

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ REJENERASYONU İÇİN
İLETKEN MATERYALLERİN GELİŞTİRİLMESİ ve
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Ümran AYDEMİR SEZER

Enstitü Anabilim Dalı : ELEKTRİK-ELEKTRONİK MÜHENDİSLİĞİ

Enstitü Bilim Dalı : ELEKTRONİK MÜHENDİSLİĞİ

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Mehmet Recep BOZKURT

Ocak 2017

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

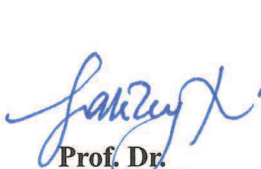
**PERİFERİK SİNİR SİSTEMİ REJENERASYONU İÇİN
İLETKEN MATERYALLERİN GELİŞTİRİLMESİ ve
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

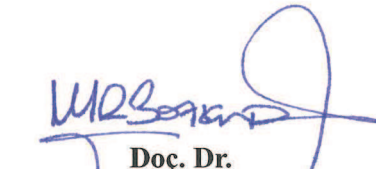
Ümran AYDEMİR SEZER

Enstitü Anabilim Dalı : ELEKTRİK-ELEKTRONİK MÜHENDİSLİĞİ

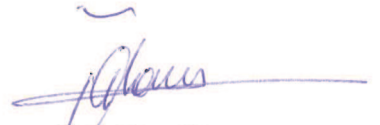
Bu tez 05/01/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.



Prof. Dr.
Sakin ZEYTİN
Jüri Başkanı

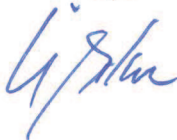


Doç. Dr.
Mehmet Recep BOZKURT
Üye

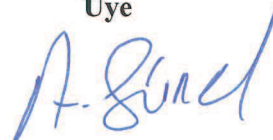


Yrd. Doç. Dr.
Özhan ÖZKAN
Üye

Prof. Dr.
Ülker BEKER
Üye



Doç. Dr.
Aslıhan Günel
Üye



BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Ümran AYDEMİR SEZER

01/01/2017

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Mehmet Recep Bozkurt'a teşekkürlerimi sunarım. Jüri toplantılarımızda katkılarıyla çalışmamın sağlıklı bir şekilde ilerlemesini sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. Sakin Zeytin ve Yrd. Doç. Dr. Özhan Özkan'a teşekkürlerimi borç bilirim. Tez çalışmalarımda anlayış ve yardımlarını esirgemeyen Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümü akademisyenlerinden Yrd. Doç. Dr. Semra Yılmaz Keskin ve Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Karaca ve bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım ve desteğini her zaman gördüğüm Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyelerinden Prof. Dr. Gülderen Yanıkkaya Demirel'e teşekkür ederim.

Sadece tez çalışmalarımda değil kariyer hayatımın her basamağında desteğini ve anlayışını esirgemeyen eşim Doç. Dr. Serdar SEZER'e gönülden sevgilerimi sunarım. Yine hem iş hem de günlük yaşamımda bugüne dek her türlü desteği sağlayan anne ve babama ve her zor durumda yanı başımda olan değerli dostum, kardeşime çok teşekkür ederim. Çalışmalara katkıdan çok engel teşkil etse de varlığıyla her anımı anlamlı kılan oğlum Hakan'a da en içten sevgilerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan COST (Bilimsel ve Teknik İşbirliği Alanında Avrupa İşbirliği) programına teşekkür ederim (Proje no: 214S672).

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ÖZET	ix
SUMMARY	x
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Sinir Kılavuz Kanalları	4
2.2. Polikaprolakton	7
2.3. Elektron-Eğirme Metodu ve Sinir Rejenerasyonu Uygulamaları	8
2.4. İletken Yapıların Sinir Rejenerasyonunda Kullanımı	11
2.4.1. Biyobozunur metallerin vücut içi kullanımları	12
BÖLÜM 3.	
MATERYAL, YÖNTEM VE ARAŞTIRMA BULGULARI	16
3.1. Materyal	16
3.2. PCL Elektron Eğirme	17
3.2.1. PCL nanofiberlerin karakterizasyonu	18
3.3. Nanokompozit Hazırlama	21
3.3.1. Kompozit materyallerin karakterizasyonu	22

3.3.2. Kompozit materyallerin mekanik karakterizasyonu	27
3.3.3. Kompozit materyallerin iletkenlik ölçüm çalışmaları	30
3.4. Biyolojik Değerlendirme	35
3.4.1. Sitotoksisite çalışmaları	35
3.4.2. Nöron materyal ilişkisi	41
BÖLÜM 4.	
TARTIŞMA VE SONUÇLAR	48
KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ.....	57

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

EAB%	: %Kopma Uzaması
EDX	: Enerji dağılımlı X-ray spektrofotometrisi
Fe	: Demir
kV	: kilovolt
LDH	: Laktaz dehidrojenaz
max	: En yüksek değer
mL	: mililitre
MPa	: Megapascal
MTS	: (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium)
mV	: milivolt
ort	: Ortalama değer
PBS	: Fosfat tampon çözeltisi
PCL	: Polikaprolakton
PGA	: Poliglikolik asit
PLCL	: Polilaktik asit-ko-kaprolakton
PTFE	: Politetrafloroetilen
PVA	: Polivinil alkol
sa	: saat
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
ss	: Standart sapma
UTS	: Çekme dayanımı
Zn	: Çinko

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Çeşitli sinir kılavuz ürünlerin taramalı elektron mikroskoplarıyla elde edilen görüntüleri: (A) NeuraGen™, (B) Neurolac, (C) Neurotube. Büyütmeyi gösteren çizgi 4 mm uzunluğundadır	6
Şekil 2.2.	(a) Elektron-eğirme sisteminin şematik görüntüsü ve elektron-eğirme tekniğiyle üretilmiş olan PGA nano-fiberlerinin taramalı elektron mikroskopuyla elde edilen görüntüleri: (b) Düzgün sıralanmış fiberler (c) Rastgele sıralanmış fiberler.....	9
Şekil 3.1.	Çalışmada kullanılan elektron eğirme cihazının fotoğrafı	18
Şekil 3.2.	Her bir deney parametresi için iki farklı büyütmeye (yan yana) taramalı electron mikroskop görüntüsü: (a, b) 1, (c, d) 2, (e, f) 3, (g, h) 4 ve (i, j) 5 numaralı (Tablo 2'ye göre) deney parametreleri	20
Şekil 3.3.	Şekil 3.3. (a) Zn ve (b) Fe nanopartiküllerin elektron mikroskobu görüntüleri ve EDX analizleri (her bir görüntüye ait EDX analizine görüntünün hemen sağında yer verilmiştir).....	23
Şekil 3.4.	Uzaklık 16,5 cm ve gerilim 20 kV kullanılarak üretilen PCL nanofiberlerin SEM görüntüleri: (a) x500 ve (b) x2500 büyütmeye çekilmiş görüntüleri temsil etmektedir	24
Şekil 3.5.	(a ve b) PCL/Fe5, (c ve d) PCL/Fe10, (e ve f) PCL/Fe15 ve (g ve h) PCL/Fe20 nanofiberlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri	25
Şekil 3.6.	(a ve b) PCL/Zn5, (c ve d) PCL/Zn10, (e ve f) PCL/Zn15 ve (g ve h) PCL/Zn20 nanofiberlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri	26

Şekil 3.7.	(a) PCL/Zn10, (b) PCL/Fe10, (c) PCL/Fe10 örneklerinin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.....	27
Şekil 3.8.	(a) İletkenlik ölçümü için kullanılan cihaz, (b) örneklerin ölçüm öncesi fosfat tampon çözeltisinde bekletilmesi, (c) ölçüm için hazırlanan malzeme	30
Şekil 3.9.	PCL nanofiber materyalinin akıma karşı gerilim grafiği: (a) – 200 mV ile 200 mV arası (0,5 mV adımlarla) ve (b) –2 V ile 2 V arası (10 mV adımlarla).....	31
Şekil 3.10.	Zn nanopartikül içeren PCL nanofiber kompozit materyallerinin akıma karşı gerilim grafiği: (a ve b) PCL/Zn5, (c ve d) PCL/Zn10, (e ve f) PCL/Zn15 ve (g ve h) PCL/Zn20. Sağ sütun –200 mV ile 200 mV arası (0,5 mV adımlarla) adımları ve sol sütun –2 V ile 2 V arası (10 mV adımlarla).....	32
Şekil 3.11.	Fe nanopartikül içeren PCL nanofiber kompozit materyallerinin akıma karşı gerilim grafiği: (a ve b) PCL/Fe5, (c ve d) PCL/Fe10, (e ve f) PCL/Fe15 ve (g ve h) PCL/Fe20. Sağ sütun –200 mV ile 200 mV arası (0,5 mV adımlarla) adımları ve sol sütun –2 V ile 2 V arası (10 mV adımlarla).....	33
Şekil 3.12.	Nöroglıblastoma hücrelerinin pasajlama esnasında 1. hafta (a, b), 2. hafta (c, d) ve 3. hafta (d, e) ışık mikroskobu görüntüleri.	41

