeleleri 50ml'lik falkon tüplerine yerleştirildi ve eklenecek SBF miktarları şu şekilde hesaplandı:

$$Y_A = 10mm \times 20mm$$

$$V_S = \frac{Y_A}{10} = \frac{200mm^2}{10 \frac{mm^2}{ml}} = 20ml$$

Formülde; Y_A , yüzey alanını, V_S ise hesaplanan yüzey alanına karşılık gelen eklenmesi gereken SBF hacmini belirtmektedir. SBF, bakteriyel kontaminasyon oluşmaması için $0.22\mu m$ 'lik filtreden geçirildi ve doku iskelesi içeren her bir falkon tüpüne 20ml eklendi ve $37^\circ C$ 'de kapalı bir şekilde 28 gün boyunca inkübasyona bırakıldı (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 Doku iskeleleri 28 gün boyunca $37^\circ C$ 'de inkübe edildi.

Her iki günde bir SBF yenisi ile değiştirildi. 7, 14, 21 ve 28. günlerde SEM fotoğrafları çekildi ve CaP varlığı saptandı. Ayrıca 28. günde XRD ve EDS analizi yapılarak fiberler üzerinde CaP varlığı nicel olarak gösterildi.

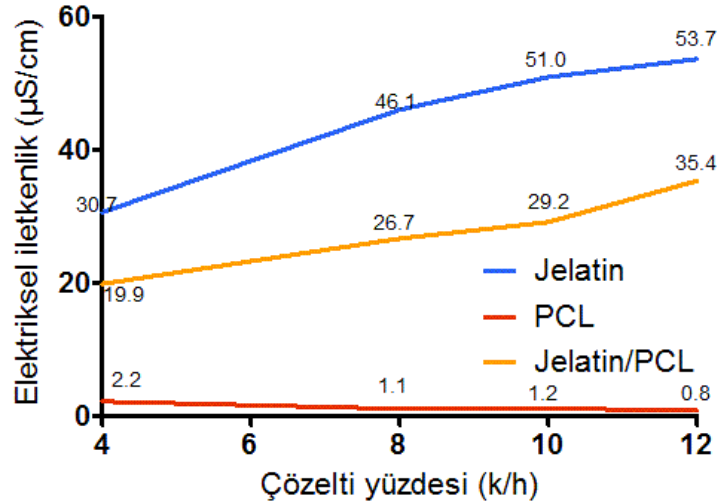
4. BULGULAR

4.1. Elektroegirme Çözeltilerinin Elektriksel İletkenlikleri

TFE içerisinde çözünen jelatin ve PCL polimerlerinden hazırlanan %4, %8, %10 ve %12'lik çözeltilerin elektriksel iletkenlik değerleri ölçülmüştür (Çizelge 4.1). Bu ölçüm sonucuna göre elektriksel iletkenlik değeri çok düşük olan PCL polimerine 1:1 oranında jelatin eklenerek oluşturulan çözeltilerin (%12, %10, %8, %4 Jelatin/PCL) elektriksel iletkenlik değerlerinin arttığı görülmüştür (Şekil 4.1).

Çizelge 4.1 Jelatin, PCL ve Jelatin/PCL biyokompozit çözeltilerinin elektriksel iletkenlik değerleri

Çözelti içeriği (k/h)	Jelatin ($\mu\text{S/cm}$)	PCL ($\mu\text{S/cm}$)	Jelatin/PCL (1:1) ($\mu\text{S/cm}$)
%4	30.7	2.2	19.9
%8	46.1	1.1	26.7
%10	51.0	1.2	29.2
%12	53.7	0.8	35.4



Şekil 4.1 Polimer çözeltilerinin elektriksel iletkenlik değerleri

4.2. Elektroegirilmiş İskelelerin Hazırlanması ve Optimizasyonu

İskelelerin hazırlanması elektroegirme düzeneğinde gerçekleştirilmiştir. Her çözelti için farklı voltaj, uzaklık ve debi parametreleri ayrı ayrı denenip her birisi

için optimum değerler kaydedilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Elektroëğirme için çözeltilerin optimum parametre değerleri

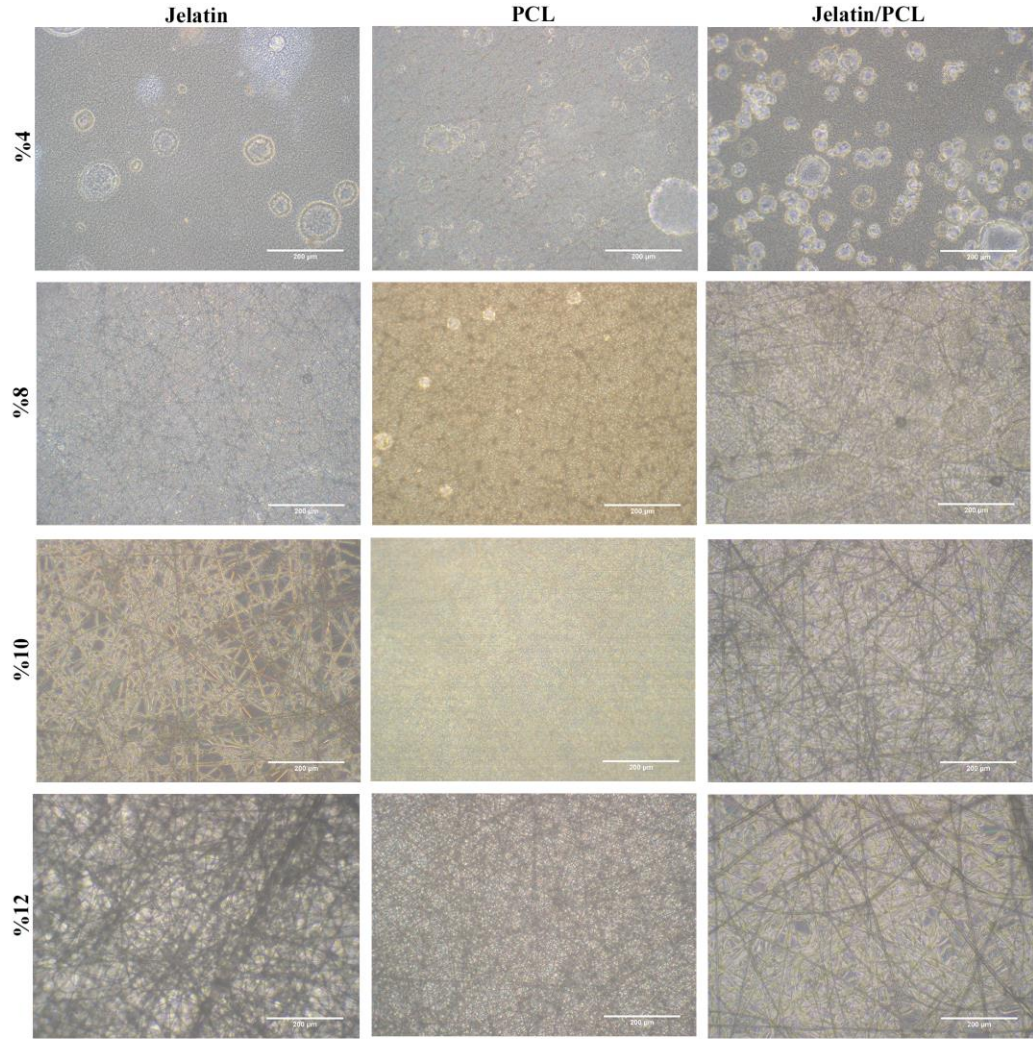
Parametre	Voltaj (kV)	Uzaklık (cm)	Debi (ml/sa)
%4 Jelatin	15	10	1.0
%8 Jelatin	15	10	1.0
%10 Jelatin	17.5	15	3.0
%12 Jelatin	17.5	15	1.0
%4 PCL	15	20	4.0
%8 PCL	15	20	4.0
%10 PCL	15	20	4.0
%12 PCL	17.5	12	1.0
%4 Jelatin/PCL	15	20	4.0
%8 Jelatin/PCL	15	20	4.0
%10 Jelatin/PCL	15	20	4.0
%12 Jelatin/PCL	17.5	15	3.0

4.3. Elektroëğirilmiş İskelelerin Morfolojik Karakterizasyonu

4.3.1. Işık mikroskobu görüntüleri

Doku iskeleleri ters faz ışık mikroskobunda (Olympus, CK-40-SL, Japonya) incelenip fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 4.2). Işık mikroskobu görüntülerine göre %4'lük jelatin, PCL ve jelatin/PCL hibrit biyokompozitlerinde homojen bir fiber yapısı görülememiştir. Aksine boncuk yapıları gözlemlenmiştir. %8'lik jelatin, PCL ve jelatin/PCL hibrit biyokompozitlerinin eğirilmesi sonucunda ise fiber

yapıları görülmeye başlanmıştır. Ancak yine de boncuk miktarının da azımsanamayacak kadar çok olduğu görülmüştür.

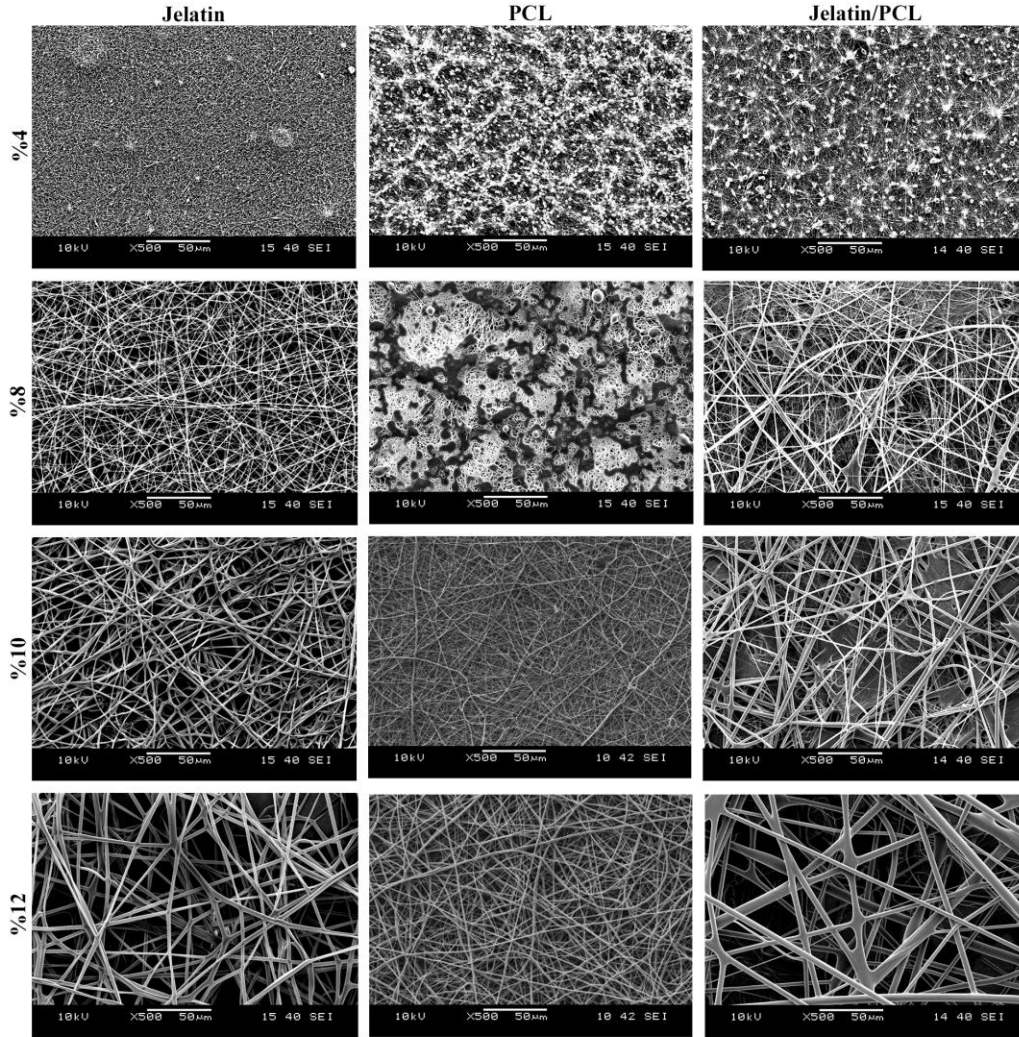


Şekil 4.2 Elektroeğirilmiş doku iskelelerinin 10x objektif büyütmesindeki fotoğrafları (Ölçek çizgileri 200µm'dir)

4.3.2. Taramalı elektron mikroskobu görüntüleri

Taramalı elektron mikroskobunda çekilen fotoğraflar ile mikro mimarinin karakteristik özellikleri gösterilmiştir (Şekil 4.3). Bu sonuçlara göre %4 oranında polimer içeren örneklerde bütünleşik bir fiber yapısına rastlanamamıştır. 5000x gibi yüksek büyütmelerde parçalanmış fiber yapısı görülse de bütünleşik bir fiber yapısına ve birbirleriyle bağlantılı gözenekliliğe sahip bir mimari görülmemiştir. Karakteristik olarak daha ziyade boncuklar gözlenmiştir. %8'lik örneklerde ise fiber yapıları oluşmaya başlamış ancak devamlılığın sağlanamadığı görülmüştür. Fiber oluşumlarının yanında çok miktarda boncuk varlığı da gözlemlenmiştir.

%10 ve %12'lik bütün örneklerde ise tam anlamıyla homojen ve sürekli bir fiber matris görülebilmektedir.



Şekil 4.3 Doku iskelelerinin SEM görüntüleri (Ölçek çizgileri 50µm'dir)

Taramalı elektron mikroskobu verilerinden de görüldüğü gibi istenen fiber yapısının elde edilemediği %4 ve %8'lik örnekler bu aşamada bırakılmıştır. Bundan sonraki tüm analiz, deneme ve testler %10 ve %12'lik örneklerle uygulanmıştır.

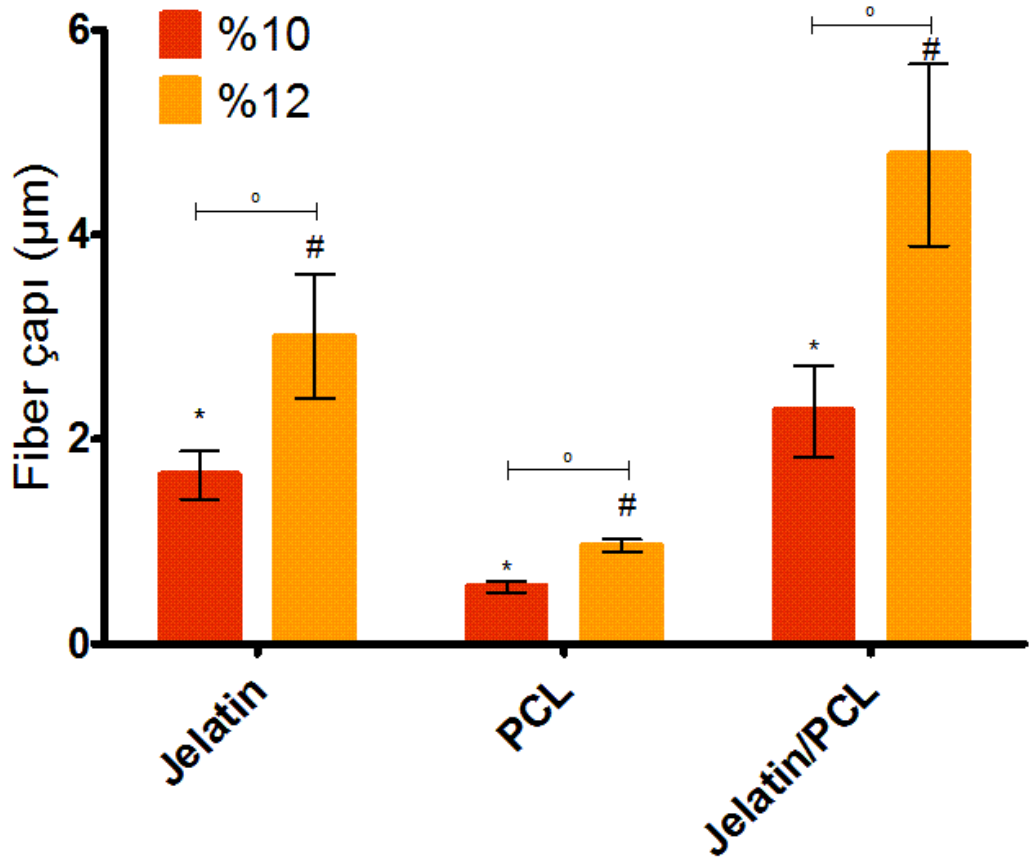
4.4. Elektroeğirilmiş İskelelerin Fiber Çapları

Elektroeğirilmiş %10 ve %12'lik jelatin, PCL ve jelatin/PCL hibrit kompozit fiberlerinin çapları ImageJ yazılımında her farklı iskele için en az 20 fiber çapı ölçülerek yapılmıştır (Çizelge 4.3). Fiber çapı sonuçlarına göre çapı

büyük olan jelatin ile çapı oldukça küçük olan PCL'nin hibritlerinde fiber çaplarında her iki polimerinkine göre artış görülmüştür (Şekil 4.4).