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1.	Ticari sinir kılavuz kanallarının ve koruyucuların özellikleri.....	6
Tablo 3.1.	Elektron eğirme deneyinin parametreleri.....	17
Tablo 3.2.	Fiber kalınlıklarıyla ilgili istatistiki analizler.....	21
Tablo 3.3.	Örnek kodları ve açıklamaları.....	22
Tablo 3.4.	Çinko nanopartikül içeren materyallerin mekanik özellikleri.....	29
Tablo 3.5.	Demir nanopartikül içeren materyallerin mekanik özellikleri.....	29
Tablo 3.6.	Kompozit materyallerin iletkenlikleri.....	34
Tablo 3.7.	LDH düzeyine ilişkin çinko içeren materyallerin istatistiki değerlendirmeleri	36
Tablo 3.8.	LDH düzeyine ilişkin demir içeren materyallerin istatistiki değerlendirmeleri	38
Tablo 3.9.	MTS düzeyine ilişkin çinko içeren materyallerin istatistiki değerlendirmeleri	42
Tablo 3.10.	MTS düzeyine ilişkin demir içeren materyallerin istatistiki değerlendirmeleri	45

ÖZET

Anahtar Kelimeler: çinko nanopartikül, demir nanopartikül, sinir kılavuz kanalı, doku mühendisliği, elektron eğirme

Sinir dokusu vücutta onarımı en zor olan dokuların başında gelir. Özellikle kaza sonucu meydana gelen sinir defektleri ve kayıplar başlıca sağlık sorunlarından biridir. Periferik sinir yaralanmaları bu tip yaralanmalarda başı çeker. Bu tür incinmeler travmatik hastaların %2,8'inde gerçekleşir ve çoğunlukla yaşam boyu süren fonksiyon kayıplarına veya bozukluklarına yol açar. Bunun yanında incinmelerin gerçekleşmesiyle beraber sinirsel ağrıların gözlenmesi de olasıdır. Bu sebeple, periferik sinir yaralanmaları bireylerin yaşam kalitesini olumsuz etkileyen sosyoekonomik etkilerinden dolayı önüne geçilmesi gereken sağlık sorunlarından biridir. Aksonlar sinir hücreleri boyunca elektrik sinyallerinin iletimini sağlayan önemli sinirsel taşıyıcılardır. Periferik sistemde incinen aksonların yenilenmesi sinir fiberlerinin etrafını sararak myelin kılıfı oluşturan Schwann hücrelerinin çoğalmasıyla vuku bulur. 5 mm'den büyük defektlerde iki uç arasında bağlantıyı sağlayabilmek için sinir greftleri kullanılması gerekmektedir. Allogreftlerin ve otogreftlerin kullanımında doku uyumu gibi problemlerden dolayı sentetik greftler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu sayede doku mühendisliğinin en önemli yaklaşımlarından biri alternatif sinir greftleri geliştirmek olmuştur. Bu greftler periferik sinir kanallarına kılavuz olacak şekilde kanal olarak tasarlanmıştır. Tamamen iyileşme sağlaması için biyobozunur olması gerekmektedir. Kılavuz kanallarını daha etkin hale getirmek amacıyla nanoteknolojinin gelişmelerinden faydalanılmıştır. Özellikle nanofiber ve nanotüplerin kanal yapılarının içine eklenmesi sinir aktivitelerini tetikleyen bir ortam oluşturmada önemli rol oynar.

Bu çalışmada periferik sinir yaralanmalarıyla meydana gelen fonksiyon kayıplarında uygulanan cerrahi müdahalelerde kullanılabilecek yenilikçi ve etkin biyobozunur kompozit sistemler geliştirilmiştir. Geliştirilen sistemin biyobozunur sistem içerisinde akson yenilenmesini arttırıcı etkisi hücre çoğalmasını ve gelişimini destekleyen etken maddeler içermesiyle desteklenerek hastanın hızlı bir iyileşme süreci geçirerek yaşam kalitesinin korunması hedeflenmiştir. İletken ve toksik olmayan metalik nanoyapılarla desteklenerek sinirsel iletimin arttırılması ve bu sayede rejenerasyonun hızlandırılması ana hedefidir. Bu nanokompozit sistemden oluşan kılavuz kanalının vücuda yerleştirildikten sonra bozunmasıyla beraber sinir dokusu gelişerek kılavuz kanalının yerini alması amaçlanmıştır.

DEVELOPMENT AND EFFICIENCY ASSESMENT OF CONDUCTIVE MATERIALS FOR PERIPHERIAL NERVE SYSTEM REGENERATION

SUMMARY

Keywords: zinc nanoparticles, iron nanoparticles, nerve guide conduit, tissue engineering, and electrospin

Regeneration of nerve tissue is the slowest healing tissue in body. Especially the nerve defects and losts after accidents are ones of the main health problems. Peripheric nerve defects comes first in those injuries. These injuries are observed 2.8% of traumatic patients and it usually results function losts or disorders maintaining lifelong. Moreover, observation of nervous pain can be possible. Therefore, peripheric nerve degeneration is one of the health problems that should be prevented or treated due to sociaeconomical effects that affecting human life quality of individuals. Axons are the essential nerve vehicles that carry electrical signals across the nerves. Regeneration of axon defects in peripheric systems occur with proliferation of Schwan cells which wraps the nerve fibers and generate myelin sheath. Nerve grafts must be used for the degeneration larger than 5 mm in order to obtain connection between two ends of the nerve defect. Due to tissue compatibility problem in use of allografts and autografts, synthetic grafts were focused. With this perspective, one of the important approach of tissue engineering became development of alternative nerve graft. These grafts are designed as conduit in order to guide peripheric nerve fibers. These grafts should also be biodegradable in order to provide complete regeneration. Nerve guide conduits containing variable pore structures indicate different production techniques. The inner part of these nerve conduits can be empty or fills with fibres and spongy structure. In order to make more effective nerve conduits, nanotechnological improvements were used. Especially addition of excellent conductive and biocompatible nanofibers and nanotubes into the nerve conduits have important roles in stimulation of nerve activates.

In this study, novel and effective biodegradable nerve conduit systems will be developed to be use in surgical operations for fixing function losts arises from peripheric nerve defects. Nerve conduit made of this nanocomposite system is aimed to replace with nerve tissue. Therefore, structures belonging to nerve conduits in this project will be first in literature and patents.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Biyomalzemeler; insan sağlığına ve yaşam kalitesine olan doğrudan etkisi, pazar büyüklüğü ve gerektirdiği teknolojiden dolayı yarattığı yüksek katma değer açısından büyük öneme sahiptir. Gerek yaşam süresinin ve kalitesinin artırılması, gerekse oluşan rekabetçi pazarda pay sahibi olabilmek için ülkemizin Ar-Ge çalışmalarının artırılması ve desteklenmesi gereklidir. Biyomalzeme alanında sinir kılavuz kanalları, özellikle belli bir defekt boyutunu aşan periferik sinir yaralanmalarında başvurulmuş ve bağlantının koptuğu iki uç arasında iletişimi sağlayacak şekilde kılavuz görevi görmesi sağlanan tedavi yöntemleri arasında yaygın olarak kullanılır. Klinikte kullanılan mevcut kılavuz kanallarının kullanımında karşılaşılan güçlükler göz önünde bulundurulduğunda başlıca sorunlar hızlı ve etkin rejenerasyonun sağlanmasıdır. Bu alanda farklı biyobozunur polimerlerle oluşturulan sinir kılavuz kanalları doku-biyomalzeme uyumluluğunda güzel sonuçlar vermiş olmakla beraber henüz istenilen ideal özelliklere sahip kılavuz kanalı geliştirilememiştir. Sinir kılavuz kanallarını oluşturan ana matriks ikinci bir operasyon gerektirmeyen biyobozunmayan biyouyumlu polimerler yerine biyobozunur polimerlerin kullanılması hasta refahı için daha avantajlıdır. Biyobozunur polimerlerden polilaktik asit (Yang ve ark., 2005; Hsu ve ark., 2011), polikaprolakton (Lee ve ark., 2012; Kokai ve ark., 2010; Bender ve ark., 2004), poliglikolik asit (Molander ve ark., 1989; Suematsu, 1989; Ichihara ve ark., 2008), polilaktik asit ve glikolik asit kopolimerleri (Oh ve ark., 2008; Wen ve Tresco, 2006; He ve ark., 2009; de Ruitter ve ark., 2008; Moore ve ark., 2006; Sundback ve ark., 2005; Bini ve ark., 2004a; Bini ve ark., 2004b), poligiserol sebasik asit (Wang ve ark., 2002; Sundback ve ark., 2005), polihidroksi butirat (Young ve ark., 2002; Mosahebi ve ark., 2003; Yucel ve ark., 2010) gibi sentetik polimerler ya da kitosan (Hsu ve ark., 2013; Wang ve ark., 2005; Wang ve ark., 2008), kollajen (Alluin ve ark., 2009; Li ve ark., 1992), jelatin (Liu, 2008; Lu ve ark., 2007; Chen ve ark., 2005; Chang ve ark., 2007a), aljinat (Mosahebi

ve ark., 2003), agaroz (Dodla ve Bellomkonda, 2008), hyaluronik asit (Seckel ve ark., 1995a ve 1995b; Wang ve ark., 1998) gibi doğal polimerler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu matrikslerle hazırlanan sinir kılavuz kanalları tek veya çoklu kanal sistemi, içi gözenekli sünger yapı ve içi nanofiberli yapı gibi farklı tasarımlar kullanılarak ve değişik dolgu malzememeleri ile sitokin ve hücre gibi destek terapileriyle hazırlanarak hayvan denemelerine kadar gidilen çalışmalar olmuştur (Lietz ve ark., 2006; Raimondo ve ark., 2005; Schlosshauer ve ark., 2003).

Sinir hücrelerinin elektriksel iletişimini sağlamak ve bu yolla sinir rejenerasyonunu hızlandırmak için sinir kılavuz kanallarının içerisine birçok iletken dolgu maddesi eklenmiştir. Bunlar arasında son dönemde en yaygın olanı karbon nanotüplerdir (Tran ve ark., 2009). Karbon nanotüpler sadece karbon nanotüplerin sahip olduğu mükemmel elektrik iletkenliği için değil aynı zamanda çok iyi mekanik mukavemeti arttırıcı özelliklerinden dolayı da sinir kılavuz kanallarında tercih edilmişlerdir. Dolgu maddeleri dışında hücre, büyüme faktörü veya sinir dokusuna özel protein ve peptidlerin yapay sinir kılavuz kanallarıyla kombine edildiği çalışmaların klinik öncesi çalışmalarda daha etkin sonuçlar verdiği ortaya çıkmıştır. Ne var ki bu yöntemlerin birçoğunun pahalı olması nedeniyle yakın zamanda ticari ürüne dönüşme olasılığı çok zayıftır.

Polikaprolakton, FDA onaylı biyobozunur ve canlı organizmalar için toksik olmayan bir polimerdir. Diğer polimerlerle karşılaştırıldığında daha ucuz, esnek (oda sıcaklığında), geçirgen ve yavaş bozunurdur. Çeşitli *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar hücre uyumluluğunu ve verimini ortaya koymuştur. Ayrıca *in vivo* bozunma esnasında toksik olmayan yan ürünler meydana getirir. Bununla beraber, uygulamalarda yüksek başarının sağlanması için hidrofobik ve yavaş absorbe olma özellikleri iyileştirilmelidir. Bu tez çalışmasında ulaşılmak istenilen hedef; hızlı nöron gelişimi sağlayan periferik sinir defektleri için etkin iyileşme sağlayan, biyoyumlu ve biyobozunur yapay sinir kılavuz kanalları olarak kullanılmak üzere kompozit sistemler geliştirmek ve test etmektir.

Bu çalışmanın amaçlarına ulaşması için ilerlenen yolda gerçekleştirilen çalışmalar genel hatlarıyla şu şekilde özetlenebilir:

- 1) Polikaprolakton ve nano metal parçacıkların kompozit oluşturularak elektron-eğirme yöntemiyle doku uyumluluğunda istenilen düzeye gelebilmek için uygun gözenekli yapılar elde edilmesi,
- 2) Mekanik, kimyasal, morfolojik özelliklerinin incelenmesi,
- 3) İletken ölçüm çalışmaları,
- 4) Materyallerin sinir hücreleri üzerine etkilerinin ve biyouyumluluk özelliklerinin ortaya konması.



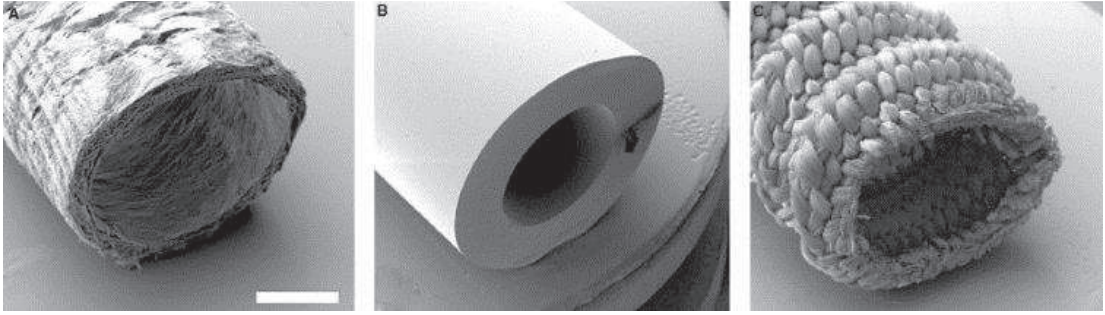
BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Sinir Kılavuz Kanalları

Periferik sinir yaralanmaları; delici-kesici aletlerle yaralanmalardan doğum travmalarına ve iyatrojenik yaralanmalara kadar değişik şekillerde meydana gelebilmektedirler. Ülkemizde bu alanda istatistiki veri bulunmamaktadır. Bununla beraber Avrupa ve Amerika'da yaklaşık olarak her sene 100.000 hasta periferik sinir operasyonları geçirmektedir (Siemionow ve Brzezicki, 2009). Bu tip yaralanmalarda sunulan en iyi tıbbi yaklaşım, mümkün olabilen en kısa zaman diliminde birbirinden ayrılan sinir uçlarının uç-uca dikilmesi suretiyle birleştirilmesidir. Bununla beraber bu yaklaşım çoğunlukla sürenin aşılması veya kopan sinir uçlarının aralığının büyük olması nedeniyle her zaman istenilen sonuçları vermemektedir. Travmatik kayıplar veya tümör operasyonu ile oluşan kayıplar sonrasında periferik sinirlere onarımsal cerrahi işlemler uygulanma ihtiyacı doğar. Bu amaçla halen klinikte uygulanan yöntem otojen sinir grefti uygulamasıdır. Birçok sinir kılavuz kanalı örnekleri de deneysel olarak periferik sinir onarımlarında denenmişlerdir. Otojen greftlerin yanında çoğunlukla bazal membranlar, fasyal sinovyal tüpler, sentetik tüpler, kas dokusu, ven-kas birlikte kullanımları, epinöral kılıf veya amniyotik zardan tüp oluşturma teknikleri sayılabilir. Periferik sinir onarımında kullanılan çeşitli birleştirici unsurların kullanılması yöntemi eski bir tekniktir. İlk olarak 1880'de Gluck tarafından kalsifiye olmayan kemik kullandığı çalışmayla başlayan bu teknik (Gluck, 1880), 1904 yılında Foramitti'nin arter grefti kullanmasıyla devam ettirilmiştir (Foramitti, 1904). Daha sonra 1943 yılında Weiss (Weiss, 1943), alternatif bir tedavi olarak dondur-kurut yöntemiyle elde edilen arter grefti kullanmıştır. 1947'de St. Clair Strange ilk defa periferik sinir kayıpları için pediküllü vaskularize greft uygulamalarını bildirmiştir (Strange, 1947). Yine biyolojik kaynaklı greft kullanımı kronolojisinde 1980 yılında Chiu, rodentlerde 1 cm'lik otojen ven

grefti ile sinir rejenerasyonunu histolojik ve elektrofizyolojik olarak göstermiştir (Chiu ve ark., 1982).

Daha sonrasında otogreftlerin periferik sinir rejenerasyonundaki üstün etkinliğinden dolayı bu alandaki uygulamalar için otogreftler ‘altın standart’ olarak nitelendirilmiştir. Bununla beraber, özellikle geniş periferik sinir defektlerinde verici kısıtlaması, morbidite ve hastaların %40-50 arasına tekabül eden sayıda otogreftleri kabul etmesi en büyük sorunlar olarak ortaya çıkmıştır. Bu kısıtlamalar araştırmacıları doku ile uyumlu özellik gösteren kılavuz kanalları geliştirmeye itmiştir. Son yıllarda biyolojik kaynaklı greftlerin yerini yapay sentetik tüpler almaya başlamıştır. Sentetik yapay sinir kılavuz kanalları, silikon ve politetrafloretillen gibi biyobozunur olmayan polimerlerden veya poliglikolik asit ve polilaktik asit gibi biyobozunur polimerlerden yapılabilmektedir (Şekil 2.1 ve Tablo 2.1). Hem deneysel hem de klinik araştırmalarda sentetik sinir kılavuz kanallarıyla memnun edici sonuçlar ortaya çıkmıştır. Sentetik sinir kılavuz kanalları kullanımı yirminci yüzyılda başlamıştır. Günümüzde sentetik iletici-yapılar içine sinir rejenerasyonunu destekleyici çeşitli büyüme faktörleri eklenerek rejenerasyon için en uygun mikro-çevre yaratılmaya çalışılmaktadır. Sinir kılavuz kanalları, kesik iki sinir ucu arasındaki boşluğu birleştirmek amacıyla köprü görevi görmek için kullanılan tüp formunda yapılardır. Sentetik sinir kılavuz kanalları, proksimal ve distal sinir uçları arasında rejenerasyonu sağlarken çevre dokular ile defekt bölgesi arasında bariyer oluşturması amacıyla tasarlanmıştır. Bu amaçla sinir kılavuz kanalları gözenekli yapısıyla biyolojik alışverişi oluşturarak fibröz doku infiltrasyonunu azaltıp kopmuş sinir uçlarından salınan nörotrofik faktörler için izole bir kanal oluşturması gerekmektedir. Ancak, bunlar ekonomik olarak henüz rutin kullanım açısından çok uygun değildir. Ayrıca biyolojik temelli sinir kılavuz kanallarının taşıdığı riskleri taşımamasının yanında henüz bu greftlerin başarısı yakalanabilmiş değildir. Halen klinikte 3 cm’den büyük hasarlar için otogreftler kullanılmaktadır (Siemionow ve Brzezicki, 2009). Bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.



Şekil 2.1. Çeşitli sinir kılavuz kanalı ürünlerin taramalı elektron mikroskoplarıyla elde edilen görüntüleri: (A) NeuroGenTM, (B) Neurolac, (C) Neurotube. Çizgi 4 mm uzunluğundadır (Deumens ve ark., 2010).