Çizelge 4.3 Elektroeğrilmiş Jelatin, PCL ve Jelatin/PCL biyokompozit fiber çapları (Örnek sayısı 20)

Çap (µm)	%10	%12
Jelatin	1.65 ±0.25	3.01 ±0.64
PCL	0.56 ±0.06	0.96 ±0.06
Jelatin/PCL	2.28 ±0.48	4.78 ±1.06



Şekil 4.4 Doku iskelelerinin fiber çap ortalamaları (p<0.05)

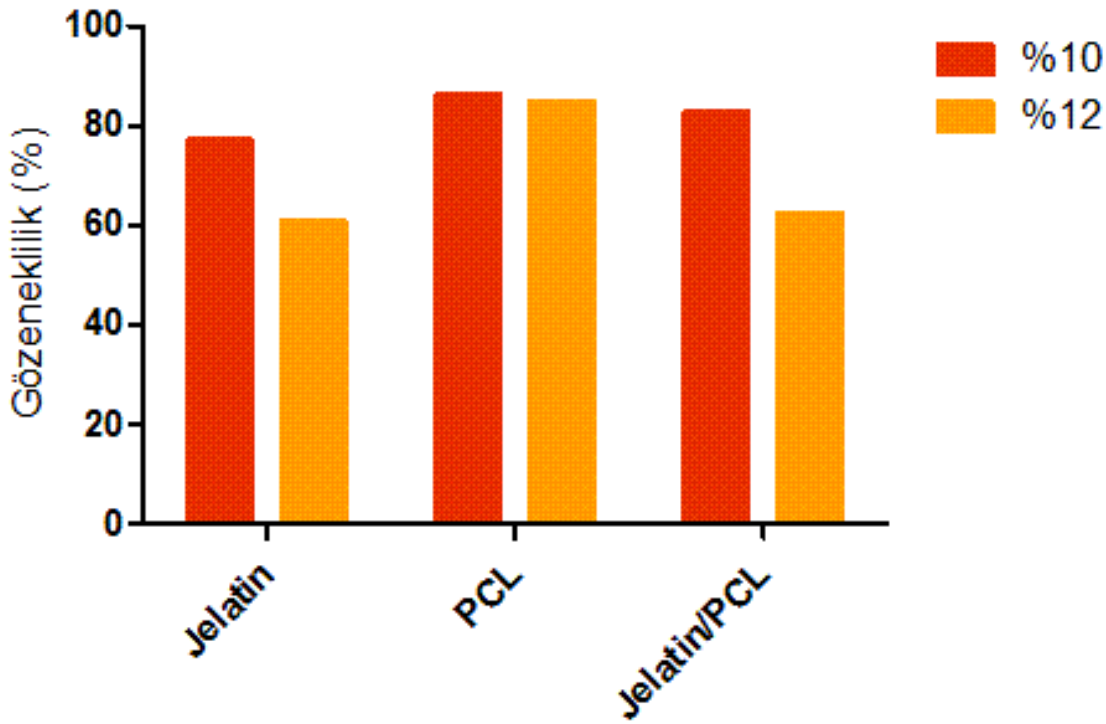
4.5. Elektroeğrilmiş İskelelerin Gözeneklilik Oranları

%10 ve %12'lik jelatin, PCL ve jelatin/PCL kompozit iskelelerinin

gözeneklilik oranları hem ImageJ yazılımı ile hem de teorik olarak ayrıca hesaplanmıştır (Çizelge 4.4). Bu hesaplama ve analiz sonucunda yazılımsal analiz ile teorik gözeneklilik hesabı verilerinin birbirlerini desteklediği görülmüştür.

Çizelge 4.4 Elektroeğrilmiş Jelatin, PCL ve Jelatin/PCL biyokompozit fiberlerin gözeneklilik oranı

Gözeneklilik(%)	%10	%10*	%12	%12*
Jelatin	77.0	83.6	60.6	62.0
PCL	86.1	88.1	84.8	88.8
Jelatin/PCL	82.8	85.6	62.4	67.5



* Teorik olarak hesaplanmış gözeneklilik oranı

Şekil 4.5 Doku iskelelerinin gözeneklilik oranları

4.6. Elektroeğrilmiş İskelelerin Su Temas Açıları

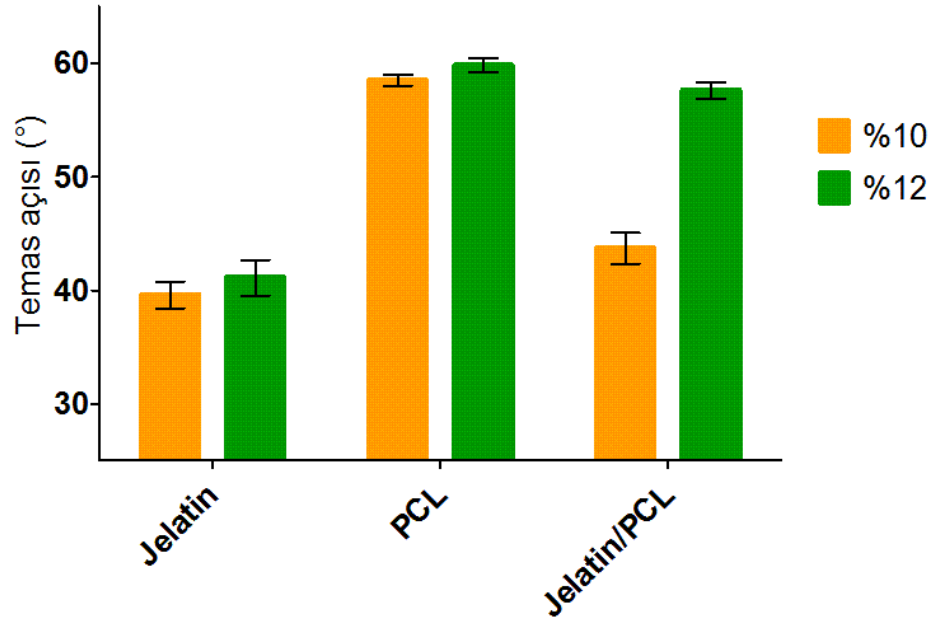
Elektroeğrilmiş doku iskelelerinin temas açıları ölçülerek hidrofilisiteleri belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Hidrofobik olan PCL doku iskelelerine jelatin ilave

edilmesinin hibrit kompozit iskelenin hidrofilisitesini artırdığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.5 Elektroeğrilmiş Jelatin, PCL ve Jelatin/PCL fiberlerinin su temas açıları

Miktar	%10	%12
Madde	Temas açısı (°)	Temas açısı (°)
Jelatin	39.6	41.1
PCL	58.5	63.1
Jelatin/PCL	43.7	57.6

Jelatin, PCL ve Jelatin/PCL fiberlerinin temas açıları

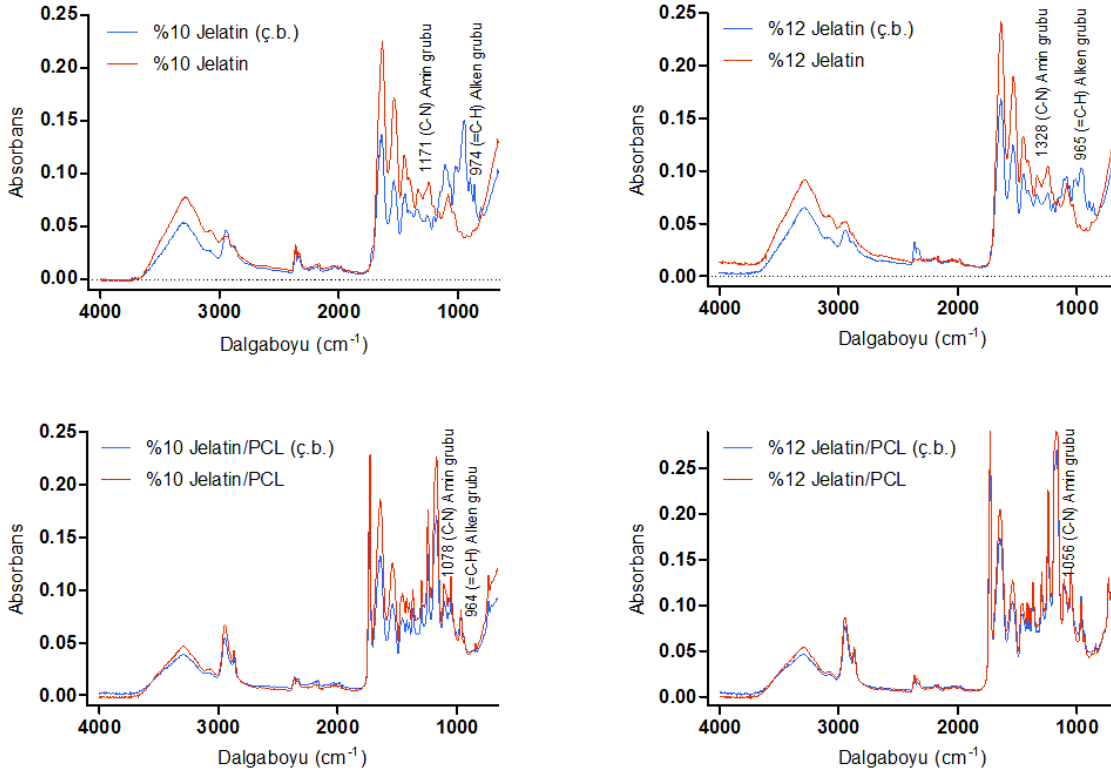


Şekil 4.6 Doku iskelelerinin su temas açıları

4.7. Jelatin İçeren İskelelerin Çapraz Bağlanması

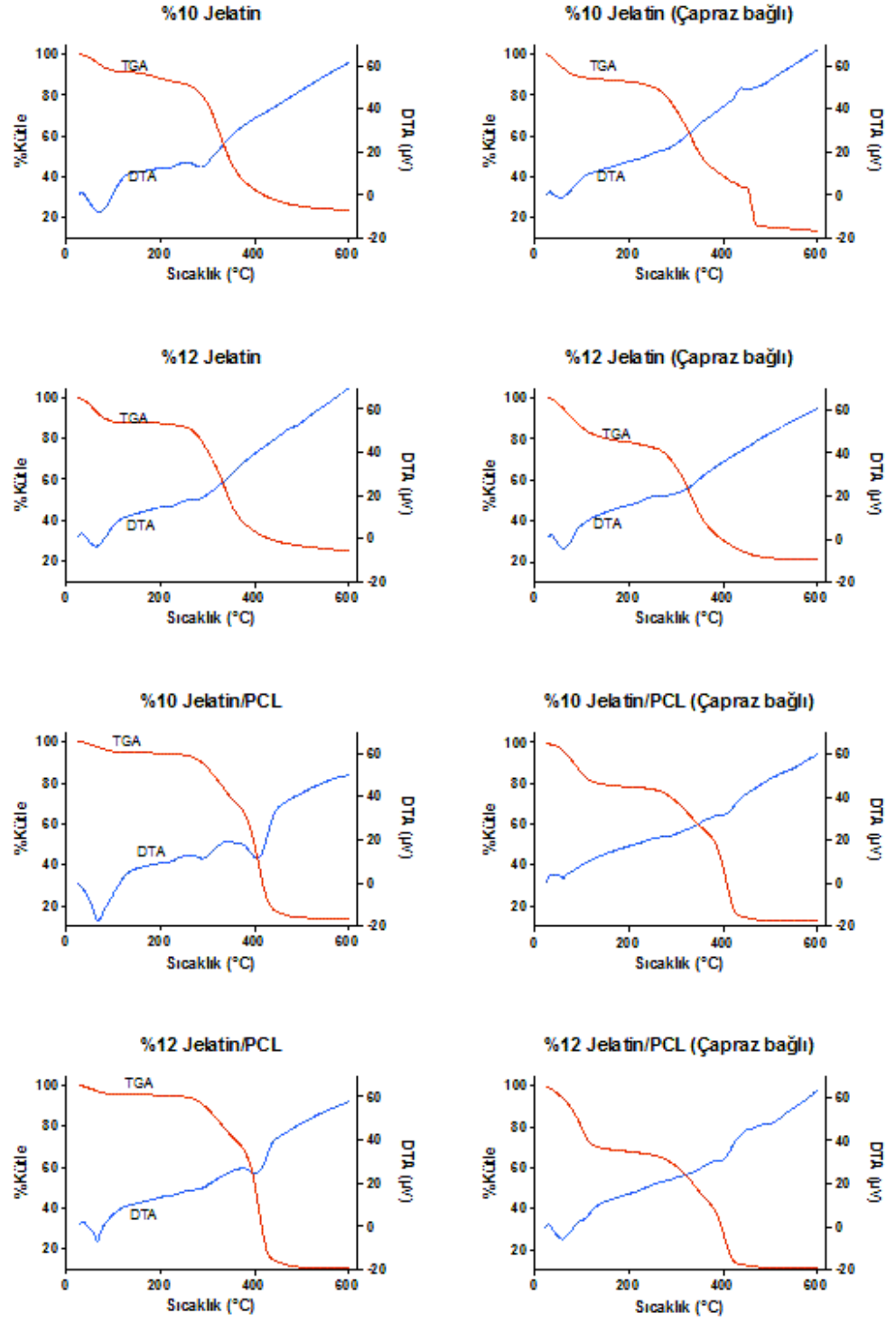
Jelatin içeren %10 ve %12 jelatin ile %10 ve %12 jelatin/PCL doku iskeleleri çapraz bağlanmıştır. Doku kültüründe, kültür ortamının %90'ına yakın oranı su olduğundan ve jelatin iskeleler suda çözüneceğinden elektroeğirmeden hemen sonraki haliyle kullanılamayacaktır. Bu yüzden bu iskeleler çapraz bağlanmıştır. Çapraz bağlanmanın varlığı Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) (Şekil 4.7), Diferansiyel Isıl-Termogravimetrik Analiz (DTA-TGA) (Şekil 4.8) analizi ile gösterilmiştir. Ayrıca bazı örneklerde çekilen

taramalı elektron mikroskopisi fotoğraflarında da morfolojik olarak çapraz bağlanmanın etkisi görülmüştür (Şekil 4.9).

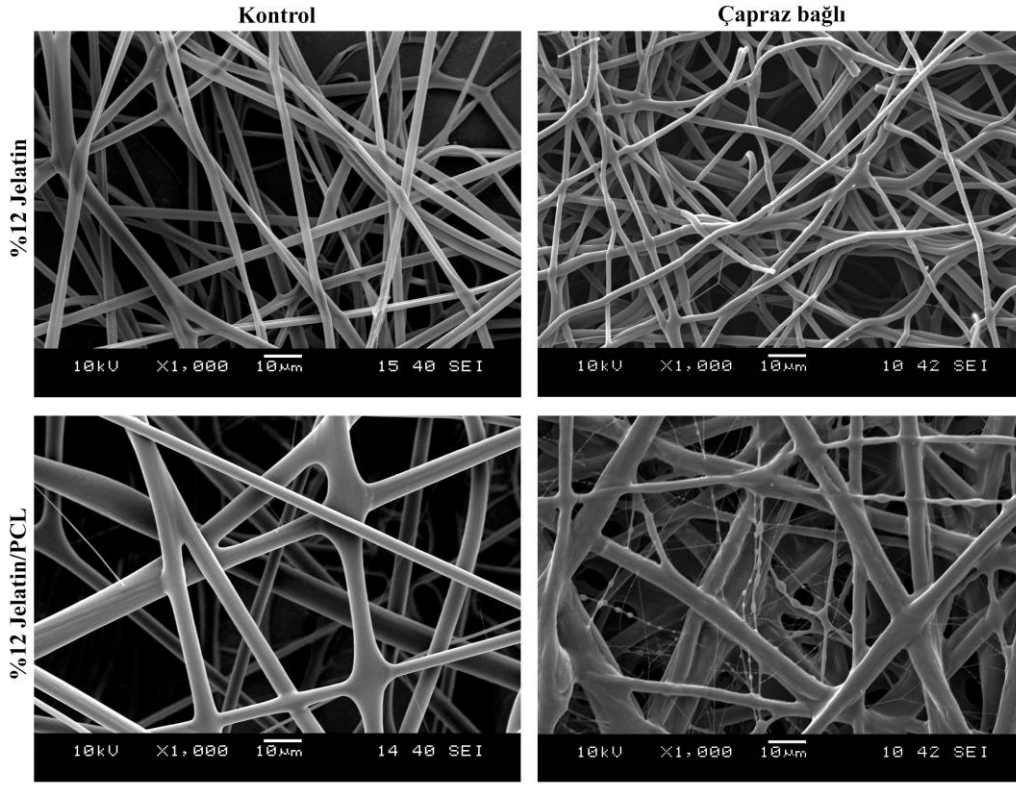


Şekil 4.7 İskelelerin FT-IR grafikleri

FT-IR sonuçlarına göre çapraz bağlama ile jelatin iskeleler üzerinde yeni bağların oluştuğu görülmüştür. Jelatinin gluterdialdehit buharı ile çapraz bağlanması sonucu amin (C-N) ve alken (=C-H) bağları oluşmuştur. TGA sonuçlarında ise çapraz bağlanan iskelelerin kütle kayıplarının arttığı görülmüştür ve bu sonuçlar da DTA ile dehidrasyon sıcaklıklarının azalışının gösterilmesiyle desteklenmiştir. SEM fotoğraflarında ise çapraz bağlanmış jelatin içeren doku iskelelerinde morfolojik değişimler gösterilmiştir. Ayrıca, jelatin içeren doku iskeleleri 37°C'deki PBS içerisine atılarak çözünüp çözünmediği de gözlenmiştir. Çapraz bağlanmanın başarılı olduğu PBS içerisinde çözünmeden kalmasıyla da anlaşılabilmektedir.