Tablo 2.1. Ticari Sinir Kılavuz Materyalleri ve Özellikleri (Kehoe ve ark., 2012).

Ürün İsmi	Malzeme	Bozunma Özelliği	Üretici Firma
Neurotube®	Poliglikolik asit (PGA)	3 ay	Synovis® Micro Companies Alliance Inc., www.synovismicro.com
NeuroGen®	Tip 1 Kollajen	36-48 ay	Integra Life Sciences Corp., www.integra-ls.com
Neuroflex™	Tip 1 Kollajen	4-8 ay	Collagen Matrix Inc., www.collagenmatrix.com
NeuroMatrix™	Tip 1 Kollajen	4-8 ay	Collagen Matrix Inc. www.collagenmatrix.com
AxoGuard™ Nerve Connector	Domuzdan elde edilen ince bağırsak mukozası (SIS)	3 ay	Cook Biotech Products, www.cookbiotech.com
Neurolac®	Poli(DL-laktik asit-ε-kaprolakton) (PLCL)	16 ay	Polyganics B.V., www.polyganics.com
Salu Tunnel™ Nerve Protector™	Polivinil alkol (PVA)	Bozunmuyor	Salumetica™ L.C.C., www.salumetica.com/
Salubridge™	PVA	Bozunmuyor	Salumetica™ L.C.C., www.salumetica.com/
AxoGuard™ Nerve Protector	SIS	3 ay	Cook Biotech Products, www.cookbiotech.com
NeuroWrap™	Tip 1 Kollajen	36-48 ay	Integra Life Sciences Corp., www.integra-ls.com
NeuroMend™	Tip 1 Kollajen	4-8 ay	Collagen Matrix Inc., www.collagenmatrix.com

Günümüze dek çok sayıda değişik yapıda kılavuz kanal materyali üretilmiştir. İdeal sinir kılavuz kanalı materyalinin hangisi olduğu konusunda henüz bir fikir birliği yoktur. Farklı ürünlerle gerçekleştirilen klinik çalışmalarda farklı bulgular elde edilmiştir. Bununla birlikte Poliglikolik asit temelli olan polimerlerin temel olarak diğerlerine göre daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. Yine de büyük defektler ve hızlı iyileşme için sonuçlar istenilen düzeyde değildir. Biyobozunur kılavuz kanalları biyobozunmayanlara göre ikinci bir operasyon gerektirmediğinden dolayı daha fazla tercih edilirler. Bu yüzden biyobozunur kılavuz kanallarının bozunma hızı ve bu süre boyunca dokuya mekanik mukavemet sağlaması malzemenin başarılı iyileştirme sağlaması açısından çok önemlidir. Bahsi geçen kombinasyonun yapılabileceği materyallerden biri Polikaprolaktone (PCL) olup, sıralanan özellikleri sağlayabilecek kısıtlı sayıdaki polimerlerden biridir.

2.2. Polikaprolakton

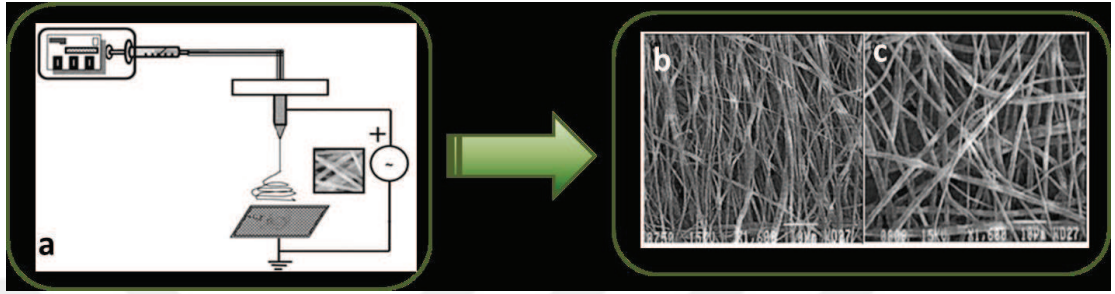
Polikaprolakton, az sayıda FDA onaylı biyobozunur polimerlerden biridir. Canlı organizmalar için tolere edilebilir toksisitesi ve diğer polimerlere nazaran ucuz, esnek ve geçirgen yapıya sahiptir. PGA ve PLA gibi biyobozunur polimerlere göre moleküler ağırlığına göre değişmekle beraber ve yavaş bozunurdur. Çeşitli *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar hücre uyumluluğunu ve verimini ortaya koymuştur. *In vivo* bozunma esnasında monomeri olan ve toksik olmayan kaprolakton ürünü açığa çıkar. Tüm bu avantajlı özelliklerinin yanında PCL'in hidrofobik özelliği onun doku ile integrasyonunu zayıf tutmaktadır. Bununla beraber, yavaş degradasyon süreci de özellikle yumuşak dokuların yenilenme süreciyle eşleşmemesinden dolayı iyileştirilmelidir. PCL medikal iskele yapı veya greft olarak iyi bozunma kinetiğine sahip olmasının yanında başka polimerlerle kopolimerizasyon veya homojen bir karışım oluşturmada çok başarılı bir adaydır. Hollandalı bir grubun PCL temelli kopolimerden sinir kılavuz greftlerini tasarlama ve ticarileştirmede ilk olduğu söylenebilir. Trimetil karbonat ve çoğunluğunun kaprolakton olduğu laktik asitler kopolimerden üretilen polimer filmler sıçanlarda bir yıl kadar süreyle izlenmiştir (Pego ve ark., 2003). 1990'larda Dendunnen ve arkadaşları PCL'i polilaktik asitle kombine ederek yönlendirilmiş sinir rejenerasyonunda değerlendirmişlerdir

(Dedunnen ve ark., 1993). Sitotoksosite testleri, biyobozunma ve sıçanlarda siyatik sinirde yapılan implantasyon çalışmalarıyla sinir kılavuzunun ISO/EN standartlarına göre biyouyumlu olduğu ve implantasyon sonrasında az denebilecek immünolojik reaksiyon gösterdiği saptanmıştır. Kim ve arkadaşları periferik sinir sisteminde yönlendirilmiş nanofiberlerin (tek yönlü) zarar görmüş iki ucun birleşip kapanmasında etkin rol oynadığını ortaya koymuşlardır (Kim ve ark., 2008). Nisbet ve arkadaşları PCL'den geliştirdikleri sinir doku mühendisliği iskele yapılarının *in vivo* koşullar altında immünolojik reaksiyon göstermesine rağmen akson yönlendirmesi ve entegrasyonunda önemini ortaya koymuşlardır (Nisbet ve ark., 2009). PCL/kollajen karışımları Schnell ve arkadaşları tarafından periferik sinir hasarından sonra aksonal sinir rejenerasyonunda etkinliği açısından incelenmiştir (Schnell ve ark., 2007). Yönlendirilmiş PCL ve PCL/kollajen nanofiberler elektroneğirme yöntemiyle üretilmiş ve hücre kültürü testleriyle çalışılmıştır. %100 PCL içeren fiberler %25:75 oranında PCL/kollajen karışımı olan nanofiberlerle karşılaştırılmıştır. Her iki nanofiber de Schwann hücreleri göçünü sağlamış, bunun yanında nörit oryantasyonu ve gelişiminin kollajen içeren kompozisyonda daha iyi olduğu gözlenmiştir.

2.3. Elektron-Eğirme Metodu ve Sinir Rejenerasyonu Uygulamaları

Dokular vücudumuzda karmaşık üç boyutlu yapılar halinde organize olmuştur. Bu iskele yapının dokularda biyolojik fonksiyonların gelişmesinde önemli katkısı olduğuna inanılmaktadır. Ayrıca bu iskele yapılar hücrelerin gelişimi için oksijen ve gıda desteğini sağlarlar. Bu sebeple başarılı doku yenilenmesi için üç anahtar faktörden bahsedilebilir: Hücreler, iskele yapılar ve hücre-iskele yapı etkileşimi. İskele yapı hücreler için konak görevi görür. Bu yüzden, vücudun en az reaksiyon göstereceği malzemelerden doğal doku iskele yapısına uygun bir iskele yapı tasarlayıp geliştirmek, doku yenilenmesi için öncelikli öneme sahiptir (Murugan ve Ramakrishna, 2006). Bu gözenekli iskele yapıların geliştirilmesinde günümüze kadar birçok yöntem kullanılmıştır. Bunlar arasında elektron-eğirme tekniği kullanıldığı nano-teknolojiden ötürü dokuyu en iyi taklit eden tekniklerden biri olarak ön plana çıkmaktadır. Sinir kılavuz kanalı tasarımı içinde oluşan defekti destekleyecek

mukavemeti kaybetmeden istenilen doku yenilenmesini sağlayacak gözeneklilik yapısını elde edecek metot olarak kullanılan elektron-eğirme metodu diğer metotlara nispeten ucuz olması, canlı üzerinde hızlı ve etkin sonuçlar vermesi nedeniyle özellikle son yıllarda popüler hale gelmiştir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. (a) Elektron-eğirme sisteminin şematik görüntüsü ve elektron-eğirme tekniğiyle üretilmiş olan PGA nano fiberlerinin taramalı elektron mikroskobuyla elde edilen görüntüleri: (b) Düzgün sıralanmış fiberler (c) Rastgele sıralanmış fiberler.

Bolan ve arkadaşlarının yakın zamanda yayınladıkları çalışmada, PGA/kitosan nanofiberleri elektron-eğirme tekniği kullanılarak başarıyla gerçekleştirilmiştir (Boland ve ark., 2001). Çözücü konsantrasyonu, akış hızı, uzaklık, voltaj ve çözücü tipi gibi parametreler değiştirilerek morfolojik olarak düzgün nanofiberler elde edilmesi mümkün kılınmıştır. Sonuç olarak döndürme hızına göre değişen düzgün ve rastgele sıralanmış iki farklı nano-fiber elde edilmiştir (Şekil 2.2). Bu çalışmada da görüldüğü gibi dönen toplayıcı hızına göre farklı şekilde sıralanmış nano-fiberleri elde etmek mümkündür. Yüksek hız düzgün bir şekilde sıralanmış nanofiberlerin elde edilmesini sağlarken düşük hız rastgele hizalanmış nanofiber oluşumuna yol açar.

Sinir kılavuz kanallarını oluşturan ana matriksin biyobozunur yapıda olması ikinci bir operasyon gerektirmemesi ve hasta refahını negatif etkilemediği için daha avantajlıdır. Biyobozunur polimerlerden polilaktik asit (Yang ve ark., 2005; Hsu ve ark., 2011), polikaprolakton (Lee ve ark., 2012; Kokai ve ark., 2010; Bender ve ark., 2004), poliglikolik asit (Molander ve ark., 1989; Suematsu, 1989; Ichihara ve ark., 2008), polilaktik asit ve glikolik asit kopolimerleri (Oh ve ark., 2008; Wen ve Tresco, 2006; He ve ark., 2009; de Ruyter ve ark., 2008; Moore ve ark., 2006; Sundback ve ark., 2005; Bini ve ark., 2004a; Bini ve ark., 2004b), poligiserol sebasik

asit (Wang ve ark., 2002; Sundback ve ark., 2005) ve polihidroksi butirat (Young ve ark., 2002; Mosahebi ve ark., 2003; Yucel ve ark., 2010) gibi sentetik polimerler ya da kitosan (Hsu ve ark., 2013; Wang ve ark., 2005; Wang ve ark., 2008), kollajen (Alluin ve ark., 2009; Li ve ark., 1992), jelatin (Liu, 2008; Lu ve ark., 2007; Chen ve ark., 2005; Chang ve ark., 2007a), aljinat (Mosahebi ve ark., 2003), agaroz (Dodla ve Bellomkonda, 2008), hyaluronik asit (Seckel ve ark., 1995; Wang ve ark., 1998) gibi doğal polimerler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu polimerlerle hazırlanan sinir rejenerasyon materyali farklı mikro ve makro yapıda üretilebildiği gibi; içerisine sinir dokusunun gelişimini destekleyici büyüme faktörleri, sitokin ve hücreler eklenerek materyalin etkinliği artırılmıştır (Lietz ve ark., 2006; Raimondo ve ark., 2005; Schlosshauer ve ark., 2003). Klinikte ise 6 farklı malzemenin uygulaması yapılmıştır (Ichihara ve ark., 2008; Meek ve Coert 2002). Bunlardan ikisi silikon ve politetrafloroetilen (PTFE) temelli ve biyobozunur olmayan malzemelerdir. Diğer dördü ise poliglikolik asit, kollajen, polilaktid-polikaprolakton kopolimer (PLCL) ve kollajen çapraz bağlanmış poliglikolik asit temelli sinir kılavuz kanallarıdır (Schlosshauer ve ark., 2006). Gerek silikon gerekse PTFE 4 cm'yi aşan defektlerde iyi etkinlik gösterememişlerdir (Stanec ve Stanec, 1998). Bu sonuçlardan sonra biyobozunur sinir kılavuz kanallarına yönelinmiş ve ilk olarak klinikte poliglikolik asit (PGA) sinir kılavuz kanalları kullanılmıştır (Mackinnon ve Dellon, 1990). 5-30 mm arasında değişen defektlerde 15 hasta üzerinde yapılan çalışmalarda 13 hastada tamamen iyileşme sağlanmıştır. Böylelikle PGA sinir kılavuz kanallarının otogreftlere eşit olduğu sonucuna varılmıştır. 98 hastayla yapılan başka bir çalışmada da PGA sinir kılavuz kanallarının başarısı bir kez daha kanıtlanmıştır (Weber ve ark., 2000). Aynı şekilde PLCL sinir kılavuz kanalının da otogreftlere eş değer başarı gösterdiği bulunmuştur (Bertlev ve ark., 2005). Kollajen tüpler de sinir boşluk onarımlarında memnun edici sonuçlar vermiştir (Lohmeyer ve ark., 2007; Asley ve ark., 2006). Bahsedilen klinik çalışmaları özetlersek yapay biyobozunur sinir kılavuz kanalları 3 cm'ye kadar sinir defektlerinde %70 başarı sağlayarak otogreftlerle aynı sonucu gösterecek kadar başarılıdırlar (Evans ve ark., 2000; Lee ve Wolf, 2000).

Amerikan İlaç ve Gıda Birliği'nin (FDA) onayladığı ilk sinir kılavuz kanalı 1999'da piyasaya sürülmüştür (Siemionow ve Brzezicki, 2009). Sinir kılavuz kanallarıyla

ilgili yapılan birçok çalışma, bu ticari ürünleri daha etkin olmaları ve otogreftlerin gösterdiği başarıdan daha ileriye götürme amaçlıdır. Mekanik özellikleri geliştirme (Yannas ve ark., 2007), biyouyumluluğu ve rejenerasyon hızını artırma (Chang ve ark., 2007b; Jansen ve ark., 2004) başı çeken çalışma konularıdır. Sinir boşluğunun uzunluğunun yanında hasar gören sinir çapı da sinir kılavuz kanallarının başarısını etkileyen bir diğer faktördür. Gerek klinik öncesi gerekse klinik çalışmalarda yapay sinir kılavuz kanalları en fazla 3-4 mm kalınlığa sahip sinir defektlerinin rejenerasyonunda kullanılmış, bu konuyla ilgili Moore ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise bahsi geçen kalınlığı aşan sinir defektlerinde kılavuz kanalı kullanımının kısıtlandığı ifade edilmiştir (Moore ve ark., 2009).

2.4. İletken Yapıların Sinir Rejenerasyonunda Kullanımı

Sinir hücrelerinin elektriksel aktivitesini desteklemek ve bu yolla sinir rejenerasyonunu geliştirmek amacıyla sinir kılavuz kanalı malzemesi çeşitli yollarla iletken hale getirilmeye çalışılmıştır (Aydemir Sezer ve ark., 2017). Bunlar arasında en yaygın olan metot karbon nanotüplerin matriks içerisine eklenmesidir (Tran ve ark., 2009). Karbon nanotüpler sadece karbon nanotüplerin sahip olduğu mükemmel elektrik iletkenliği için değil aynı zamanda çok iyi mekanik mukavemeti artırıcı özelliklerinden dolayı da sinir kılavuz kanallarında tercih edilmişlerdir. Sinir rejenerasyonunda karbon nanotüpler diğer doku uygulamalarında olduğu gibi biyolojik olarak daha uyumlu ve aktif yapıya sahip olmaları amacıyla biyoaktif moleküllerle yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmesi birçok çalışmanın odak konusudur. Aldehit 4-hidroksinonenal ile modifikasyon bu örneklerden biridir. Mattson ve arkadaşlarının böyle bir modifikasyonu gerçekleştirdikleri çalışmada hücreler arası kalsiyum iyonu oranının artarak nörit gelişimini düzenlediği görülmüştür (Mattson ve ark., 2000). Aynı çalışmada hem modifiye hem de modifiye edilmemiş karbon nanotüpler üzerinde tavşan beyin nöronlarıyla yapılan hücre çalışmasında modifiye karbon nanotüpler üzerinde nörit gelişiminin hem sayı hem de uzunluk olarak sırasıyla 2 ve 3 kat daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. Bir başka çalışmada ise elektrokimyasal depozisyonla polipayrol ile kaplanan dikey olarak hizalanmış karbon nanotüpler incelenmiştir. Hazırlanan bu dolgu malzemesi,

elektrotlarla mahallî sinir dokusu arasında ara yüz oluşturmada çok başarılı bulunmuştur. Ne var ki, her iki malzemenin de biyouyumluluktan yoksun olmasından dolayı polipayrol ile kaplanmış karbon nanotüpler çok ince kollajen tabakasıyla kaplanmış ve kollajen kaplı olmayan karbon nanotüplere göre üzerindeki hücre gelişiminin farkedilir şekilde arttığı gözlenmiştir (Nguyen-Vu ve ark., 2007). Bunların yanında nötrofin (Matsumoto ve ark., 2007) ve laminin (Huang ve ark., 2011) gibi nöron gelişimini hızlandıran ve vücudun metabolizmasında doğal olarak bulunan bileşiklerle karbon nanotüplerin yüzey modifikasyonları da nöron ve nörit gelişimlerinde memnun edici sonuçlar vermiştir. Lovat ve arkadaşları ise karbon nanotüplerin yüksek elektrik iletkenliklerinin nöral ağ aktivitelerini arttırdıkları ve elektriksel sinyal transferini geliştirdiğini göstermiştir (Lovat ve ark., 2005). Benzer bir yaklaşımla Keefer ve arkadaşları paslanmaz çelik ve tungsten kablo elektrodların üzerinin karbon nanotüple kaplanmasının nöral elektrodların kaydetme ve elektriksel uyarma karakterini teşvik ettiğini bulmuştur (Keefer ve ark., 2008). Bir başka çalışmada ise poliakrilik asit greft edilmiş karbon nanotüplerle hazırlanan ince filmlerde insan embriyonik kök hücrelerinin seçici olarak insan sinir hücrelerine dönüştüğü ortaya konmuştur (Chao ve ark., 2009). Bu sonuçlardan daha önce yayınlanan bir çalışmada ise karbon nanotüplerin elektriksel özellikleri, nöronların iskele yapı içerisindeki gelişmeleri için uyardıklarını öne sürmüşlerdir (Sucapane ve ark., 2009). Karbon nanotüplerin mükemmel elektrik iletkenliklerinden ileri gelen nöral gelişimi destekleyici özellikleriyle benzer mantık altın nanopartiküllerde de gözlenmiştir (Lin ve ark., 2008, Park ve ark., 2009). Elektriksel özelliklerinin yanında altın nanopartiküllerin plazmonik özelliğinin de nöral aktiviteleri uyarıcı etkisi olduğu saptanmıştır (Paviolo ve ark., 2013). Ne var ki, bahsi geçen bu nanoyapıların bozunur özellikte olmamasından kaynaklanan sistemik toksisiteleri halen tartışma konusudur. Bu alanda toksik olmayan ve/veya çözünür iletken nanoyapılar üzerinde çalışmalara ihtiyaç söz konusudur.