Şekil 4.8 İskelelerin DTA/TGA grafikleri



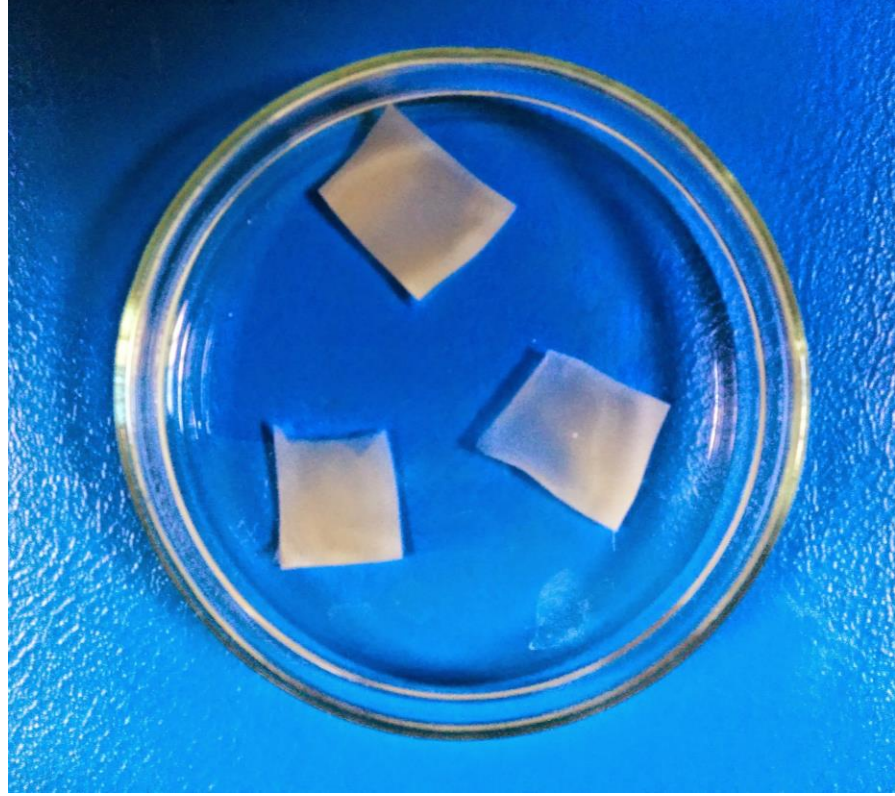
Şekil 4.9 Çapraz bağlanmış iskelelerin morfolojileri

Çizelge 4.6 Çapraz bağlanmış Jelatin ve Jelatin/PCL fiberlerin TGA analizi sonucunda kütle kayıpları

% kütle kaybı	%10		%12	
	Kontrol	Çapraz Bağlı	Kontrol	Çapraz Bağlı
Jelatin	68.4	55.3	74.8	64.8
Jelatin/PCL	82.1	71.5	84.9	68.1

Çizelge 4.7 Çapraz bağlanmış Jelatin ve Jelatin/PCL fiberlerin dehidrasyon sıcaklıkları

Td (°C)	%10		%12	
	Kontrol	Çapraz Bağlı	Kontrol	Çapraz Bağlı
Jelatin	69.9	55.3	63.0	61.2
Jelatin/PCL	67.2	60.6	66.6	58.4



Şekil 4.10 Çapraz bağlanmış jelatin içeren iskelelerin PBS içerisindeki hali

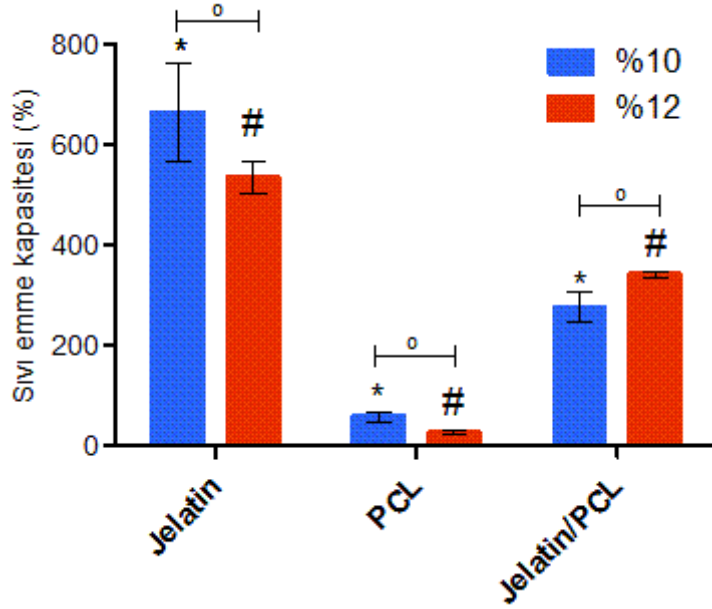
4.8. İskelelerin Sıvı Emme Kapasiteleri

Doku iskelelerinin sıvı emme kapasiteleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 Elektroeğrilmiş Jelatin, PCL ve Jelatin/PCL biyokompozit fiberlerinin sıvı emme kapasiteleri

	%10	%12
Jelatin	664.3 ± 98.9	534.1 ± 31.2
PCL	58.4 ± 9.4	26.1 ± 3.5
Jelatin/PCL	277.1 ± 29.4	340.9 ± 5.2

Jelatin, hidrofilik bir polimer olduğu için sıvı emme kapasitesi oldukça yüksektir. PCL ise jelatinin aksine hidrofobiktir ve bu özelliği hücre tutunması ve proliferasyonunu zorlaştırmaktadır. Jelatin ve PCL'den yapılan elektroeğrilmiş hibrit doku iskelelerinde ise PCL'nin düşük olan hidrofilisitesi ciddi oranda artırılmıştır. Böylelikle hücre tutunması ve proliferasyonu için olumlu olacaktır.

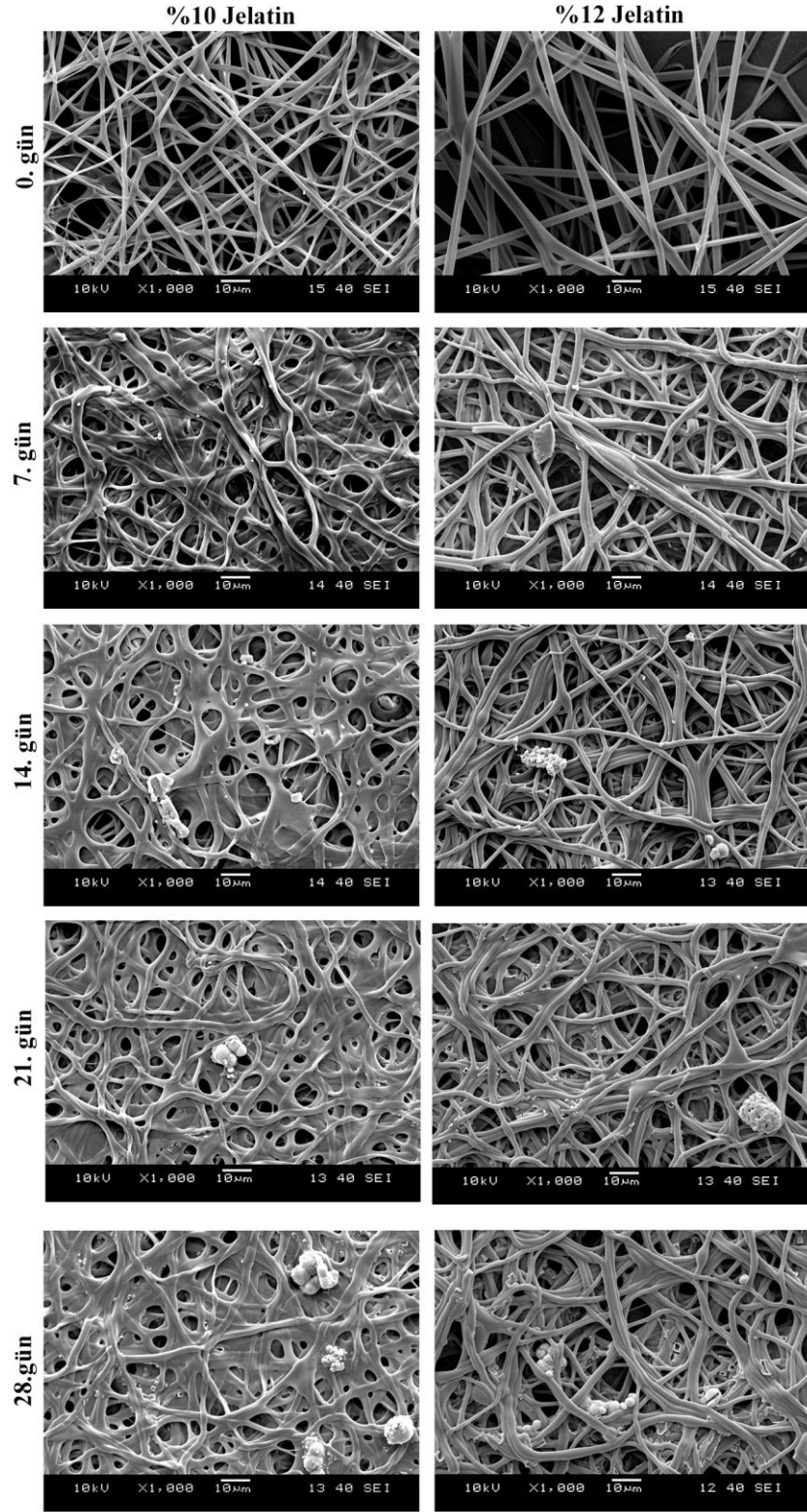


Şekil 4.11 Doku iskelelerinin sıvı emme kapasiteleri ($p < 0.05$)

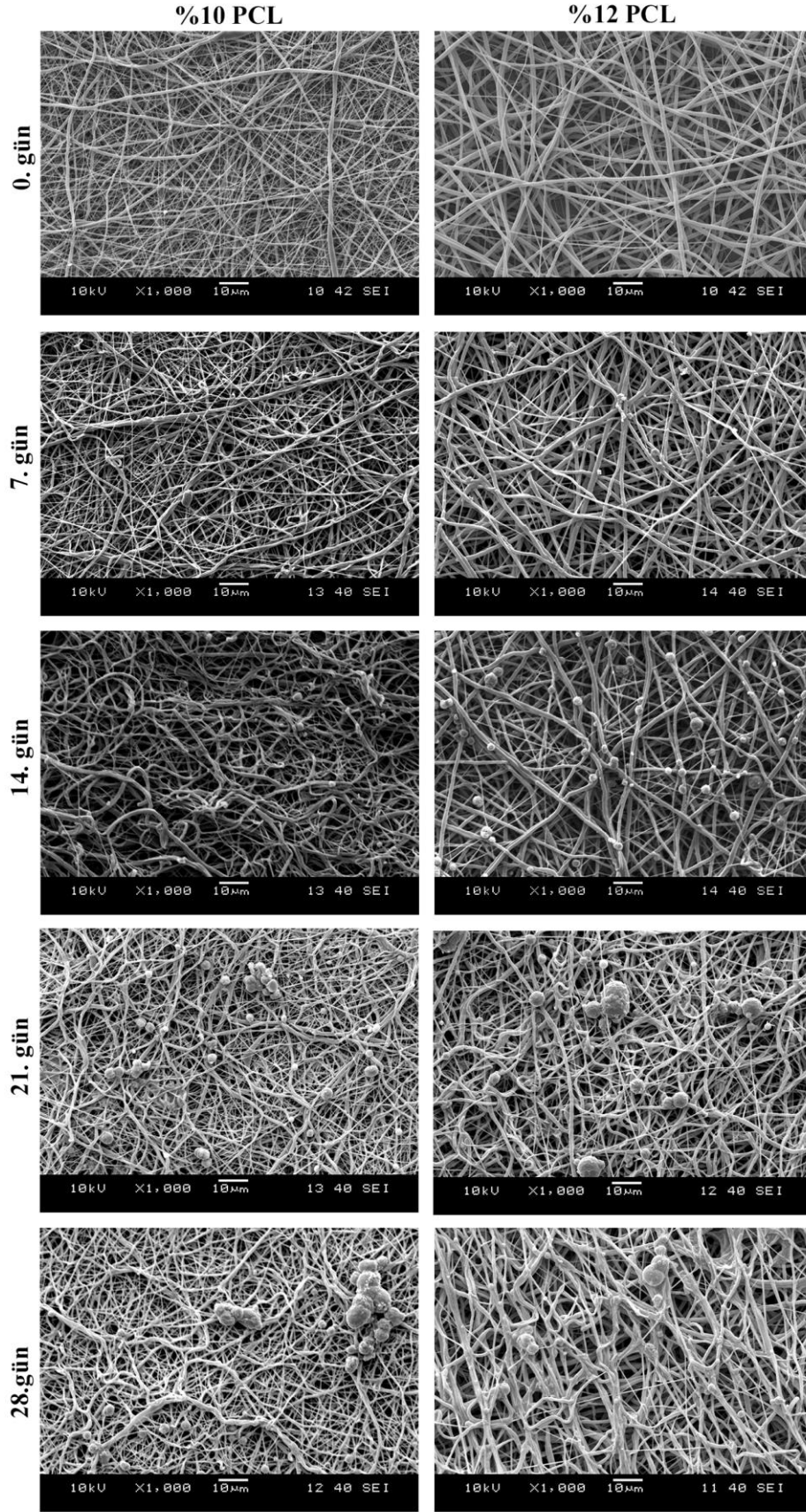
4.9. Elektroeğirilmiş İskeleler Üzerinde CaP Biyomineralizasyonu

Elektroeğirilmiş %10 ve %12'lik jelatin, PCL ve jelatin/PCL doku iskeleleri üzerinde CaP biyomineralizasyonu taramalı elektron mikroskobu (SEM), Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDS) Analizi ve X-Işını Kırınım Cihazı (XRD) ile gösterilmiştir. Her yedi günde bir tüm örneklerin SEM fotoğrafları çekilmiştir. Böylelikle zaman ile CaP biyomineralizasyonunun nasıl değiştiği görülmüştür. 28 gün sonunda ise EDS analizi ile küme oluşumlarının ve CaP biyomineralizasyonunun olup olmadığı araştırılmıştır. Aynı zamanda XRD ile de CaP biyomineralizasyonunun iskelenin kristal yapısını nasıl değiştirdiği analiz edilmiştir. SEM fotoğraflarından da görüldüğü üzere PCL doku iskeleleri üzerindeki CaP biyomineralizasyonu bölgesel olarak gerçekleşmiştir. Fiberler üzerinde herhangi bir noktaya tutunan CaP molekülleri üzerinde yeni CaP birikimleri gerçekleşerek homojen olmayan bir yapı oluşturmuşlardır. Bu düzensiz dağılım CaP moleküllerinin elektrostatik yük dengelerinden kaynaklanmış olabilir. Yeni CaP kümeleri PCL fiberleri üzerine tutunmaktan ziyade zaten biyomineralize olmuş CaP üzerine toplanarak mineral yapısını büyütmüşlerdir. Jelatin ile kompozit oluşturarak üretilen hibrit PCL fiberlerinde ise homojen bir CaP dağılımı gözlenmiştir. Jelatinin içerdiği pozitif ve negatif yüklü aminoasitler sayesinde CaP dağılımının homojen olması yanında miktar

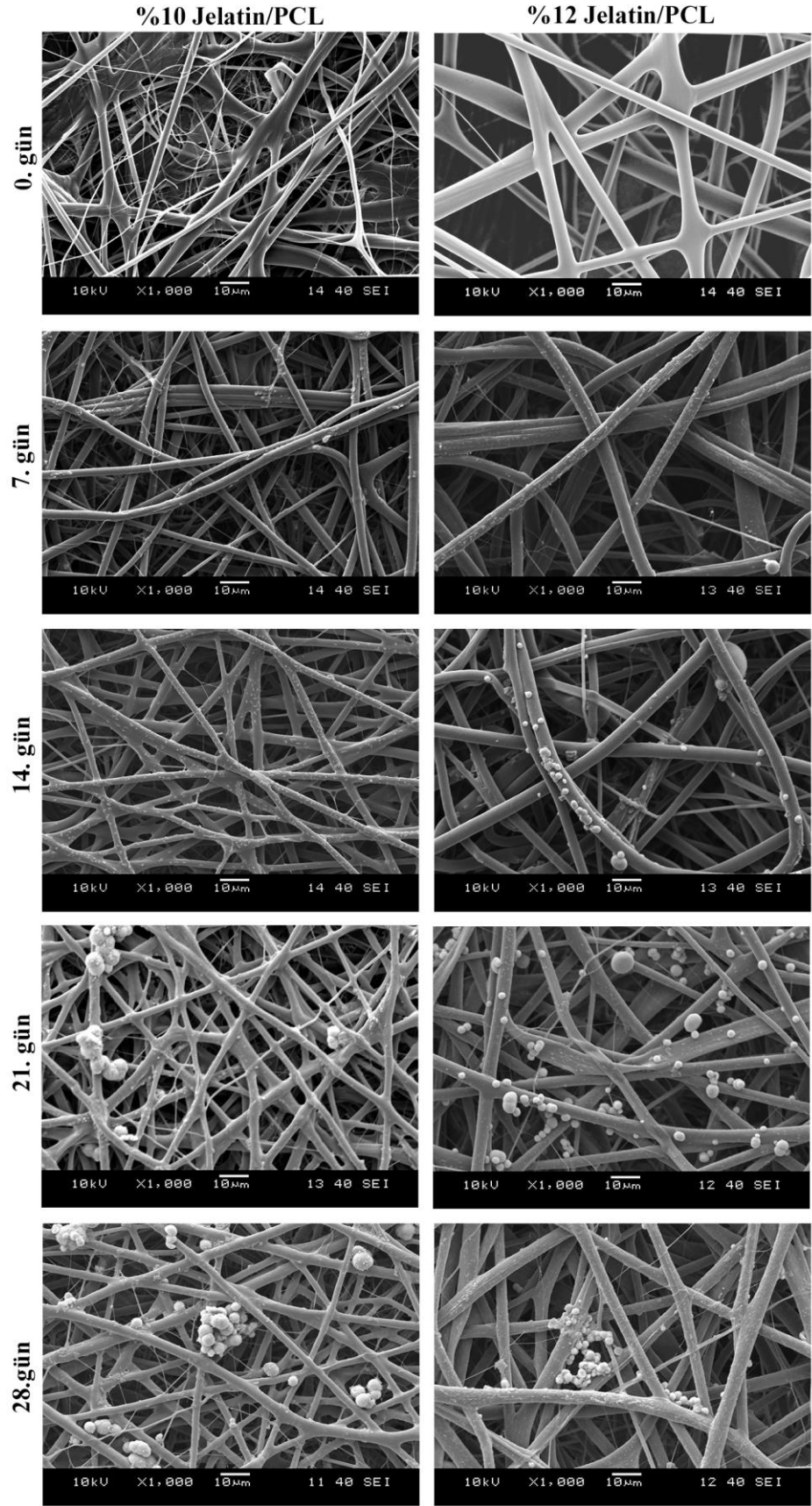
olarak da PCL fiberlerine göre daha yoğun bir CaP biyomineralizasyonu gözlenmiştir.