2.4.1. Biyobozunur metaller ve medikal alanda kullanımları

Metaller ve alaşımları özellikle ortopedi ve kardiyovasküler alanda klinikte sıkça kullanılan biyomalzemelerin hammaddeleri olarak karşımıza çıkarlar. Özellikle

titanyum, kobalt ve alaşımları kalıcı implantlar için çözümler sunar. Bunun yanında özellikle son dönemde biyobozunur metallere ilgi giderek artmaktadır. Özellikle kalıcı olması istenmeyen stentlerde biyobozunur polimerlerin yeterli mekanik kuvveti sağlayamamasından dolayı ve bozunmayan metallerin de stentin görevini yapmasından sonraki dönemde tıkama yapabileceğinden dolayı biyobozunur metallerle bu ürünlerin geliştirilmesine hız verilmiştir. Şu ana değin biyobozunur olduğu bilinen üç metal rapor edilmiştir: magnezyum, çinko ve demir. Bu metallerden özellikle magnezyum ve çinko ve alaşımları kardiyovasküler alanda yoğun araştırma odağıdır. Bunun yanında demir ve alaşımları daha çok ortopedik implantlarda kendine yer edinmiştir.

Doku-İmplant etkileşimi ve doku mühendisliğiyle ilgili olduğu kadar biyoloji ve fizyolojideki son gelişmelerle ilgili bilimsel bilgiler biyofonksiyonel ve biyoaktif biyomalzemelerin yükselişini de beraberinde getirmiştir. Bu tür gelenekselliğin dışındaki biyoaktif biyomalzemelerin fizyoloji implant bölgesinde pozitif etkileşimi destekleyeceği düşünülmektedir. Bozunur biyomalzemeler, zarar görmüş doku veya organın iyileşme sürecini destekleyerek biyoaktif biyomalzemelerin yeni bir sınıfı olarak görülmüşlerdir. Yenilikçi bozunur biyomalzemelerle ilgili çalışmalar günümüzde biyomalzemelerle ilgili yapılan en ilgi çeken araştırma konularındandır. Malzeme bilimi ve mühendisliğindeki gelişmeler, özellikle süreç ve termomekaniksel uygulamalar, malzemenin istenilen özelliklerini karşılaması için yapı ayarlamalarına izin vermiştir. Bozunur biyomalzemeler hem polimer hem de metallerden oluşabilirler. Polilaktik asit, polilaktik-ko-glikolik asit ve polikaprolakton bahsedilen bozunur polimerler arasındadır. Metallerin bozunur biyomalzeme olmasının düşünülmesi ise çok daha yeni bir fikirdir. Mekanik özellik olarak metaller polimerlere göre kemik fiksasyonu için vida ve stent uygulamaları gibi yüksek dayanım gerektiren bazı özel uygulama alanları için daha uygundur. Magnezyum, çinko ve demir temelli alaşımlar bu sınıftaki metaller için üç sınıfı oluştururlar. Alimünyum-magnezyum (Heublein ve ark., 2003; Levesque ve ark., 2003; Witte ve ark., 2005; Xin ve ark., 2007) ve kalsiyum-magnezyum (Zhang and Yang 2008; Li ve ark., 2008) başta olmak üzere çeşitli magnezyum temelli alaşımlar incelenmiştir. Saf demir (Peuster ve ark., 2001; Peuster ve ark., 2006) ve demir-

mangan alaşımları (Hermawan ve ark., 2008; Schinhammer ve ark., 2010) demir alaşımların içerisinde üzerinde oldukça fazla durulmuştur. Vodtech D ve arkadaşları en fazla %3'ü magnezyum içeren çinko-magnezyum alaşımı üzerinde çalışmışlardır. %1 magnezyum eklenmesinin mekanik özellikleri geliştirdiğini fakat %1'den fazla magnezyum oranına sahip alaşım örneklerinin mekanik özelliklerinin düştüğünü elde etmişlerdir (Vodtech D ve ark., 2011). Gerek saf çinko gerekse çinko-magnezyum alaşımlarının birbirine yakın korozyon oranları gösterdikleri bulunmuştur. Bunun yanında çinkonun korozyon oranı magnezyuma göre farkedilir ölçüde düşük çıkmıştır. Biyobozunur metallerin uygulama çalışmalarına bakıldığında ise çoğunlukla kardiyovasküler uygulamalarda kullanıldığı göze çarpar. Kemik vidaları ve plakaları gibi geçici ortopedik implantların kırılmış bir kemiği birleştirme ve birleşme gerçekleşinceye kadar dokuları sıkıca birarada tutmayı sağlaması gerekmektedir. Daha sonrasında bozunup yerini yeni kemik dokusuna bırakırlar. Bu durum öncelikle pediatrik kullanımlar gibi hızlı doku büyümesi ve gelişimi sağlanan bireyler için elzemdir. İdeal olarak, bozunur stentlerde mekanik özellik ve bozunma hızı ilişkisi önem arz etmektedir (Hermawan ve ark., 2010). Stentler için damardaki mekanik dayanımı koruması için bozunma hızı çok yavaş olmalı ve 6 ile 12 ay arasında bozunma gerçekleşmelidir (El-Omar ve ark., 2001; Schomig ve ark., 1994).

Tüm bu araştırmalar ve uygulamaların yanında bozunur metallerin iletken yapı olarak doku mühendisliğinde kullanımlarına henüz rastlanılmamıştır. Yüzeyin hacme oranı göz önünde bulundurulduğunda bozunma hızının diğer makro yapıda implantlara göre hayli yüksek olduğu göz önünde bulundurulduğunda bu dolgu maddelerinin doku mühendisliği için iyi bir araç olacağı varsayılabilir. Bunun yanında, sadece iyi birer iletken malzeme olmaları değil ayrıca bozunma ürünleri olan metal iyonlarının hücre gelişimi ve büyümesinde önemli rol oynadığı düşünülürse doza bağlı olarak bu malzemelerin kullanımı doku gelişimi için ekstra bir fayda sağlayacaktır.

Biyobozunur metaller son derece karmaşık olan fizyolojik çevreye sahip insan vücudunda iyileşme süreciyle uyumlu olarak bozunmalıdırlar. Bozunma yan ürünleri vücut sıvıları ve dokular yardımıyla taşınıp vücut tarafından elimine edilebilmeli ve

lokal veya sistemik birikmeye sebep olmamalıdır. Hayvanlarla yapılan implantasyon çalışmalarında bahsedilen biyobozunur metallerin *in vivo* koşullar altında bozunduğu gösterilmiştir. Kardiyovasküler çevrede, implantlar genel olarak 1 aydan daha az bir zaman diliminde bozunma emareleri göstermiştir (Waksman ve ark., 2008). Magnezyum alaşımı stent 6 aydan daha kısa bir zamanda tamamen bozunarak saf demire göre daha hızlı bozunma göstermiştir (Waksman ve ark., 2006). Bunun yanında saf demir stenti ise 1 yıl sonra hala görüntülenebilir durumda kalmıştır (Peuster ve ark., 2001). Kemik dokusundaki uygulamada, magnezyum alaşımı pin 3 ay içerisinde bozunup yerini yeni dokuya bırakmıştır (Li ve ark., 2008). Demir içeren stentlerde, bozunma yan ürünlerinin vücutta birikme göstermediği ve metale bağlı organ toksisitesi gerçekleşmediği ortaya konmuştur (Peuster ve ark., 2006). Diğer taraftan kanda yapılan tahlillerde magnezyum implantlarda bir takım değişikliklere rastlanılmıştır (Zhang ve ark., 2009).

BÖLÜM 3. MATERYAL, YÖNTEM VE ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada sinir dokusunun rejenerasyonunu hızlandıracak PCL matriks içerisine gömülü biyobozunur metal nanopartikülleri taşıyan nanofiber sinir kılavuz kanalı materyalleri geliştirilmiştir. Biyobozunur nanopartikül olarak demir ve çinko kullanılmış ve PCL matriks içerisinde farklı oranlarda kullanılmıştır. Öncesinde sitotoksikite yaklaşımıyla uygun doz aralığı tespit edilmeye çalışılan kompozit materyellerin özellikle sinir dokusu için son derece elzem olan iletkenlik özelliği üzerinde de durulmuştur. Kimyasal, morfolojik ve mekanik karakterizasyon sonrasında nöron hücrelerinin malzemeye ilişkisi ve davranışı incelenmiştir. Bu bölümde materyallerin hazırlanış, karakterizasyon, elektriksel iletkenlik özellikleri ve *in vitro* hücre çalışmaları detaylı olarak ele alınmıştır.