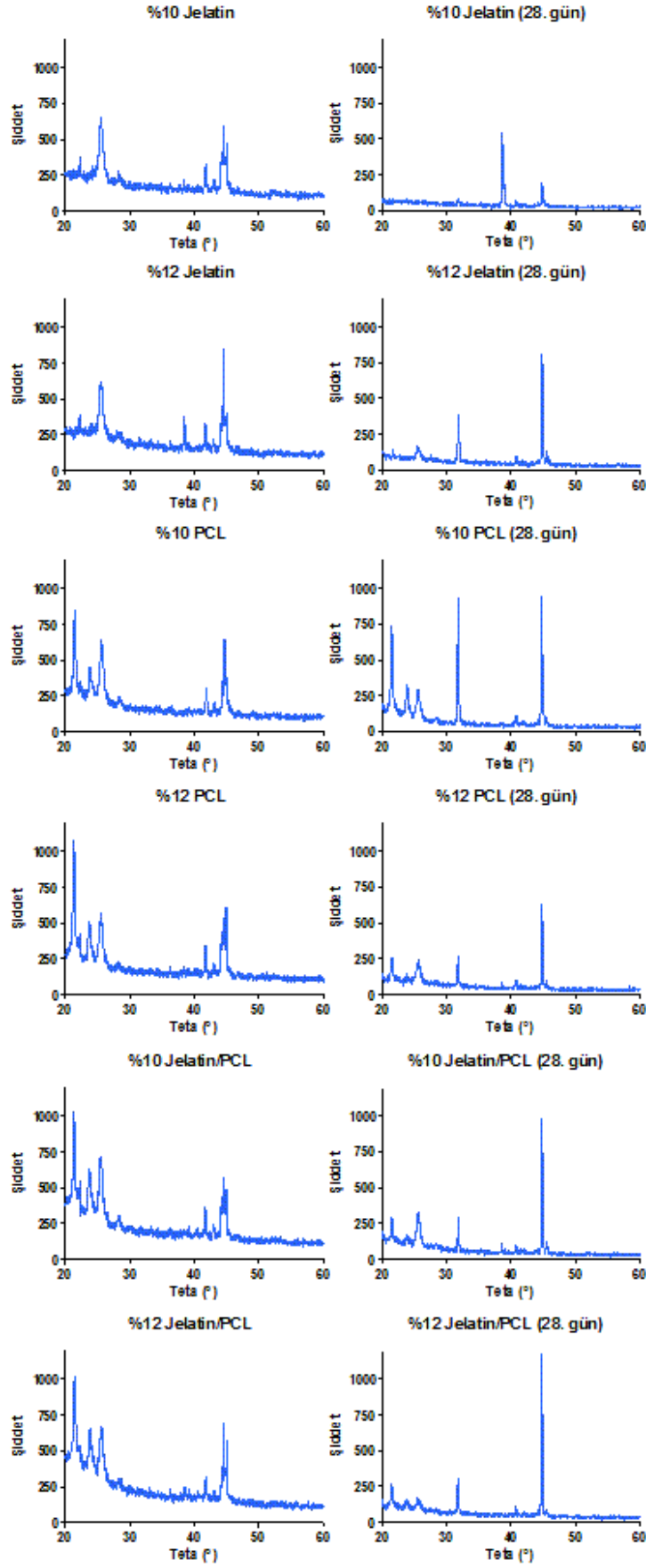
Şekil 4.12 Jelatin doku iskeleleri üzerinde CaP biyomineralizasyonu



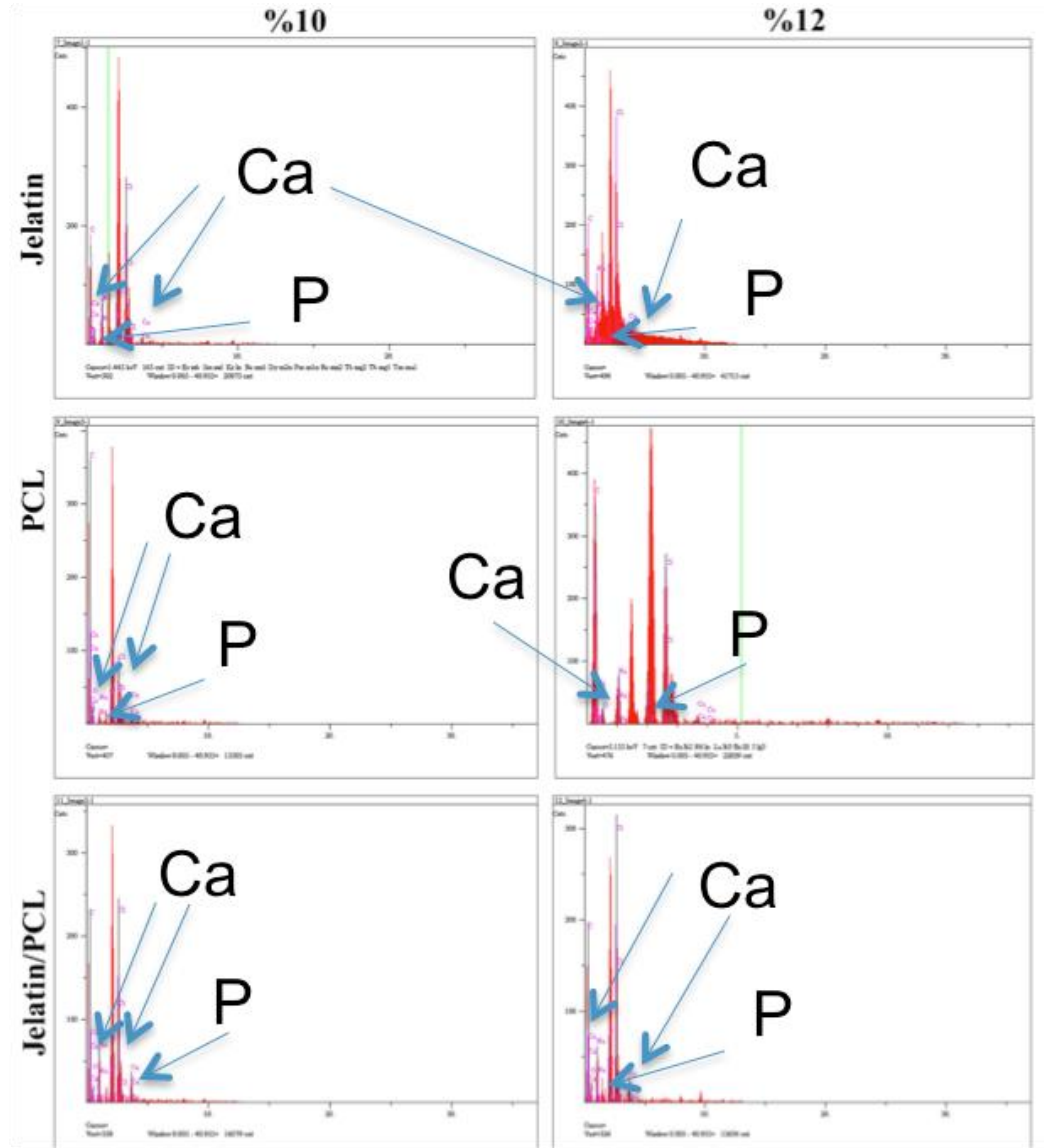
Şekil 4.13 PCL doku iskeleleri üzerinde CaP biyomineralizasyonu



Şekil 4.14 Jelatin/PCL doku iskeleleri üzerinde CaP biyomineralizasyonu



Şekil 4.15 28 gün sonunda biyomineralize olmuş doku iskelelerinin XRD analizi sonuçları

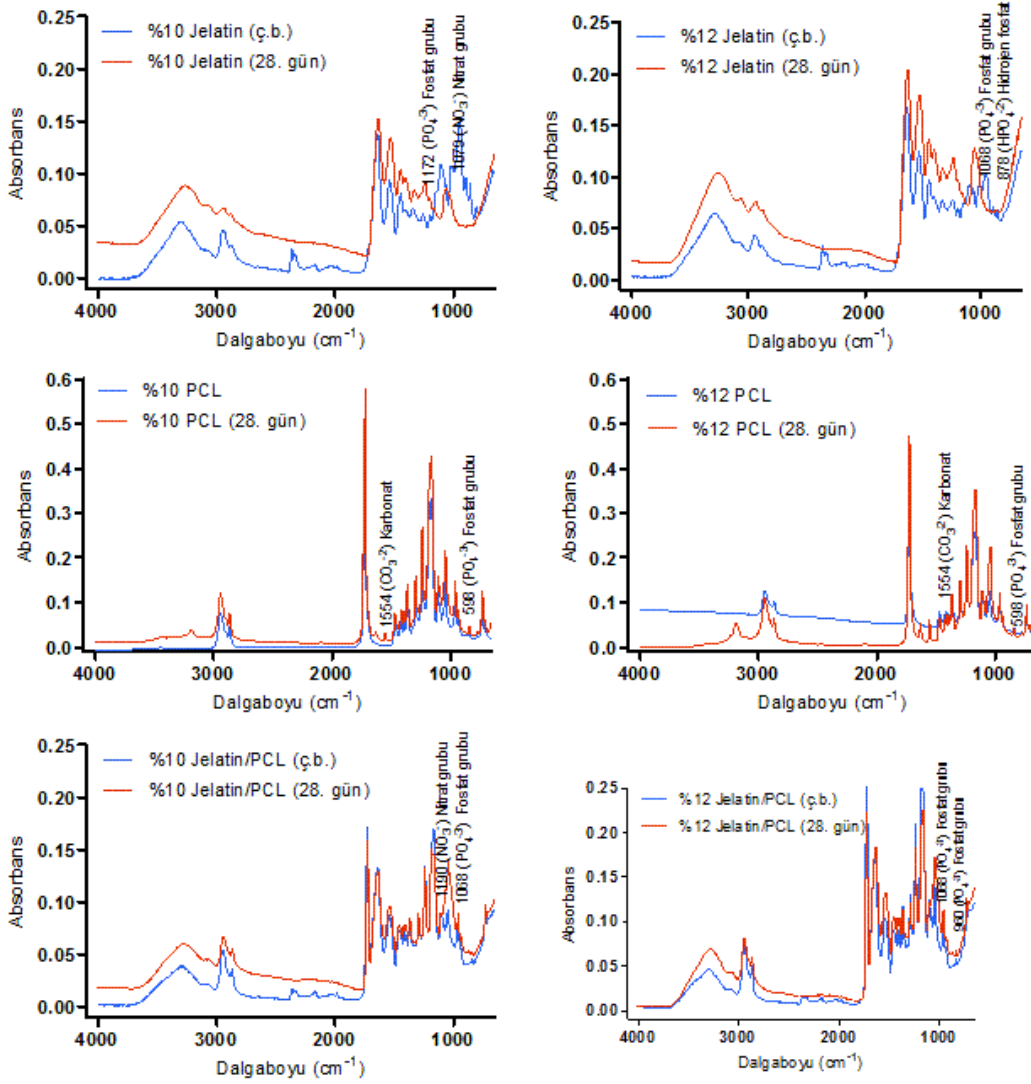


Şekil 4.16 28 gün sonunda biyomineralize olmuş doku iskelelerinin EDS analizi sonuçları

EDS sonuçlarında görüldüğü üzere SBF içerisinde inkübe edilen doku iskelelerinde kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) varlığı gösterilmiştir. Jelatin içeren örneklerin Ca ve P bağlayıcı özelliklerinin daha iyi olduğu görülmüştür. Jelatin içeren doku iskelelerinde CaP çekirdeklenmesi PCL'ye göre daha homojen bir şekilde olmuştur. Bu sonucu SEM fotoğrafları da desteklemektedir. PCL iskelelerinde düzensiz bir CaP çekirdeklenmesi görülürken jelatin içeren iskelelerde hem daha yoğun hem de düzenli bir CaP dağılımı görülmüştür.

XRD sonuçlarına göre 28 gün sonunda bütün iskelelerde 31.32° 'de bir trikalsiyum fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) piki görülmüştür. Bu sonuçlar doku iskelelerin 28 günlük inkübasyonu sonunda CaP birikmesi ile kristal yapının farklılaşmasından

kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.17 28 gün sonunda biyomineralize olmuş doku iskelelerinin FT-IR analizi sonuçları

FT-IR analizi sonuçlarında 28 gün boyunca inkübe edilen doku iskelelerinde fosfat (PO_4^{3-}) grubu varlığı (1172, 1068, 960, 878, 598) gösterilmiştir. FT-IR analizinde Ca bağı gösterilemediğinden (Berzina-Cimdina et al., 2012) yalnızca fosfat grupları gösterilmiştir.

5. TARTIŞMA

Elektroegirme sisteminde polimer çözeltilsinin elektriksel iletkenliğı önemlidir (Qin et al., 2007). Elektriksel iletkenliğın hem fiberlerin morfolojik özelliklerine hem de oluşturulan iskelenin yapısal özelliklerine etkisi vardır. Polimer çözeltilsinin elektriksel iletkenliğı arttıkça fiber çapı da artar. Aynı zamanda artan elektriksel iletkenlik boncuk oluşumunu da engeller (Uyar et al., 2008). Elektroegirme ürünlerinin kalitesi dışında elektriksel iletkenliğın hücre davranışı üzerine de etkisi vardır. Elektriksel olarak iletken polimerler üzerinde hücre davranışının etkileri literatürde gösterilmiştir. Bir çalışmada, elektriksel iletken polyester greftlerinin endotel hücre tutunması, hücre proliferasyonu ve göçünde olumlu etkiler yaptığı gösterilmiştir (Marois et al., 1999). Bir başka çalışmada, endojen (iç kaynaklı) elektriksel iletkenliğın yara dokusu üzerinde aktif hücre büyümesi ve göçünde olumlu etkiler gösterdiği belirtilmiştir (McCaig et al., 2004). Aynı şekilde iletken olan polipirol doku iskeleleri üzerindeki insan göbek bağı damar endotel (HUVEC) hücrelerinin tutunma ve yayılma davranışları iletken olmayan polipirol doku iskelelerine göre daha fazla olduğu belirtilmiştir (J. W. Lee et al., 2006). Bu tez çalışması kapsamında elektriksel iletkenliğı zayıf olan PCL doku iskelesine jelatin eklenerek hem PCL'nin mekanik özelliklerinden hem de jelatinin hücre davranışı üzerine etkili olacak hidrofilisitesi ve elektriksel iletkenliğinden yararlanılmıştır. Yüksek elektriksel iletkenliğe sahip jelatin fiberleri düşük elektriksel iletkenliğe sahip PCL polimeri ile karışım haline getirilmiştir. Bu karışımdan elde edilen hibrit jelatin/PCL biyokompozit doku iskelelerinde de elektriksel iletkenlik artmıştır. Aynı zamanda elektriksel iletkenliğın yüksek olması ile düzgün fiber morfolojisi elde edilmiştir.