3.1. Materyal

Polikaprolakton (PCL, $M_n=80000$) Sigma Aldrich'den satın alınmıştır. Kullanılan solventler yine Sigma Aldrich (ABD)'ten temin edilmiştir. Demir nanopartiküller (ortalama 60-80 nm büyüklüğünde) ve çinko nanopartiküller (ortalama 35 nm büyüklüğünde), Diklorometan, dimetilformamid ve Penisilin-Streptomisin solusyonları yine Sigma Aldrich (ABD)'ten temin edilmiştir. Fizyolojik sıvıyı taklit etmek için kullanılan fosfat salin tampon çözeltisi (0,01 M ve pH = 7,4) hazırlamada Sigma Aldrich'ten temin edilen tabletler kullanılmıştır. Hücre kültürü için gerekli olan yüksek ve düşük glikoz içeren Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM) solüsyonu ve Fetal Bovin Serum Thermo Fisher Scientific Inc (ABD) firmasından alınmıştır. U87 MG (ATCC® HTB-14™) hücre hattı ATCC (ABD) firmasından satın alınmıştır. Lactate Dehydrogenase (LDH) sitotoksikite kiti Cell Bio Labs (ABD)'dan ve 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2-

tetrazolium (MTS) proliferasyon kiti BioVision Inc (ABD) firmalarından alınmıştır. Akridin oranj Fisher Scientific (ABD)'den, paraformaldehit solüsyonuyla Dulbecco's Fosfat tampon çözeltisi (DPBS) Sigma Aldrich (ABD)'den satın alınmıştır.

3.2. PCL Elektron Eğirme

Diklorometan ve dimetilformamid solventlerin hacimce 9:1 oranında karıştırılmasıyla elde edilen solvent sistemin içerisinde %12 oranında PCL oda sıcaklığında hızlı karıştırıcıyla çözünmüştür. Beş farklı grup oluşturularak elektron eğirme cihazıyla alüminyum folyo üzerinde elektriksel gerilimden meydana gelen nanofiberlerin toplanmasıyla film oluşturulmuştur. Elektron eğirme cihazı (NE300 Elektrosponing Cihazı) Inovenso Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye'den satın alınmıştır (Şekil 3.1). Nanofiber oluşturulmasıyla ilgili iki plaka arasındaki uzaklık, gerilim ve akış hızı gibi parametreler değiştirilerek nanofiberlere nasıl etki ettiği araştırılmıştır. Söz konusu gruplara ait değişen parametreler Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Elektron eğirme deneyinin parametreleri

Deney	Uzaklık (cm)	Voltaj (kV)	Akış Hızı (mL/sa)
1	15	16	1
2	15	15	1
3	15	17	1
4	16,5	17	1
5	16,5	15	1

Oluşturulan filmlerin morfolojik özelliklerinin incelenmesi için taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri alındı. Filmler uygun boyutta kesilerek çift yüzlü karbon bant yardımıyla SEM cihazı için kullanılan plaka yüzeylerinde sabitleştirildi. Bu aşamadan sonra altınla kaplanan materyaller JSM-6400 electron microscope (JEOL, Amerika) cihazıyla analiz edildi. Elde edilen fiberlerin büyüklükleri hakkında analiz yapmak için image-J programı kullanıldı. Rastgele seçilen 30 farklı fiber işaretlenerek çap boyutlarında programın otomatik olarak ortalama değer alması

sağlandı. Buradan alınan verilerle excel programı kullanılarak istatistiki çalışma yapılmıştır.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan elektron eğirme cihazının fotoğrafı.

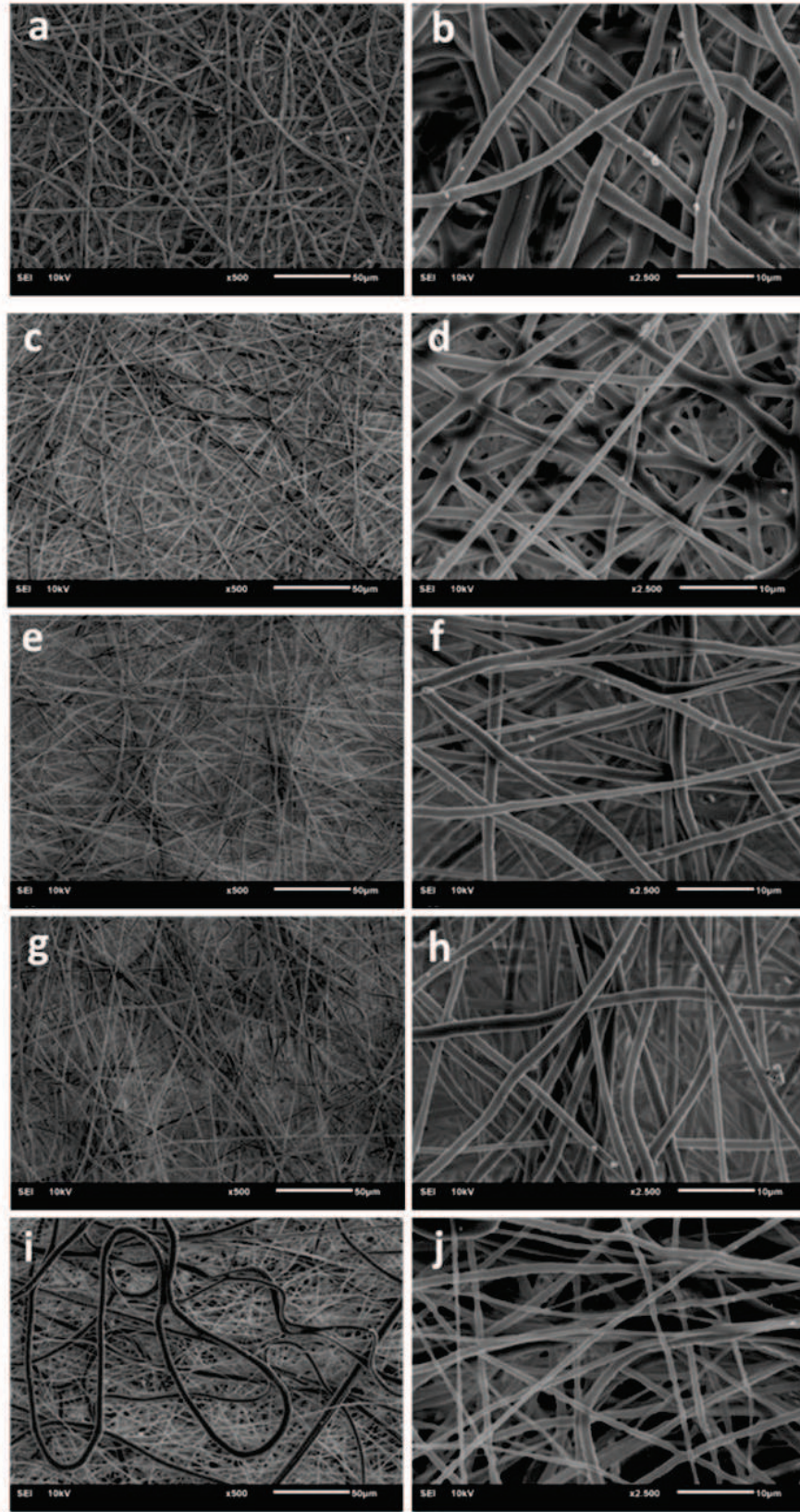
Çalışma sonuçlarından elde edilen veriler değerlendirilerek çalışmada daha sonra yapılacak olan kompozit nanofiberler için bir parametre seti seçimine gidilmiştir.

3.2.1. PCL nanofiberlerin karakterizasyonu

Literatürde farklı solvent sistemlerinin ve deney parametrelerin kullanıldığı PCL elektron eğirme yöntemlerinde farklı fiber kalınlıkları ve morfolojik özellikler elde edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan solvent sisteminde literatürden Dawei Li ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri 2014’de yayınlanan çalışma temel alınmıştır (Dawei Li ve ark., 2014). Beş farklı deney parametresinin kullanıldığı PCL elektron eğirme tekniğinde solvent sistemi, polimer konsantrasyonu ve akış hızı sabit tutulmuştur. Buna rağmen sadece şırınga pompasının kaplanan düzleme uzaklığının ve iki mesafe arasındaki voltajın değiştirilmesiyle bile önemli farklılıklar

gözlenmiştir. Şekil 3.2’de beş farklı gruptan elde edilen malzemelerin taramalı elektron mikroskobundan elde edilen görüntüleri verilmiştir. Bu görüntülerden elde edilen sonuçlara bakıldığında hem uygulanan voltaj hem de uzaklığın fiber kalınlık, gevşeklik ve homojeniteye etkisi olduğu yorumu yapılabilir. Şöyle ki, 15 cm uzaklıkla farklı voltaj uygulanan 1 ve 2 nolu gruplar (Şekil 3.2 (a-d)), yine 15 cm uzaklıktan daha yüksek voltaj (17 kV) uygulanan 3 nolu gruba (Şekil 3.2e ve f) göre hem daha kalın hem de daha gevşek fiber yapıları ortaya koymuştur. Bunun yanında 17 kV gerilimin sabit tutulup uzaklığın 1,5 cm arttırıldığı 4 numaralı deney grubunda (Şekil 3.2g ve h) ise 3 numaralı deney grubuna yakın özellikte fiberler elde edilmiştir. Uzaklığın 4 numarada olduğu gibi tutulup 15 kV gerilimin uygulandığı 5 numaralı deney grubu (Şekil 3.2i ve j) ise bütün gruplar içerisinde en heterojen grubu oluşturmuştur. Şekil 3.2i ve j’de görüldüğü üzere ince ve gergin fiberler yanı sıra tabaka tabaka kalın ve gevşek fiberler de göze çarpmaktadır.