Elektroegirilmiş doku iskelelerinde fiber morfolojisi önemli bir parametredir. Fiberlerin çapları, gözeneklilik oranları, hidrofilisiteyi doku kültürü için önem taşımaktadır. Doğrusal ve paralel dizilmiş 0.5-2 µm çapındaki polimerler hücre düzenlenişini ve temasını yönlendirerek osteoblastik farklılaşmayı gösteren fenotipik belirteçleri artırmaktadır. Düz yüzeylere göre yaklaşık 2 µm çapa sahip elektroegirilmiş fiberler üzerinde hücre tutunmasının daha yoğun olduğu gösterilmiştir (Badami et al., 2006). Fiber yapısının hücre tutunması için özellikle ortopedik ya da dental alanlarda kullanımı için umut vaat

edici olduğu bildirilmiştir (J. H. Lee et al., 2014; Long et al., 2014; Wu et al., 2014). Ek olarak daha büyük çaplara sahip fiberlerin fibroblast, kondrosit ya da düz kas hücrelerinin tutunması için daha uygun olduğu da rapor edilmiştir (Price et al., 2003). Bir başka çalışmada ~15 µm çapındaki elektroeğirilmiş ipek fiberleri üzerinde kemik iliği kök hücrelerinin (KİKH) tutunması ve proliferasyonunun arttığı SEM ve hücre canlılığı testi (MTT) ile gösterilmiştir (Jin, 2004). Benzer bir şekilde pre-osteoblastik hücre hatları kullanılarak yapılan elektroeğirilmiş doku iskeleleri kültürlerinde çapın nano ölçekten mikro ölçeğe geçtikçe hücre tutunması ve proliferasyonunu artırdığı bildirilmiştir (Luu et al., 2003). Fiber iskele yapısının sinir hücrelerinin proliferasyonuna (Q. Li et al., 2012; Wang et al., 2011), nörit uzamasına (Prabhakaran et al., 2013; J. Zhang et al., 2014), MKH'lerin nöronal farklılaşmalarına (Çoğan, 2012) ve insan keratinositlerinin canlılık ve proliferasyonuna olumlu etkileri (Zeybek et al., 2014) de daha önce gösterilmiştir. Doğada insan organları nanofiberlerden oluşan hücre dışı matristen oluşur (Song et al., 2011). Doğal HDM mimarisini taklit ederek yüksek yüzey alanı hacim oranına sahip yapılarda yüksek hücre tutunması görülmektedir (J. H. Lee et al., 2014; Long et al., 2014; Wu et al., 2014). Yüzey algılama, hücrelerin gelişme ve iyileşme süreçleri boyunca çevreleri ile etkileşim kurmasını sağlayan temel mekanizmalardan birisidir ve bu nedenle biyomalzeme yaklaşımları için iyice araştırılmalıdır. Filopodları ile hareket edebilen herhangi bir fiber hücrede kütleli maddelere ya da fiber yapıda olmayan ağlara göre farklı bir mekanik algı mekanizmasını uyaracaktır (B. Li et al., 2013). Bu olay birçok biyomedikal uygulaması için önemlidir çünkü fiziksel ya da enzimatik olarak parçalanmış HDM fiberleri yara bölgelerinde ve patolojik bölgelerde bulunurken sağlıklı dokularda birbiriyle bağlantılı HDM fiber ağı baskındır. Üretilen elektroeğirilmiş jelatin/PCL hibrit doku iskelelerinin literatürdeki verilerle karşılaştırıldığında CaP biyomineralizasyonu ile birlikte KİKH'lerinin tutunması ve proliferasyonu ile farklılaşmasına olumlu etkiler yapması beklenmektedir.

Gözenek yapısı doku mühendisliği iskelelerinin geliştirilmesi konusunda düşünülmesi gereken önemli bir özelliktir. Gözenekler, hücre büyümesi, göçü ve besin akışının sağlanabilmesi için birbirleriyle bağlantılı olmalıdır. Gözenek boyutu çok küçük olursa hücre göçü kısıtlanır ve doku iskelesinin çevresinde hücrel bir kapsül oluşur (C. M. Murphy et al., 2010). Bu yapı ise besin

maddelerinin difüzyonunu ve atıkların uzaklaştırılmamasına ve sonucunda da nekrotik bölgelerin oluşmasına neden olur. Aksine, gözenek boyutları çok büyük olursa hücre tutunmasını sağlayan yüzey alanı azalmış olur. Yapılan bir çalışmada yüksek gözenekliliğe sahip 3B nanofibröz fibroin doku iskelesi üretilmiş ve kemik rejenerasyonundaki etkinliği araştırılmıştır. Hücre canlılığı testleri (MTT) yüksek gözenekliliğe sahip 3B doku iskelesinin 2B doku iskelesine göre canlılığı arttığını göstermiştir (Ki et al., 2008). Bu tez çalışmasında üretilen doku iskeleleri de yüksek gözenekliliğe sahiptir. Jelatin doku iskelelerinin düşük gözeneklilik oranları PCL ile karıştırılarak üretilen doku iskelelerinde artırılmıştır. Bu nedenle üretilen doku iskeleleri kemik defektleri için kullanılabilecek bir aday olmaktadır. Ancak çözelti konsantrasyonu arttıkça artan fiber çapı %12'lik jelatin/PCL doku iskelelerinde gözeneklilik oranının düşmesine neden olmuştur. Ayrıca %12'lik jelatin/PCL doku iskelelerinde örümcek ağı adı verilen yapılar da görülmeye başlanmıştır (Şekil 4.10). Bu durum olağandır çünkü %12 jelatin/PCL solüsyonu aslında %12 jelatin ve %12 PCL içermektedir. Yani toplamda %24'lük bir polimer konsantrasyonu söz konusudur. Polimer konsantrasyonunun arttıkça örümcek ağı yapısı oluşturduğu daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Gautam et al., 2013; Kidoaki et al., 2005).

Doku iskelelerinin temas açıları ölçümü sonucunda anlamlı veriler elde edilmiştir. Beklenildiği üzere jelatin iskeleler hidrofilik özelliğinden dolayı PCL'ye göre daha çok ıslanabilirlik göstermiştir. Bu sonuç, önceki çalışmalarla uyum göstermektedir (Y. Zhang et al., 2005). Ancak Zhang ve ark. (2005) yaptıkları bir çalışmada jelatin/PCL iskeleleri üzerine su damlattıklarında damlanın iskele tarafından hemen emildiğini görmüşlerdir. Bu çalışmada ise jelatin/PCL doku iskeleleri üzerindeki su damlası tamamen emilmemiş ve beklenildiği üzere jelatin ve PCL polimerlerinin arasında bir temas açısına sahip olmuştur. Bu sonuçlar, PCL'nin hücre tutunması ve proliferasyonunda olumsuz bir özelliği olan düşük hidrofilitesini artırarak doku iskelesi olarak kullanılabilişliğini artırdığını göstermektedir. Fiber yapılar üzerinde su temas açısı ölçümü fiber çapı, gözeneklilik ve polimer konsantrasyonuna bağlı olarak değişiklikler göstermektedir.

Kollajen ve jelatin kullanılarak doku mühendisliği iskelesi yapılmak

istendiğinde çapraz bağlanma gerekmektedir. Sıvı ortamlarda çapraz bağlanmayan jelatin ve kollajen iskeleler çözüneceğinden uzun süreli uygulamalarda kullanılamayacaktır (Sisson et al., 2009). Çapraz bağlama, ultraviyole muamelesi (254nm), dehidrotermal yöntem (Weadock et al., 1995), gluteraldehit, genipin (Sisson et al., 2009) gibi ajanlar kullanılarak yapılabilmektedir. 254nm ultraviyole ışınması altında kollajen fiberlerinin çapraz bağlanması gerçekleştirilmiştir (Weadock et al., 1995). Bir başka çalışmada jelatin filmi gluteraldehit çözeltisi içerisine bırakılmış ve çapraz bağlanmıştır (L. J. Yang et al., 2005). Bazı çalışmalarda ise gluteraldehit çözeltisi doğrudan jelatin çözeltisine karıştırılmış ve karışım halinde elektroegirilmiştir. Ancak bu şekilde üretilen jelatin fiberlerinin morfolojileri elektroegirme sonrasında yapılan gluteraldehit buharı muamelesine göre farklılık göstermektedir (Nguyen et al., 2010). Bu tez çalışması kapsamında da 254nm ultraviyole ışını altında 3sa bekletilerek jelatin içeren doku iskelelerinin çapraz bağlanması denendi. 3sa sonunda iskeleler 37°C'deki PBS içerisine atıldı ancak literatürdeki verilerin aksine iskelelerin kısa sürede çözündüğü görülmüştür. Daha sonra Yang ve ark. (2005) bildirdiği şekilde doku iskeleleri %0 ila 2 gluteraldehit içeren PBS içerisine atıldı. Ancak yine aynı şekilde iskelelerin PBS içerisinde çözündüğü gözlemlendi. Son bir deneme olarak, doku iskeleleri gluteraldehit buharına bırakılmıştır. 24sa sonunda gluteraldehit buharına maruz bırakılan doku iskeleleri havalandırılmış ve PBS içerisine atılmış ve çözünmediği görülmüştür. Zhang ve ark. (2006) da bildirdiği gibi gluteraldehit buharına bırakılan fiber doku iskeleleri başarılı bir şekilde çapraz bağlanmıştır (Y. Z. Zhang et al., 2006). Ayrıca çapraz bağlanmanın varlığı FT-IR spektroskopisi ile de gösterilmiştir. Çapraz bağlanmış ve bağlanmamış doku iskeleleri bağları arasında farklılık olması gereklidir. Çapraz bağlanma reaksiyonu gluteraldehit üzerindeki karboksil grupları ile jelatin üzerindeki aldimin (CH=N) grupları arasında gerçekleşmektedir (Sisson et al., 2009). FT-IR sonuçlarına göre de tüm doku iskelelerinde çapraz bağlanma sonucu aldimin grupları (1171, 1328, 1078, 1056 cm^{-1}) oluştuğu görülmüştür. Ayrıca DTA analizi ile çapraz bağlanmış iskelelerin dehidrasyon sıcaklıklarının düşmesi de beklenen bir sonuçtur. Çapraz bağlanan doku iskeleleri oldukça kuru bir yapıya sahiptir ve nem tutmazlar. Bu yüzden dehidrasyon evresi daha az görülmektedir. Çapraz bağlanmanın dehidrasyon sıcaklığını azalttığı kollajen fiberleri üzerinde gösterilmiştir (Bailey, 1967; Yunoki et al., 2003).

Kemik hücre dışı matrisinin temel bileşenlerinden birisi olan hidroksiapatit kemik rejenerasyonunda eşsiz etkilere sahiptir. Hidroksiapatit yüksek osteokondüktivite (Hench, 1991), hücre tutunması (Rizzi et al., 2001), ve protein absorpsiyonunda (Tiselius et al., 1956) olumlu sonuçlar göstermektedir. Ancak CaP tek başına yeterli mekanik özellikleri gösteremediğinden birçok uygulamada kullanılamamaktadır (Y. Chen et al., 2005). Bu yüzden sıklıkla başka bir doku iskelesi ile kompozit halde kullanılmaktadır (Abdal-hay et al., 2013; Suslu et al., 2014; Zhou et al., 2014). PCL polimeri hidrofobiktir ve zayıf hücre tutunması özelliği gösterir. Bu yüzden CaP gibi minerallerle kompozit oluşturulduğunda bu özellikleri iyileşmektedir. Ayrıca polimer doku iskelelerinde CaP varlığının osteoblast proliferasyonunu da artırdığı bilinmektedir (Hassan et al., 2014a). Örneğin, Hassan ve ark. (2014) PCL fiberlerine CaP eklemiş ve CaP içermeyen fiberlere göre su emme kapasitesi, ıslanabilirlik ve hidrofilisite açısından daha iyi özelliklere sahip olduğunu göstermişlerdir (Hassan et al., 2014b). Dışarıdan eklemek yerine bu tez çalışmasında kullanılan biyomineralizasyon yöntemiyle polimer iskeleler üzerine CaP mineralizasyonu ise son yıllarda tercih edilen bir hibrit üretim yöntemidir (Berzina-Cimdina et al., 2012; Boskey, 1998; LeGeros, 2008; Raucci et al., 2010; Zhou et al., 2014). CaP'nin kök hücrelerini osteoblastlara farklılaştırmada rol oynadığı bilinmektedir. PCL polimeri ile jelatin polimerinin hibrit fiber halde kullanılması ise hem PCL'nin düşük olan hidrofilisitesini artırmıştır hem de SEM görüntülerinde açıkça görüldüğü üzere homojen bir CaP biyomineralizasyonu dağılımına neden olmuştur. Bu durum, jelatin içerisinde yer alan negatif ve pozitif yüklü aminoasitlerin varlığından kaynaklanmaktadır (Cai et al., 2011).

6. ÖNERİLER

Çapraz bağlanmanın jelatin ve kollajen gibi hidrofilik biyopolimerlerden yapılan doku iskelelerinde olmazsa olmaz bir süreç olduğu bilinmektedir. Bu çalışma kapsamında çeşitli çapraz bağlama yöntemleri denenmiş ancak yalnızca gluteraldehit buharı muamelesinde başarı elde edilmiştir. Her ne kadar doku iskeleleri gluteraldehit buharı muamelesinden sonra havalandırılrsa da yine de iz miktarlarda gluteraldehit molekülünün doku iskelesi üzerinde kalabilme olasılığı vardır. Gluteraldehitin de hücrelere toksik etki gösterdiği bilinmektedir. Bu yüzden gluteraldehit çapraz bağlaması gibi kimyasal yöntemler yerine dehidrotermal ve UV muamelesi gibi **fiziksel yöntemler denenerek minimum toksisiteye sahip olabilecek çapraz bağlama yöntemleri denenmelidir.**

Literatürdeki verilere göre fiber çapı kemik dokusu oluşumu için önemli bir parametredir. Daha büyük fiber çaplarının kemik rejenerasyonunu hızlandığı bilinmektedir. Bu veriler ile karşılaştığında üretilen **jelatin/PCL doku iskelelerinin fiber çaplarının osteokondüktiviteye olan etkisi** araştırılmalıdır. Her ne kadar fiber çapı büyüklüğünün osteokondüktiviteyi artırdığı bilirse de doku iskelelerinin fiber çaplarının büyüklüğü gözeneklilik oranını istatistiksel olarak azaltmıştır ($p < 0.05$). Yine literatür verilerine göre gözenekliliğin %94'ten büyük olduğu durumlarda kemik hücrelerinin tutunması ve proliferasyonunun arttığı bilinmektedir. Bu nedenle, jelatin/PCL doku iskelelerinin elektroçirilme parametreleri gözden geçirilerek **gözenekliliğin artırılması** üzerine çalışılmalıdır.

CaP biyomineralizasyonunun kemik hücresi tutunması ve proliferasyonuna olan olumlu etkisi literatürde bildirilmiştir. Ancak 28 gün SBF içerisinde inkübe edilmiş **doku iskelelerinin osteoindüktivitesi** hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak **araştırılmalıdır.** Ayrıca CaP biyomineralizasyonunun optimum süresi belirlenmeli, **kemik hücre tutunması ve proliferasyonuna olan etkisinin optimum olduğu süre araştırılmalıdır.** Bu iskeleler üzerinde KİMKH olgun kemik hücrelerine farklılaşma profilleri de incelenmelidir. Hücresel sinyal iletiminin doku iskelelerinin elektriksel iletkenliğinden etkilendiği bilinmektedir. PCL çözeltisinin elektriksel iletkenliği jelatin eklenmesi ile artırılmıştır ancak elektroçirilmiş **fiberlerin elektriksel iletkenlik dağılımları da araştırılmalıdır.**

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdal-hay, A., Tijing, L. D., and Lim, J. K.** (2013). Characterization of the surface biocompatibility of an electrospun nylon 6/CaP nanofiber scaffold using osteoblasts. *Chemical Engineering Journal*, 215-216pp, 57-64. doi: 10.1016/j.cej.2012.10.046
- Agrawal, C. M., Athanasiou, K. A., and Heckman, J. D.** (1997). *Mater. Sci. Forum*, 250, 115p.
- Arayanakul, K., Choktaweessap, N., Aht-Ong, D., Meechaisue, C., and Supaphol, P.** (2006). Effects of poly(ethylene glycol), inorganic salt, sodium dodecyl sulfate, and solvent system on electrospinning of poly(ethylene oxide). *Macromoleculars Materials and Engineering*, 291, 581-591pp.
- Arnesen, J. A., and Gildberg, A.** (2002). Preparation and characterization of gelatin from the skin of harp seal. *Biosource Technology*, 82(191-194pp).
- Babin, J., Taton, D., Brinkman, M., Lecommandoux, S.** (2008). Synthesis and self-assembly in bulk of linear and mikto-arm star block copolymers based on polystyrene and poly(glutmaic acid). *Macromolecules*, 41, 1384-1392pp.
- Badami, A. S., Kreke, M. R., Thompson, M. S., Riffle, J. S., and Goldstein, A. S.** (2006). Effect of fiber diameter on spreading, proliferation, and differentiation of osteoblastic cells on electrospun poly(lactic acid) substrates. *Biomaterials*, 27(4), 596-606pp.
- Bailey, A. J.** (1967). Irradiation induced changes in the denaturation temperature and intermolecular cross-linking of tropocollagen. *Radiation Res*, 31, 206-214pp.
- Barnes, C. P., Sell, S. A., Boland, E. D., Simpson, D. G., and Bowlin, G. L.** (2007). Nanofiber technology: designing the next generation of tissue engineering scaffolds. *Adv Drug Deliv Rev*, 59(14), 1413-1433pp. doi: 10.1016/j.addr.2007.04.022
- Barron, V., Lyons, E., McHugh, P. E., Pandit, A., and Stenson-Cox, C.** (2003a). Bioreactors for cardiovascular cell and tissue growth: a review. *Annals of Biomedical Engineering*, 31(9), 1017-1030pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Barron, V., and Pandit, A.** (2003b). Combinational Approaches in Tissue Engineering: Progenitor Cells, Scaffolds, and Growth Factors. In N. Ashammakhi and P. Ferretti (Eds.), *Topics in Tissue Engineering* (p. 1): University of Oulu.
- Basu, P., Sharan, B. S., Kumar, U. N., and Manjubala, I.** (2014). Polymer ceramic composite for bone regeneration application. *International Journal of ChemTech Research*, 6(8), 4038-4041pp.
- Beachley, V., and Wen, X.** (2009). Effects of electrospinning parameters on the nanofiber diameter and lenght. *Material Science Engineering C*, 29, 663-668pp.
- Beachley, V., and Wen, X.** (2010). Polymer nanofibrous structures: Fabrication, biofunctionalization, and cell interactions. *Progress in polymer science*, 35, 868-892pp.
- Berndt, P., Fields, G., and Tirrell, M.** (1995). Synthetic lipidation of peptides and amino acids: monolayer structure and properties. *J Am Chem Soc*, 117, 9515-9520pp.
- Bertazzo, S., and Bertran, C. A.** (2006a). Morphological and Dimensional Characteristics of Bone Mineral Crystals. *Key Engineering Materials*, 3, 309-311pp.
- Bertazzo, S., Bertran, C. A., and Camilli, J. A.** (2006b). Morphological Characterization of Femur and Parietal Bone Mineral of Rats at Different Ages. *Key Engineering Materials*, 11(309-311pp).
- Berzina-Cimdina, L., and Borodajenka, N.** (2012). Research of Calcium Phosphates Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In T. Theophile (Ed.), *Infrared Spectroscopy - Materials Science, Engineering and Technology*
- Bhardwaj, N., and Kundu, S. C.** (2010). Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnol Adv*, 28(3), 325-347pp. doi: 10.1016/j.biotechadv.2010.01.004
- Billiet, T., Vandenhaute, M., Schelfhout, J., Van Vlierberghe, S., and Dubruel, P.** (2012). A review of trends and limitations in hydrogel-rapid

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- prototyping for tissue engineering. *Biomaterials*, 33(26), 6020-6041pp. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.04.050
- Boland, E. D., J.A., M., Pawlowski, K. J., Simpson, D. G., Wnek, G. E., and Bowlin, G. L.** (2004). Electrospinning collagen and elastin: preliminary vascular tissue engineering. *Frontiers in Bioscience*, 9, 1422-1432pp.
- Bose, S., Roy, M., and Bandyopadhyay, A.** (2012a). Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Trends Biotechnol*, 30(10), 546-554pp. doi: 10.1016/j.tibtech.2012.07.005
- Bose, S., and Tarafder, S.** (2012b). Calcium phosphate ceramic systems in growth factor and drug delivery for bone tissue engineering: a review. *Acta Biomater*, 8(4), 1401-1421pp. doi: 10.1016/j.actbio.2011.11.017
- Boskey, A. L.** (1998). Biomineralization: conflicts, challenges, and opportunities. *Journal of cellular biochemistry. Supplement*, 30-31, 83-91pp.
- Brandl, F., Sommer, F., and Goepferich, A.** (2007). Rational design of hydrogels for tissue engineering: impact of physical factors on cell behavior. *Biomaterials*, 28(2), 134-146pp.
- Braybrook, J. H., and Hall, L. D.** (1990). *Prog Polym Sci*, 15, 715p.
- Burdick, J. A., and Vunjak-Novakovic, G.** (2009). Engineered Microenvironments for Controlled Stem Cell Differentiation. *Tissue Eng*, 15(2), 205-219pp.
- Bye, F. J., Bissoli, J., Black, L., Bullock, A. J., Puwanun, S., Moharamzadeh, K., . . . MacNeil, S.** (2013). Development of bilayer and trilayer nanofibrous/microfibrous scaffolds for regenerative medicine. *Biomaterials Science*, 1(9), 942. doi: 10.1039/c3bm60074b
- Cai, Q., Xu, Q., Feng, Q., Cao, X., Yang, X., and Deng, X.** (2011). Biomineralization of electrospun poly(l-lactic acid)/gelatin composite fibrous scaffold by using a supersaturated simulated body fluid with continuous CO₂ bubbling. *Applied Surface Science*, 257(23), 10109-10118pp. doi: 10.1016/j.apsusc.2011.06.157

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cancedda, R., Dozin, B., Giannoni, P., and Quarto, R.** (2003). Tissue engineering and cell therapy of cartilage and bone. *Matrix Biology*, 22(1), 81-91pp.
- Cao, H., and Kuboyama, N.** (2010). A biodegradable porous composite scaffold of PGA/beta-TCP for bone tissue engineering. *Bone*, 46(2), 386-395pp. doi: 10.1016/j.bone.2009.09.031
- Caplan, A. I., and Bruder, S.** (1997). In R. Lanza, R. Langer, J. Vacanti and W. Chick (Eds.), *Principles of Tissue Engineering* (p. 603): Academic Press
- Castelletto, V., Gouveia, R. M., Connon, C. J., Hamley, I. W., Seitsonen, J., Nykänen, A., and Ruokolainen, J.** (2014). Alanine-rich amphiphilic peptide containing the RGD cell adhesion motif: a coating material for human fibroblast attachment and culture. *Biomater. Sci.*, 2(3), 362-369pp.
- Chang, R. K., Price, J. C., and Whitworth, C. W.** (1987). Control of drug release rate by use of mixtures of poly (caprolactone) and cellulose acetate butyrate polymers. *Drug Dev Ind Pharm*, 13, 1119-1135pp.
- Chase, G. G., and Reneker, D. H.** (2004). Nanofibers in filter media. *Journal of Fluid/Particle Separation*, 16, 105-117pp.
- Chawla, J. S., and Amiji, M. M.** (2002). Biodegradable poly(caprolactone) nanoparticles for tumor-targeted delivery of tamoxifen. *International Journal of Pharmaceutics*, 249, 127-138pp.
- Chen, C. T., Fishbein, K. W., Torzilli, P. A., Hilger, A., Spencer, R. G., and Horton, W. E.** (2003). Matrix fixed-charge density as determined by magnetic resonance microscopy of bioreactor-derived hyaline cartilage correlates with biochemical and biomechanical properties. *Arthritis Rheum*, 48(4), 1047-1056pp.
- Chen, V. J., Smith, L. A., and Ma, P. X.** (2006). Bone regeneration on computer-designed nano-fibrous scaffolds. *Biomaterials*, 27(21), 3973-3979pp. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.02.043

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chen, Y., Mak, A. F., Li, J., Wang, M., and Shum, A. W.** (2005). Formation of apatite on poly(alpha-hydroxy acid) in an accelerated biomimetic process. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 73(1), 68-76pp. doi: 10.1002/jbm.b.30178
- Chong, E. J., Phan, T. T., Lim, I. J., Zhang, Y. Z., Bay, B. H., Ramakrishna, S., and Lim, C. T.** (2007). Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution. *Acta Biomater*, 3(3), 321-330pp. doi: 10.1016/j.actbio.2007.01.002
- Chung, H. J., and Park, T. G.** (2009). Self-assembled and nanostructured hydrogels for drug delivery and tissue engineering. *Nano Today*, 4(5), 429-437pp. doi: 10.1016/j.nantod.2009.08.008
- Cohn, D., and Salomon, A. H.** (2005). Designing biodegradable multiblock PCL/PLA thermoplastic elastomers. *Biomaterials*, 26(15), 2297-2305pp.
- Cole, C. G. B.** (2000). *Encyclopedia of Food Science and Technology* (F. F. J. Ed. 2 ed.): John Wiley & Sons.
- Colosi, C., Costantini, M., Barbetta, A., Pecci, R., Bedini, R., and Dentini, M.** (2013). Morphological comparison of PVA scaffolds obtained by gas foaming and microfluidic foaming techniques. *Langmuir*, 29(1), 82-91pp.
- Çoğan, Ş.** (2012). *Sıçan kemik iliğinden ve yağ dokusundan elde edilen mezenkimal kök hücrelerinin PCL nanofibröz yüzeyler üzerinde tutunma ve çoğalma özelliklerinin incelenmesi.* (MSc.), Ege University.
- Dahl, M., Syberg, S., Jorgensen, N. R., and Pinholt, E. M.** (2013). Adipose derived mesenchymal stem cells - their osteogenicity and osteoblast in vitro mineralization on titanium granule carriers. *J Craniomaxillofac Surg*, 41(8), e213-220pp. doi: 10.1016/j.jcms.2013.01.021
- Dahlin, R. L., Kasper, F. K., and Mikos, A. G.** (2011). Polymeric nanofibers in tissue engineering. *Tissue Eng Part B Rev*, 17(5), 349-364pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Darder, M., Aranda, P., and Ruiz-Hitzky, E.** (2007). Bionanocomposites: A New Concept of Ecological, Bioinspired, and Functional Hybrid Materials. *Advanced Materials*, 19(10), 1309-1319pp.
- de Groot, K.** (1980). Bioceramics consisting of calcium phosphate salts. *Biomaterials*, 1(1), 47-50pp.
- Deakin, B. Y., and al., e.** (2006). *Wheater's functional histology: a text and colour atlas* (5 ed.). Edinburgh: Churcill Livingstone/Elsevier.
- Deitzel, J. M., Kleinmeyer, J. D., Harris, D., and Tan, N. C. B.** (2001). The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer*, 42, 261-272pp.
- Dersch, R., Greiner, A., and Wendorff, J. H.** (2004). *Polymer nanofibers by electrospinning*. New York: Marcel Dekker.
- Doshi, J., and Reneker, D. H.** (1995). Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *Journal of Electrostatics*, 35, 151-160pp.
- Einhorn, T. A., Majeska, R. J., Mohaideen, A., Kagel, E. M., Bouxsein, M. L., Turek, T. J., and Wozney, J. M.** (2003). A single percutaneous injection of recombinant human bone morphogenic protein-2 accelerates fracture repair. *J Bone Joint Surg Am*, 85(A(8)), 1425-1435pp.
- Field, R. A., Riley, M. L., Mello, F. C., Corbridge, M. H., and Kotula, A. W.** (1974). Bone composition in cattle, pigs, sheep and poultry. *Journal of animal science*, 39(3), 493-499pp.
- Fong, H., Chun, I., and Reneker, D. H.** (1999). Beaded nanofibers formed during electrospinning. *Polymer*, 40, 4585-4592pp.
- Fridrikh, S. V., Yu, J. H., Brenner, M. P., and Rutledge, G. C.** (2003). Controlling the fiber diameter during electrospinning. *Physical Review Letters*, 90, 144502p.
- Gautam, S., Dinda, A. K., and Mishra, N. C.** (2013). Fabrication and characterization of PCL/gelatin composite nanofibrous scaffold for tissue engineering applications by electrospinning method. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 33(3), 1228-1235pp. doi: 10.1016/j.msec.2012.12.015

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ghasemi-Mobarakeh, L., Prabhakaran, M. P., Morshed, M., Nasr-Esfahani, M. H., and Ramakrishna, S.** (2010). Bio-functionalized PCL nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 30(8), 1129-1136pp. doi: 10.1016/j.msec.2010.06.004
- Glimcher, M. J.** (1959). Molecular biology of mineralized tissues with particular reference to bone. *Reviews of Modern Physics*, 31, 359-393pp.
- Gomes, M. E., and Reis, R. L.** (2004a). *Inter. Mater. Rev.*
- Gomes, M. E., and Reis, R. L.** (2004b). Tissue engineering: key elements and some trends. *Macromol Biosci*, 4(8), 737-742pp.
- Green, D., Walsh, D., Mann, S., and Oreffo, R. O. C.** (2002). The potentia of biomimesis in bone tissue engineering: Lessons from the design and synthesis of invertebrate skeletons. *Bone*, 30(6), 810-815pp.
- Greiner, A., and Wendorff, J. H.** (2007). Electrospinning: A fascinating method for the preparation of ultrathin fibers. *Angewandte Chemie International Edition*, 119, 5670-5703pp.
- Greiner, A., and Wendorff, J. H.** (2008). Functional self-assembled nanofibers by electrospinning. *Advances in Polymer Science*, 219(107-171pp).
- Guan, J., Wang, F., Li, Z., Chen, J., Guo, X., Liao, J., and Moldovan, N. I.** (2011). The stimulation of the cardiac differentiation of mesenchymal stem cells in tissue constructs that mimic myocardium structure and biomechanics. *Biomaterials*, 32(24), 5568-5580pp.
- Gupta, P., Elkins, C., Long, T. E., and Wilkes, G. L.** (2005). Electrospinning of linear homopolymers of poly(methyl methacrylate): exploring relationships between fiber formation, viscosity, molecular weight and concentration in a good solvent. *Polymer*, 46, 4799-4810pp.
- Hafidz, R. M., Yaakob, C. M., Amin, I., and Noorfaizan, A.** (2011). Chemical and functional properties of bovine and porcine skin gelatin. *International Food Research Journal*, 18, 813-817pp.
- Hall, S. J.** (2007). *Basic Biomechanics with OLC* (5 ed.). Burr Ridge: McGraw-Hill Higher Education.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hardin-Young, J., Teumer, J., Ross, R., and Parentau, N.** (2000). In R. Lanza, R. Langer and J. Vacanti (Eds.), *Principles of Tissue Engineering* (2 ed., p. 281). New York: Academic Press
- Harris, P. D., and Edward, D.** (2014). *Minerals in Food Nutrition, Metabolism, Bioactivity* P. A. Lancaster (Ed.) (p. 378).
- Hassan, M. I., Sultana, N., and Hamdan, S.** (2014a). Bioactivity Assessment of Poly(ϵ -caprolactone)/Hydroxyapatite Electrospun Fibers for Bone Tissue Engineering Application. *Journal of Nanomaterials*, 2014, 1-6p.
- Hassan, M. I., Sun, T., and Sultana, N.** (2014b). Fabrication of Nanohydroxyapatite/Poly(caprolactone) Composite Microfibers Using Electrospinning Technique for Tissue Engineering Applications. *Journal of Nanomaterials*, 2014, 1-7pp. doi: 10.1155/2014/209049
- Hench, L. L.** (1991). Bioceramics: from concept to clinic. *J Am Ceram Soc*, 74, 1487-1510pp.
- Hermanto, S., Sumarlin, L. O., and Fatimah, W.** (2013). Differentiation of bovine and porcine gelatin based on spectroscopic and electrophoretic analysis. *J. Food Pharm. Sci*, 1, 68-73pp.
- Hidaka, C., Ibarra, C., Hannafin, J. A., Torzilli, P. A., Quitoriano, M., Jen, S. S., Crystal, R. G.** (2002). Formation of vascularized meniscal tissue by combining gene therapy with tissue engineering. *Tissue Eng*, 8(1), 93-105pp.
- Hnilova, M., Karaca, B. T., Park, J., Jia, C., Wilson, B. R., Sarikaya, M., and Tamerler, C.** (2012). Fabrication of hierarchical hybrid structures using bio-enabled layer-by-layer self-assembly. *Biotechnol Bioeng*, 109(5), 1120-1130pp. doi: 10.1002/bit.24405
- Hollister, S. J.** (2005). Porous scaffold design for tissue engineering. *Nature Materials*, 4, 518-524pp.
- Hollister, S. J., and Murphy, W. L.** (2011). Scaffold translation: barriers between concept and clinic. *Tissue Eng Part B Rev*, 17(6), 459-474pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hong, Z., Zhang, P., and Jing, X.** (2005). Nano-composite of poly (L-lactide) and surface grafted hydroxyapatite: mechanical properties and biocompatibility. *Biomaterials*, 26, 6296-6304pp.
- Huang, A. H., Farrell, M. J., and Mauck, R. L.** (2010). Mechanics and mechanobiology of mesenchymal stem cell-based engineered cartilage. *J Biomech*, 43(1), 128-136pp. doi: 10.1016/j.jbiomech.2009.09.018
- Huang, Z. M., Zhang, Y. Z., Kotaki, M., and Ramakrishna, S.** (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, 63, 2223-2253pp.
- Hutmacher, D. W.** (2000). Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, 21, 2529-2543pp.
- Hutmacher, D. W., Schantz, J. T., Lam, C. X., Tan, K. C., and Lim, T. C.** (2007). State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. *J Tissue Eng Regen Med*, 1(4), 245-260pp. doi: 10.1002/term.24
- Jager, M., Boge, C., Janissen, R., Rohrbeck, D., Hulsen, T., Lensing-Hohn, S., . . . Hertel, M.** (2013). Osteoblastic potency of bone marrow cells cultivated on functionalized biometals with cyclic RGD-peptide. *J Biomed Mater Res A*, 101(10), 2905-2914pp. doi: 10.1002/jbm.a.34590
- Jarusuwannapoom, T., Hongrojjanawiwat, W., Jitjaicham, S., Wannatong, L., Nithitanakul, M., Pattamaprom, C., . . . Supaphol, P.** (2005). Effect of solvents on electrospinnability of polystyrene solutions and morphological appearance of resulting electrospun polystyrene fibers. *European Polymer Journal*, 41, 409-421pp.
- Ji, C., Annabi, N., Hosseinkhani, M., Sivaloganathan, S., and Dehghani, F.** (2012). Fabrication of poly-DL-lactide/polyethylene glycol scaffolds using the gas foaming technique. *Acta Biomater*, 8(2), 570-578pp.
- Jin, H.** (2004). Human bone marrow stromal cell responses on electrospun silk fibroin mats. *Biomaterials*, 25(6), 1039-1047pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Jun, H., Yuwono, V., Paramonov, S., and Hartgerink, J.** (2005). Enzyme mediated degradation of peptide-amphiphile nanofiber network. *Adv Mater*, 17, 2612-2617pp.
- Kanczler, J. M., and Oreffo, R. O. C.** (2008). Osteogenesis and angiogenesis: The potential for engineering bone. *European Cells and Materials*, 15, 100-114pp.
- Katti, D. S., Robinson, K. W., Ko, F. K., and Laurencin, C. T.** (2004). Bioresorbable nanofiber based systems for wound healing and drug delivery: optimization of fabrication parameters. *Journal of Biomedical Materials Research B*, 70(286-296pp).
- Ki, C. S., Park, S. Y., Kim, H. J., Jung, H. M., Woo, K. M., Lee, J. W., and Park, Y. H.** (2008). Development of 3-D nanofibrous fibroin scaffold with high porosity by electrospinning: implications for bone regeneration. *Biotechnol Lett*, 30(3), 405-410pp. doi: 10.1007/s10529-007-9581-5
- Kidoaki, S., Kwon, I. K., and Matsuda, T.** (2005). Mesoscopic spatial designs of nano- and microfiber meshes for tissue-engineering matrix and scaffold based on newly devised multilayering and mixing electrospinning techniques. *Biomaterials*, 26(1), 37-46pp.
- Kim, C. H., Khil, M. S., Kim, H. Y., Lee, H. U., and Jahng, K. Y.** (2006). An improved hydrophilicity via electrospinning for enhanced cell attachment and proliferation. *Wiley Periodicals*, 283-290pp.
- Kim, G. H.** (2008). Electrospun PCL nanofibers with anisotropic mechanical properties as a biomedical scaffold. *Biomed Mater*, 3(2), 025010p.
- Kim, T. G., and Park, T. G.** (2006). Surface functionalized electrospun biodegradable nanofibers for immobilization of bioactive molecules. 2006, 22, 1108-1113pp.
- Kobsa, S., Kristofik, N. J., Sawyer, A. J., Bothwell, A. L., Kyriakides, T. R., and Saltzman, W. M.** (2013). An electrospun scaffold integrating nucleic acid delivery for treatment of full-thickness wounds. *Biomaterials*, 34(15), 3891-3901pp. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.02.016

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kokubo, T., Kim, H. M., and Kawashita, M.** (2003). Novel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials*, 24, 2161-2175pp.
- Kokubo, T., and Takadama, H.** (2006). How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 27(15), 2907-2915pp.
- Koleske, J. V.** (1978). *Blends containing PCL and related polymers* (D. R. Paul and S. Newman Eds.). New York: Academic Press.
- Kost, J., and Langer, R.** (2001). *Adv Drug Deliv Rev*, 46, 125p.
- Kuroda, Y., Akiyama, H., Kawanabe, K., Tabata, Y., and Nakamura, T.** (2010). Treatment of experimental osteonecrosis of the hip in adult rabbits with a single local injection of recombinant human FGF-2 microspheres. *J Bone Miner Metab*, 28(6), 608-616pp.
- Küçüköksel, Y., and Cesur, S.** (2014). The investigation of desired product properties of polycaprolactone-hydroxy apatite composites for tissue engineering applications. *Usak University Journal of Material Sciences*, 3(1), 107-107pp. doi: 10.12748/uujms.201416505
- Lam, C. X., Hutmacher, D. W., Schantz, J. T., Woodruff, M. A., and Teoh, S. H.** (2009). Evaluation of polycaprolactone scaffold degradation for 6 months in vitro and in vivo. *J Biomed Mater Res A*, 90(3), 906-919pp.
- Langer, R., and Vacanti, J. P.** (1993). Tissue Engineering. *Science*, 260, 920-926pp.
- Langer, R. S., and Vacanti, J. P.** (1999). *Sci Am*, 280-286pp.
- Lee, J. H., Park, J. H., El-Fiqi, A., Kim, J. H., Yun, Y. R., Jang, J. H., . . . Kim, H. W.** (2014). Biointerface control of electrospun fiber scaffolds for bone regeneration: engineered protein link to mineralized surface. *Acta Biomater*, 10(6), 2750-2761pp. doi: 10.1016/j.actbio.2014.01.021
- Lee, J. W., Serna, F., and Schmid, C. E.** (2006). Carboxyl-endcapped conductive polypyrrole: biomimetic conducting polymer for cell scaffolds and electrodes. *Langmuir*, 22, 9816-9819pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lee, Y. S., and Arinzeh, T. L.** (2011). Electrospun Nanofibers for Neural Applications. In P. Ketul (Ed.), *Nanotechnology in Tissue Engineering and Regenerative Medicine* (pp. 4-5). Newyork: CRC Press.
- LeGeros, R. L.** (2008). Calcium phosphate-based osteoconductive materials. *Chem. Rev.*, 108, 4742-4753pp.
- Legros, R., Balmain, N., and Bonel, G.** (1987). Age-related changes in mineral of rat and bovine cortical bone. *Calcified tissue international*, 41(3), 137-144pp.
- Li, B., Moshfegh, C., Lin, Z., Albuschies, J., and Vogel, V.** (2013). Mesenchymal stem cells exploit extracellular matrix as a mechanotransducer. *Nature Scientific Reports*, 3, 2425p.
- Li, D., Xia, Y.** (2004). Electrospinning of nanofibers: Reinventing the wheel? *Advanced Materials*, 16, 1151-1170pp.
- Li, Q., Cheung, W. H., Chow, K. L., Ellis-Behnke, R. G., and Chau, Y.** (2012). Factorial analysis of adaptable properties of self-assembling peptide matrix on cellular proliferation and neuronal differentiation of pluripotent embryonic carcinoma. *Nanomedicine*, 8(5), 748-756pp.
- Li, X. K., Cai, S. X., Liu, B., Xu, Z. L., Dai, X. Z., Ma, K. W., . . . Fu, X. B.** (2007). Characteristics of PLGA-gelatin complex as potential artificial nerve scaffold. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 57(2), 198-203pp.
- Liu, Y., He, J. H., Yu, J. Y., and Zeng, H. M.** (2008). Controlling numbers and sizes of beads in electrospun nanofibers. *Polymer International*, 57, 632-636pp.
- Long, T., Yang, J., Shi, S. S., Guo, Y. P., Ke, Q. F., and Zhu, Z. A.** (2014). Fabrication of three-dimensional porous scaffold based on collagen fiber and bioglass for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. doi: 10.1002/jbm.b.33328
- Luppen, C. A., Blake, C. A., Ammirati, K. M., Stevens, M. L., Seeherman, H. J., Wozney, J. M., and Bouxsein, M. L.** (2002). Recombinant human bone morphogenic protein-2 enhances osteotomy healing in glucocorticoid-treated rabbits. *J Bone Miner Res*, 17(2), 301-310pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Luu, Y. K., Kim, K. J., and al., e.** (2003). Development of a nanostructured DNA delivery scaffold via electrospinning of PLGA and PLA-PEG block copolymers. *Journal of Controlled Release*, 89, 341-353pp.
- Ma, Z., Koraki, M., Inai, R., and Ramakrishna, S.** (2005). Potential of nanofiber matrix as tissue-engineering scaffolds. *Tissue Eng*, 11, 101-109pp.
- Malafaya, P., Silva, G., Baran, E., and Reis, R.** (2002). *Curr Opin Solid State Mat Sci*, 6, 283p.
- Maquet, V., and Jerome, R.** (1997). *Porous Mater Tissue Eng*, 250, 15p.
- Mariod, A. A., and Adam, H. F.** (2013). Review: Gelatin, source, extraction and industrial applications. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 12(2), 135-147pp.
- Marlovits, S., Tichy, B., Truppe, M., Gruber, D., and Schlegel, W.** (2003). Collagen expression in tissue engineered cartilage of aged human articular chondrocytes in a rotating bioreactor. *Int J Artif Organs*, 26(4), 319-330pp.
- Marois, Y., Sigot-Loizard, M. F., and Guidoin, R.** (1999). Endothelial cell behavior on vascular prosthetic grafts of polymer chemistry, surface structure, and surface treatment. *ASAIO Journal*, 45, 272-280pp.
- Matsumoto, H., and Tanioka, A.** (2011). Functionality in Electrospun Nanofibrous Membranes Based on Fiber's Size, Surface Area, and Molecular Orientation. *Membranes (Basel)*, 1(3), 249-264pp.
- Mauck, R. L., Seyhan, S. L., Ateshian, G. A., and Hung, C. T.** (2002). Influence of seeding density and dynamic deformational loading on the developing structure/function relationships of chondrocyte-seeded agarose hydrogels. *Ann Biomed Eng*, 30(8), 1046-1056pp.
- McCaig, C. D., Rajniecek, A. M., Song, B., and Zhao, M.** (2004). Controlling cell behavior electrically: current views and feature potential. *Physiol Rev*, 85, 947-978pp.
- McKay, R.** (2000). Stem cells - hype and hope. *Nature*, 406, 361-364pp.
- Mikos, A. G., Thorsen, A., Czerwonka, L., Bao, Y., and Langer, R.** (1994). *Polymer*, 35, 1068p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mituppatham, C., Nithitanakul, M., and Supaphol, P.** (2004). Effects of solution concentration, emitting electrode polarity, solvent type, and salt addition on electrospun polyamide-6 fibers: a preliminary report. *Macromolecular Symposia*, 216, 293-299pp.
- Mooney, D. J., Kaufmann, P. M., Sano, K., McNamara, K. M., Vacanti, J. P., and Langer, R.** (1994). *Transplant*, 26, 3425p.
- Moore, N. M., Lin, N. J., Gallant, N. D., and Becker, M. L.** (2011). Synergistic enhancement of human bone marrow stromal cell proliferation and osteogenic differentiation on BMP-2-derived and RGD peptide concentration gradients. *Acta Biomater*, 7(5), 2091-2100pp.
- Murphy, C. M., Haugh, M. G., and O'Brien, F. J.** (2010). The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen-glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 31(3), 461-466pp. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.09.063
- Murphy, W. L., Kohn, D. H., and Mooney, D. J.** (2000). Growth of continuous bonelike mineral within porous poly(lactide-co-glycolide) scaffolds in vitro.
- Murthy, R. S. R.** (1997). *Biodegradable polymers* N. K. Jain (Ed.) *Controlled and Novel Drug Delivery* (pp. 27-51).
- Naseri, N., Algan, C., Jacobs, V., John, M., Oksman, K., and Mathew, A. P.** (2014). Electrospun chitosan-based nanocomposite mats reinforced with chitin nanocrystals for wound dressing. *Carbohydr Polym*, 109, 7-15pp.
- Nerem, R.** (2000). In R. Lanza, R. Langer and J. Vacanti (Eds.), *Principles of Tissue Engineering* (2 ed., pp. 9-15). New York: Academic Press
- Nguyen, T.-H., and Lee, B.-T.** (2010). Fabrication and characterization of cross-linked gelatin electro-spun nano-fibers. *Journal of Biomedical Science and Engineering*, 03(12), 1117-1124pp.
- Nirmalanandhan, V. S., Rao, M., Shearn, J. T., Juncosa-Melvin, N., Gooch, C., and Butler, D. L.** (2008). Effect of scaffold material, construct length

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- and mechanical stimulation on the in vitro stiffness of the engineered tendon construct. *J Biomech*, 41(4), 822-828pp.
- O'Driscoll, S. W., and Fitzsimmons, J. S.** (2001). The role of periosteum in cartilage repair. *Clin Orthop*, 391, 190-207pp.
- Okita, K., Ichisaka, T., and Yamanaka, S.** (2007). Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature*, 448(7151), 313-317pp.
- Pachence, J., and Kohn, J.** (1997). In R. Lanza, R. Langer and W. Chick (Eds.), *Principles of Tissue Engineering* (p. 273). New York: Academic Press
- Pedersen, R.** (1999). *Sci Am*, 280, 44p.
- Pham, Q. P., Sharma, U., and Mikos, A. G.** (2006). Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: a review. *Tissue Eng*, 12, 1197-1211pp.
- Pietrzak, W. S.** (2008). *Musculoskeletal tissue regeneration: biological materials and methods*: Humana Press.
- Porter, J. R., Ruckh, T. T., and Papat, K. C.** (2009). Bone tissue engineering: a review in bone biomimetics and drug delivery strategies. *Biotechnol Prog*, 25(6), 1539-1560pp. doi: 10.1002/btpr.246
- Potthoff, M. J., Inagaki, T., Satapati, S., Ding, X., He, T., Goetz, R., . . . Burgess, S. C.** (2009). FGF21 induces PGC-1alpha and regulates carbohydrate and fatty acid metabolism during the adaptive starvation response. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(26), 10853-10858pp.
- Prabhakaran, M. P., Vatankhah, E., and Ramakrishna, S.** (2013). Electrospun aligned PHBV/Collagen nanofibers as substrates for nerve tissue engineering. *Biotechnology and Bioengineering*, 110, 2775-2784pp.
- Price, R. L., Waid, M. C., Haberstroh, K. M., and Webster, T. J.** (2003). Selective bone cell adhesion on formulations containing carbon nanofibers. *Biomaterials*, 24(11), 1877-1887pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Qin, X. H., Yang, E. L., Li, N., and Wang, S. Y.** (2007). Effects of different salts on electrospinning of polyacrylonitrile (PAN) polymer solution. *Journal of Applied Polymer Science*, 103, 3865-3870pp.
- Raggatt, L. J., and al., e.** (2010). Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *The Journal of Clinical Biological Society for Biochemistry and Molecular Biology*, 285, 25103-25108pp.
- Rameshbabu, N., Rao, K. P., and Kumar, T. S. S.** (2005). Accelerated microwave processing of nanocrystalline hydroxyapatite. *Journal of Materials Science*, 40, 6319-6323pp.
- Raucci, M. G., D'Anto, V., Guarino, V., Sardella, E., Zeppetelli, S., Favia, P., and Ambrosio, L.** (2010). Biomineralized porous composite scaffolds prepared by chemical synthesis for bone tissue regeneration. *Acta Biomater*, 6(10), 4090-4099pp.
- Reneker, D. H., Yarin, A. I., Zussman, E., and Xu, H.** (2007). Electrospinning of nanofibers from polymer solutions and melts. *Advances in Applied Mechanics*, 41, 43-195pp.
- Rezwan, K., Chen, Q. Z., Blaker, J. J., and Boccaccini, A. R.** (2006). Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27(18), 3413-3431pp.
- Rim, N. G., Shin, C. S., and Shin, H.** (2013). Current approaches to electrospun nanofibers for tissue engineering. *Biomedical Materials*, 8(1), 014102pp.
- Rizzi, S. C., Health, D. J., Coombes, A. G. A., Bock, N., Textor, M., and Downes, S.** (2001). Biodegradable polymer/hydroxyapatite composites: surface analysis and initial attachment of human osteoblasts. *J Biomed Mater Res*, 55, 475-486pp.
- Roohani-Esfahani, S. I., Nouri-Khorasani, S., Lu, Z., Appleyard, R., and Zreiqat, H.** (2010). The influence hydroxyapatite nanoparticle shape and size on the properties of biphasic calcium phosphate scaffolds coated with hydroxyapatite-PCL composites. *Biomaterials*, 31(21), 5498-5509pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rozman, P., and Bolta, Z.** (2007). Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries. *Acta Dermatoven*, 16(4), 156-165pp.
- Rubin, R., and Strayer, D. S.** (2007). *Rubin's Pathology: Clinicopathologic Foundations of Medicine*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Saad, B., Matter, G., Ciardelli, G., Uhlschmid, G. K., Welti, M., Neuenschwander, P., and Suter, U. W.** (1996). *J Biomed Mater Res*, 32, 355p.
- Salgado, A. J., Coutinho, O. P., and Reis, R. L.** (2004). Bone tissue engineering: state of the art and future trends. *Macromol Biosci*, 4(8), 743-765pp.
- Salgado, C. L., Sanchez, E. M., Zavaglia, C. A., and Granja, P. L.** (2012). Biocompatibility and biodegradation of polycaprolactone-sebacic acid blended gels. *J Biomed Mater Res A*, 100(1), 243-251pp.
- Samatham, R., and Kim, K. J.** (2006). Electric current as a control variable in the electrospinning process. *Polymer Engineering & Science*, 46, 954-959pp.
- Samee, M., Kasugai, S., Kondo, H., Ohya, K., Shimokawa, H., and Kuroda, S.** (2008). Bone Morphogenetic Protein-2 (BMP-2) and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Transfection to Human Periosteal Cells Enhances Osteoblast Differentiation and Bone Formation. *Journal of Pharmacological Sciences*, 108(1), 18-31pp.
- Sarikaya, M.** (1999). Biomimetics: Materials fabrication through biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(25), 14183-14185pp.
- Schmidt-Nielsen, K.** (1984). *Scaling: Why is animal size so important?* Cambrigde: Cambrigde University Press.
- Selvig, K. A., Sorensen, R. G., Wozney, J. M., and Wikesjo, U. M.** (2002). Bone repair following recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulated periodontal regeneration. *J Periodontol*, 73(9), 1020-1029pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sendemir-Urkmez, A., and Jamison, R. D.** (2007). The addition of biphasic calcium phosphate to porous chitosan scaffolds enhances bone tissue development in vitro. *J Biomed Mater Res A*, 81(3), 624-633pp.
- Shearn, J. T., Juncosa-Melvin, N., Boivin, G. P., Galloway, M. T., Goodwin, W., Gooch, C., . . . Butler, D. L.** (2007). Mechanical stimulation of tendon tissue engineered constructs: effects on construct stiffness, repair biomechanics, and their correlation. *J Biomech Eng*, 129(6), 848-854pp.
- Shor, L., Gucer, S., Wen, X., Gandhi, M., and Sun, W.** (2007). Fabrication of three-dimensional polycaprolactone/hydroxyapatite tissue scaffolds and osteoblast-scaffold interactions in vitro. *Biomaterials*, 28(35), 5291-5297pp.
- Sigma-Aldrich.** (2015). Gelatin from porcine skin. Retrieved 6 Apr, 2015, from <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/g2500?>
- Sims, N. A., and Martin, T. J.** (2014). Coupling the activities of bone formation and resorption: a multitude of signals within the basic multicellular unit. *Bonekey Reports*, 1-10pp.
- Sinha, V. R., Bansal, K., Kaushik, R., Kumria, R., and Trehan, A.** (2004). Poly-epsilon-caprolactone microspheres and nanospheres: an overview. *Int J Pharm*, 278(1), 1-23pp.
- Sisson, K., Zhang, C., Farach-Carson, M. C., Chase, D. B., and Rabolt, J. F.** (2009). Evaluation of cross-linking methods for electrospun gelatin on cell growth and viability. *Am Chem Soc*, 10(7), 1675-1680pp.
- Smith, I. O., Liu, X. H., Smith, L. A., and Ma, P. X.** (2009). Nanostructured polymer scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. *Advanced Review*, 1(226-236pp).
- Son, W. K., Youk, J. H., Lee, T. S., and Park, W. H.** (2004). The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly(ethylene oxide) fibers. *Polymer*, 45, 2959-2966pp.
- Song, J. J., and Ott, H. C.** (2011). Organ engineering based on decellularized matrix scaffolds. *Trends Mol Med*, 17(8), 424-432pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Stock, U. A., and Vacanti, J. P.** (2001). Tissue engineering: current state and prospects. *Annu Rev Med*, 52, 443-451pp.
- Strauss, E., Schachter, A., Frenkel, S., and Rosen, J.** (2009). The efficacy of intra-articular hyaluronan injection after the microfracture technique for the treatment of articular cartilage lesions. *Am J Sports Med*, 37(4), 720-726pp.
- Sung, H. J., Meredith, C., Johnson, C., and Galis, Z. S.** (2004). The effect of scaffold degradation rate on three-dimensional cell growth and angiogenesis. *Biomaterials*, 25(26), 5735-5742pp.
- Supaphol, P., and Mit-uppatham, C.** (2005). Ultrafine electrospun polyamide-6 fibers: effect of emitting electrode polarity on morphology and average fiber diameter. *Journal of Polymer Science Part B Polymer Physics*, 43, 3699-3712pp.
- Suslu, A., Albayrak, A. Z., Urkmez, A. S., Bayir, E., and Cocen, U.** (2014). Effect of surfactant types on the biocompatibility of electrospun HAp/PHBV composite nanofibers. *J Mater Sci Mater Med*, 25(12), 2677-2689pp.
- Tan, P. S., and Teoh, S. H.** (2007). Effect of stiffness of polycaprolactone (PCL) membrane on cell proliferation. *Materials Science and Engineering: C*, 27(2), 304-308pp.
- Taylor, G.** (1966). The force exerted by an electric field on a long cylindrical conductor. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, 291(1425), 145-158pp.
- Theron, S., Zussman, E., and Yarin, A. I.** (2004). Experimental investigation of the governing parameters in the electrospinning of polymer solutions. *Polymer*, 45, 2017-2030pp.
- Thompson, R., Wake, M. C., Yaszemski, M. J., and Mikos, A. G.** (1995). *Adv Polym Sci*, 122, 247pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Thomson, J. A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S. S., Waknitz, M. A., Swiergiel, J. J., Marshall, V. S., and Jones, J. M.** (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 282, 1145-1147pp.
- Tiselius, A., Hjerten, S., and Levin, O.** (1956). Protein chromatography on calcium phosphate columns. *Arch Biochem Biophys*, 56, 132-155pp.
- Unnithan, A. R., Barakat, N. A., Pichiah, P. B., Gnanasekaran, G., Nirmala, R., Cha, Y. S., . . . Kim, H. Y.** (2012). Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun polyurethane-dextran nanofiber mats containing ciprofloxacin HCl. *Carbohydr Polym*, 90(4), 1786-1793pp.
- Unnithan, A. R., Sasikala, A. R., Murugesan, P., Gurusamy, M., Wu, D., Park, C. H., and Kim, C. S.** (2015). Electrospun polyurethane-dextran nanofiber mats loaded with Estradiol for post-menopausal wound dressing. *Int J Biol Macromol*, 77, 1-8pp.
- Uyar, T., and Besenbacher, F.** (2008). Electrospinning of uniform polystyrene fibers: The effect of solvent conductivity. *Polymer*, 49, 5536-5543pp.
- Vacanti, C.** (2006). The history of tissue engineering. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 1(3), 569-576pp.
- Vatankhah, E., Semnani, D., Prabhakaran, M. P., Tadayon, M., Razavi, S., and Ramakrishna, S.** (2014). Artificial neural network for modeling the elastic modulus of electrospun polycaprolactone/gelatin scaffolds. *Acta Biomater*, 10(2), 709-721pp.
- Vats, A., Tolley, N. S., Polak, J. M., and Buttery, L. D.** (2002). Stem cells: sources and applications. *Clin Otolaryngol*, 27, 227-232pp.
- Venugopal, J., Zhang, Y. Z., and Ramakrishna, S.** (2006). In vitro culture of human dermal fibroblasts on electrospun polycaprolactone collagen nanofibrous membrane. *Artificial Organs*, 30, 438-444pp.
- Vinn, O.** (2013). Occurrence, Formation and Function of Organic Sheets in the Mineral Tube Structures of Serpulidae (Polychaeta, Annelida). *PLoS ONE*, 8(10), e75330.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Vunjak-Novakovic, G., Tandon, N., Godier, A., Maidhof, R., Marsano, A., Martens, T. P., and Radisic, M.** (2010). Challenges in cardiac tissue engineering. *Tissue Eng Part B Rev*, 16(2), 169p.
- Wang, Y., Yao, M., Zhou, J., Zheng, W., Zhou, C., Dong, D., . . . Cui, X.** (2011). The promotion of neural progenitor cells proliferation by aligned and randomly oriented collagen nanofibers through beta1 integrin/MAPK signaling pathway. *Biomaterials*, 32(28), 6737-6744pp.
- Wannatong, L., Sirivat, A., and Supaphol, P.** (2004). Effects of solvents on electrospun polymeric fibers: preliminary study on polystyrene. *Polymer International*, 53, 1851-1859pp.
- Ward, A. G., and Courts, A.** (1977). *The Science and Technology of Gelatin*. New York: Academic Press.
- Weadock, K. S., Miller, E. J., Bellincampi, L. D., Zawadsky, J. P., and Dunn, M. G.** (1995). Physical crosslinking of collagen fibers: Comparison of ultraviolet irradiation and dehydrothermal treatment. *Journal of Biomedical Materials Research*, 29, 1373-1379pp.
- Wlodarski, K., Wlodarski, P., Galus, R., and Mazur, S.** (2012). Adipose mesenchymal stem cells. Their characteristics and potential application in tissue repair. *Polish Orthopedics and Traumatology*, 77, 97-99pp.
- Wohlrab, S., Muller, S., Schmidt, A., Neubauer, S., Kessler, H., Leal-Egana, A., and Scheibel, T.** (2012). Cell adhesion and proliferation on RGD-modified recombinant spider silk proteins. *Biomaterials*, 33(28), 6650-6659pp.
- Woo, K. M., Jun, J. H., Chen, V. J., Seo, J., Baek, J. H., Ryoo, H. M., . . . Ma, P. X.** (2007). Nano-fibrous scaffolding promotes osteoblast differentiation and biomineralization. *Biomaterials*, 28(2), 335-343pp.
- Wozney, J. M.** (2002). Overview of bone morphogenic proteins. *Spine*, 27(16), 2-8pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Wu, S., Liu, X., Yeung, K. W. K., Liu, C., and Yang, X.** (2014). Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 80, 1-36pp.
- Xing, X., Yu, H., Zhu, D., Zheng, J., Chen, H., Chen, W., and Cai, J.** (2012). Subwavelength and Nanometer Diameter Optical Polymer Fibers as Building Blocks for Miniaturized Photonics Integration. In N. Das (Ed.), *Optical Communication*.
- Yang, F., Neeley, W. L., Moore, M. J., Karp, J. M., Shukla, S., and Langer, R.** (2008). *Tissue Engineering: The Therapeutic Strategy of the Twenty-First Century*. CRC Press Taylor & Francis Group.
- Yang, L. J., and Ou, Y. C.** (2005). The micro patterning of glutaraldehyde (GA)-crosslinked gelatin and its application to cell-culture. *Lab Chip*, 5(9), 979-984pp.
- Yang, Q., Li, Z., Hong, Y., Zhao, Y., Qui, S., Wang, C., and Wei, Y.** (2004). Influence of solvents on the formation of ultrathin uniform poly(vinyl pyrrolidone) nanofibers with electrospinning. *Journal of Polymer Science Part B Polymer Physics*, 42, 3721-3726pp.
- Yoo, H. S., Kim, T. G., and Park, T. G.** (2009). Surface-functionalized electrospun nanofibers for tissue engineering and drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 61(12), 1033-1042pp.
- Yoshimoto, H., Shin, Y. M., Terai, H., and Vacanti, J. P.** (2003). A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 24(12), 2077-2082pp.
- Young, R. A.** (2011). Control of the embryonic stem cell state. *Cell*, 144(6), 940-954pp.
- Yu, J. H., Fridrikh, S. V., and Rutledge, G. C.** (2006). The role of elasticity in the formation of electrospun fibers. *Polymer*, 47, 4789-4797pp.
- Yun, Y. R., Won, J. E., Jeon, E., Lee, S., Kang, W., Jo, H., . . . Kim, H. W.** (2010). Fibroblast growth factors: biology, function, and application for tissue regeneration. *J Tissue Eng*, 2010, 218142p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yunoki, S., Suzuki, T., and Takai, M.** (2003). Stabilization of low denaturation temperature collagen from fish by physical cross-linking methods. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 96(6), 575-577pp.
- Zeybek, B., Duman, M., and Şendemir Ürkmez, A.** (2014). Electrospinning of nanofibrous polycaprolactone (PCL) and collagen-blended polycaprolactone for wound dressing and tissue engineering. *Usak University Journal of Material Sciences*, 3(1), 121-121p.
- Zhang, J., Qiu, K., Sun, B., Fang, J., Zhang, K., Ei-Hamshary, H., . . . Mo, X.** (2014). The aligned core–sheath nanofibers with electrical conductivity for neural tissue engineering. *J. Mater. Chem. B*, 2(45), 7945-7954pp.
- Zhang, Y., Ouyang, H., Lim, C. T., Ramakrishna, S., and Huang, Z. M.** (2005). Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 72(1), 156-165pp.
- Zhang, Y. Z., Venugopal, J., Huang, Z. M., Lim, C. T., and Ramakrishna, S.** (2006). Crosslinking of the electrospun gelatin nanofibers. *Polymer*, 47(8), 2911-2917pp.
- Zhou, C. C., Ye, X. J., Fan, Y. J., Qing, F. Z., Chen, H. J., and Zhang, X. D.** (2014). Synthesis and characterization of CaP/Col composite scaffolds for load-bearing bone tissue engineering. *Composites Part B: Engineering*, 62, 242-248pp.
- Zuo, W., Zhu, M., Yang, W., Yu, H., Chen, Y., and Zhang, Y.** (2005). Experimental study on relationship between jet instability and formation of beaded fibers during electrospinning. *Polymer Engineering & Science*, 45, 704-709pp.

ÖZGEÇMİŞ**CENK ÇELİK**

*Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans öğrencisi
cenk.celik@biyomuhendis.com*

KİŞİSEL BİLGİLER

Uyruğu: T.C.

Doğum yeri: Şiran

Telefon: +90 (532) 778 9983

Doğum tarihi: 13 Ağustos 1989

EĞİTİM**Yüksek Lisans, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı**

Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye, 2015

Lisans, Biyomühendislik Bölümü,

Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye, 2012

ARAŞTIRMA DENEYİMİ**Araştırmacı Bursiyer, Hayvan Hücre Kültürü ve Doku Mühendisliği
Araştırma Grubu,**

- Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü,
Haziran 2012 –

STAJYERLİK

- Ege Üniversitesi Bilgi ve İletişim Teknolojileri Uygulama ve Araştırma
Merkezi (BİTAM), Medikal İllüstrasyon Bölümü, İzmir, Türkiye,
Haziran – Ağustos 2013 (Medikal İllüstrasyon Stajyeri)
- Marmara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik
Bölümü, Endüstriyel Biyoteknoloji ve Sistem Biyolojisi Laboratuvarı,
İstanbul, Türkiye, Haziran – Temmuz 2011
- Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü,
Bitki Doku ve Hücre Kültürü Laboratuvarı, İzmir, Türkiye, Haziran –
Ağustos 2010

- Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Mikroalgal Biyoteknoloji Laboratuvarı, İzmir, Türkiye, Haziran – Ağustos 2009

BURS/ÖDÜL/SERTİFİKALAR

- TÜBİTAK 1002 – Mikroalgal yağ üretiminin optimizasyonu, laboratuvarıdan dış alana panel fotobiyoreaktörlerde üretim ve ölçek büyütme süreçlerinin incelenmesi. (Bursiyer)
- TÜBİTAK Kariyer Projesi – Mekanik germe altında merkezi sinir sistemi nöronlarının incelenmesi ve bir *in vitro* travmatik beyin hasarı modeli. (Bursiyer)
- TÜBİTAK 2209 Yurtiçi Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı. (Proje Yöneticisi)
- Dinamik Mekanik Analizi cihazı kullanım sertifikası, Marmara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, İstanbul, 2011. (6 saat)
- Araştırma Deneyim Sertifikası, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü Mikroalgal Biyoteknoloji Laboratuvarı, İzmir, 2009. (320 saat)

KONGRE, SEMİNER, SEMPOZYUM VEYA EĞİTİM PROGRAMLARI

- Sanayi - Akademi Arayüzünde Dental İmplantlar Çalıştayı, Bornova, İzmir, 18 Eylül 2014
- Nanoteknoloji ve Doku Mühendisliği: Mevcut çalışmalar ve geleceği, Bakırköy, İstanbul, 20-21 Aralık 2013
- 19. Uluslararası Biyomedikal Bilim ve Teknoloji Sempozyumu (BİOMED), Kuşadası, Türkiye, 12-15 Kasım 2013
- VI. Uluslararası Biyomühendislik Kongresi (BEC), Kuşadası, Türkiye, 12-15 Kasım 2013
- 1. Ege Nanoteknoloji Günleri, İzmir Türkiye, 18-19 Nisan 2013
- Biyomalzemelerin Medikal Alanda Kullanımları Çalıştayı, BIOMATEN, Ankara, Türkiye, 19 Mart 2013
- İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, “Tekno-Girişimcilik Eğitim Programı”, İzmir, Türkiye, 6-10 Şubat 2012

- 17. Uluslararası Biyomedikal Bilimler ve Teknoloji Sempozyumu (BIOMED), Ankara, Türkiye, 23-25 Kasım 2011
- I. Ulusal Ege Kompozit Malzemeler Sempozyumu, Selçuk, Türkiye, 17-19 Kasım 2011
- Ege Üniversitesi 3. Kök Hücre Sempozyumu, İzmir, Türkiye, 30 Nisan 2011
- V. Uluslararası Biyomühendislik Kongresi, İzmir, Türkiye, 16-19 Haziran 2010
- Ege Üniversitesi 2. Kök Hücre Sempozyumu, İzmir, Türkiye, 23 Mart 2010
- Ege Üniversitesi Yapay Organ ve Doku Sempozyumu, İzmir, Türkiye, 27 Ekim 2009
- Ege Üniversitesi Kök Hücre Sempozyumu, İzmir, Türkiye, 16 Mart 2009

KONFERANS BİLDİRİLERİ

- O.M. Duman, **C. Çelik**, M. Sarikanat, A. Şendemir Ürkmez (2014), “Mekanik Germe Altında Merkezi Sinir Sistemi Nöronlarının İncelenmesi ve *in vitro* Bir Travmatik Beyin Hasarı Modeli”, Biyomedikal Mühendisliği Ulusal Toplantısı (BIYOMUT2014), 16 - 17 Ekim, İstanbul, Türkiye (Sözlü bildiri).
- **C. Çelik**, O. Karaman, A. Şendemir Ürkmez (2013), “More than a picture: Biomedical Illustration”, *19th International Biomedical Science and Technology Symposium (BIOMED)*, November 12-15, Kuşadası, Türkiye (Sözlü bildiri).
- **C. Çelik**, C. Görgün, A. Şendemir Ürkmez (2013), “Cell viability of keratinocytes on electrospun *Spirulina*/PCL composites”, *19th International Biomedical Science and Technology Symposium (BIOMED)*, November 12-15, Kuşadası, Türkiye (Poster sunumu).
- M. Duman, S. Çoğan, M.C. Minaz, **C. Çelik**, A. Şendemir Ürkmez (2013), “PCL/Fe₃O₄ Scaffold Production with Electrospinning”, *Advanced Materials World Congress 2013 (AMWC)*, September 16-19, Çeşme, Türkiye.

- C. Serdengeçti, I. Sen, O.M. Duman, **C. Çelik**, A. Şendimir Ürkmez, Y. Seki (2013), “Production and analysis of parameters effect morphological characters of chitosan nanospheres”, *1st Ege University Nanotechnology Days*, April 18-19, İzmir, Türkiye (Poster sunumu).
- O.M. Duman, **C. Çelik**, C. Minaz, A. Şendimir Ürkmez (2013), “Fabrication of PEO/Fe₃O₄ composite tissue scaffolds by electrospinning”, *1st Ege University Nanotechnology Days*, April 18-19, İzmir, Türkiye (Poster sunumu).
- C. Demirkaya, **C. Çelik**, M. Sarıkanat, M. Conk Dalay, A. Şendimir Ürkmez (2012), “Applications of microalgae for tissue engineering”, *Marine Biotechnology and Genomics Workshop*, May 24, Bodrum, Türkiye (Sözlü bildiri).
- **C. Çelik**, Ç. Demirkaya, M. Sarıkanat, M. Conk Dalay, A. Şendimir Ürkmez (2011), “Effects of microalg reinforcement on biocompatibility and mechanical properties of tissue engineering scaffolds”, *I. National Aegean Composite Materials Symposium*, November 17-19, Selçuk, Türkiye (Türkçe sözlü bildiri).

TEZ ÇALIŞMALARI

- **C. Çelik** (2012), “Mikroalg katkısının doku mühendisliği iskelelerinin biyoyuymululuk ve mekanik özelliklerine etkisi”, Lisans Bitirme Tezi, Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir, Türkiye.

YER ALINAN KOMİTELER

- 19. Uluslararası Biyomedikal Bilim ve Teknoloji Sempozyumu (BİOMED), Kuşadası, Türkiye, 12-15 Kasım 2013 (Organizasyon Komitesi Üyesi)
- VI. Uluslararası Biyomühendislik Kongresi (BEC), Kuşadası, Türkiye, 12-15 Kasım 2013 (Organizasyon Komitesi Üyesi)