Tablo 3.2 image-J programından elde edilen istatistiki analiz sonuçlarını içermektedir. Vurgulanması gereken en önemli nokta fiber kalınlık ortalamaları ve homojenite hakkında bilgilendirme kriterinde olan standart hata payıdır. En kalın fiberlerin taramalı elektron mikroskobu görüntülerinden 5 numaralı grupta gözlenmesiyle beraber ortalama olarak en kalın fiberlerin 1 numaralı deney grubuna ait olduğu hesaplanmıştır. 2 numaralı deney grubuna ait fiberler ise 1,4245 micronla kalınlık sıralamasında ikinci sırada yer almıştır. 3, 4 ve 5 numaralı gruplara ait materyaller birbirine çok yakın sonuçlar vermiştir. Bununla beraber 5 numaralı gruba ait standart sapma 3 ve 4 numaralı grupla karşılaştırıldığında beklenildiği üzere yaklaşık üç katı fazla bulunmuştur. Standart hataları kabul edilebilir boyutta olduğu için taramalı elektron mikroskobu görüntülerinden elde edilen bu detaylı veriler çok daha güvenilirdir. Yine ortanca değerlerini incelediğimizde SEM görüntülerinden elde edilen verilerle uyumlu olarak en heterojen yapının 5 numaralı deney parametrelerine ait olduğu görülmektedir. 2, 3 ve 4 numaralı deney gruplarına ait örnekler ise mükemmele yakın homojenite göstermiş olup, 1 numaralı deney grubuna ait örnekler iyi derecede homojeniteye sahiptir. Doku mühendisliği uygulamalarında ilk etapta hücrelerin, sonraki aşamalarda ise oluşmaya başlayan dokunun gelişimi içerisinde büyüdüğü hücre dışı matriks materyali ve mikro/makro yapısıyla doğrudan ilişkilidir.



Şekil 3.2. Her bir deney parametresi için iki farklı büyütmeyle (yan yana) taramalı electron mikroskop görüntüsü: (a, b) 1, (c, d) 2, (e, f) 3, (g, h) 4 ve (i, j) 5 numaralı (Tablo 3.1'e göre) deney parametreleri.

Tablo 3.2. Fiber kalınlıklarıyla ilgili istatistiki analizler

	1	2	3	4	5
Ortalama	1,8802	1,4245	1,0598	1,0494	1,0574
Standart Hata	0,0699	0,0831	0,0456	0,0587	0,1573
Ortanca	1,9360	1,4220	1,0340	1,0020	0,7140
Kip	1,860	1,0030	0,8770	0,7310	0,5100
Standart Sapma	0,3669	0,4552	0,2498	0,3215	0,8617
Örnek Varyans	0,1346	0,2073	0,0624	0,1034	0,7426
Basıklık	0,5754	2,1369	1,0308	2,5236	6,1696
Çarpıklık	0,0212	0,8559	0,0859	1,1699	2,4000
Aralık	1,6980	2,2930	0,8720	1,6080	3,8390
En Büyük	1,1090	0,5730	0,6540	0,4390	0,4080
En Küçük	2,8070	2,8660	1,5260	2,0470	4,2470
Toplam	56,4060	42,7350	31,7940	31,4820	31,7220
Sayı	30	30	30	30	30
Güvenirlilik Düzeyi (%95)	0,1370	0,1699	0,0933	0,1200	0,3217

Nanofiberlerin oluşturduğu ağısı yapı vücutta bulunan doğal hücre dışı matriks yapısıyla benzerdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda doku rejenerasyonu için hem en ince fiber kalınlığı hem de en iyi homojeniteye sahip grup olan 4 numaralı gruba ait parametreler, bundan sonraki materyal üretiminde kullanılması daha sonraki aşamalarda yapılan hücre deneylerinde avantaj sağlayacağı düşüncesiyle kullanılmıştır.

3.3. Nanokompozit Hazırlama

Ağırlıkça farklı yüzdelerde (ağırlıkça %5, 10, 15 ve 20 oranlarında) çinko ve demir nanopartiküller PCL çözünmüş matriks içerisine eklenerek homojen dağılımı sağlamak ve aglomerasyonu önlemek amacıyla sonikasyona tabi tutulmuştur. Sonikasyon esnasında ortaya çıkan ısıdan kompozisyonun olumsuz etkilenmesini önlemek amacıyla buz banyosu kullanılmıştır. İki plaka arası uzaklık değeri 16,5 cm tutulmuş olup gerilim 17 kV ve 1 mL/sa akış hızıyla PCL nanofiber elde etme yönteminde olduğu gibi kompozit solüsyon elektron-eğirme sistemiyle cihazın

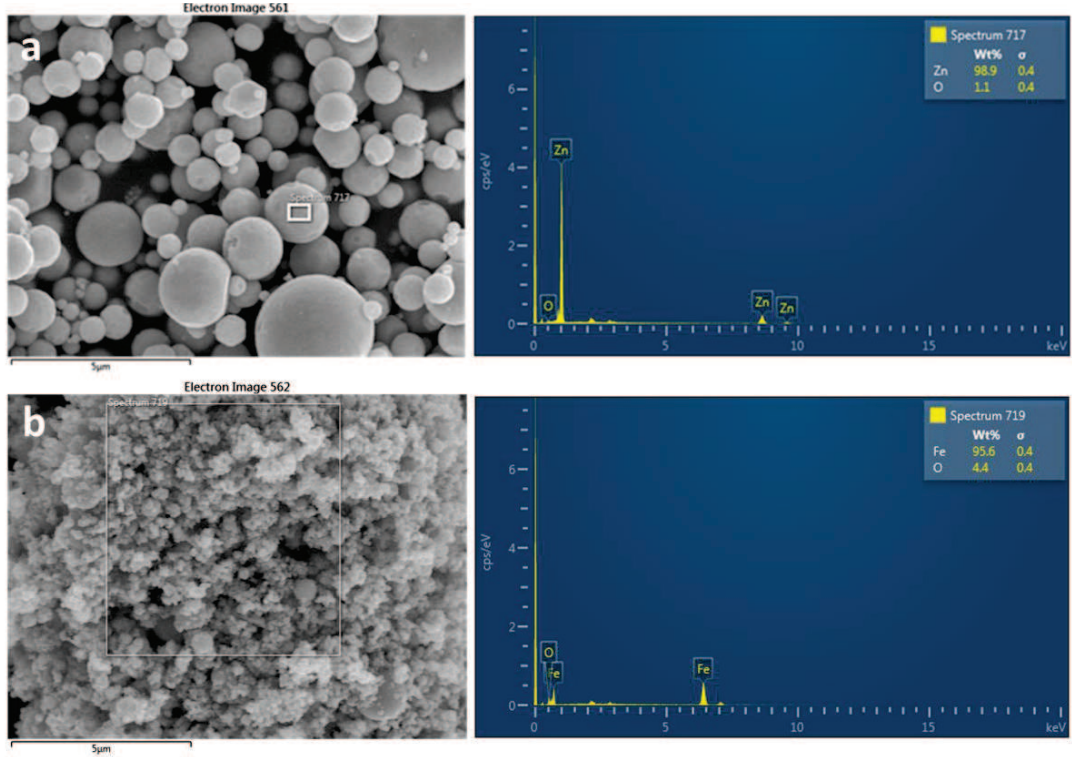
toplama havzasında toplanmıştır. Toplanan materyal işlem bittikten sonra film şeklinde alimünyum yüzeyden ayrıştırılmış ve sonraki karakterizasyonlar için uygun şekil ve boyutta kesilmiştir. Çalışma için üretilen tüm materyallerin kodları ve açıklamalarına Tablo 3.3'te yer verilmiştir.

Tablo 3.3. Örnek kodları ve açıklamaları

Örnek	Açıklama
PCL	Polikaprolakton nanofiber matriks
PCL/Zn5	%5 Zn nanopartikül içeren polikaprolakton kompozit nanofiber matriks
PCL/Zn10	%10 Zn nanopartikül içeren polikaprolakton kompozit nanofiber matriks
PCL/Zn15	%15 Zn nanopartikül içeren polikaprolakton kompozit nanofiber matriks
PCL/Zn20	%20 Zn nanopartikül içeren polikaprolakton kompozit nanofiber matriks
PCL/Fe5	%5 Fe nanopartikül içeren polikaprolakton kompozit nanofiber matriks
PCL/Fe10	%10 Fe nanopartikül içeren polikaprolakton kompozit nanofiber matriks
PCL/Fe15	%15 Fe nanopartikül içeren polikaprolakton kompozit nanofiber matriks
PCL/Fe20	%20 Fe nanopartikül içeren polikaprolakton kompozit nanofiber matriks

3.3.1. Kompozit materyallerin karakterizasyonu

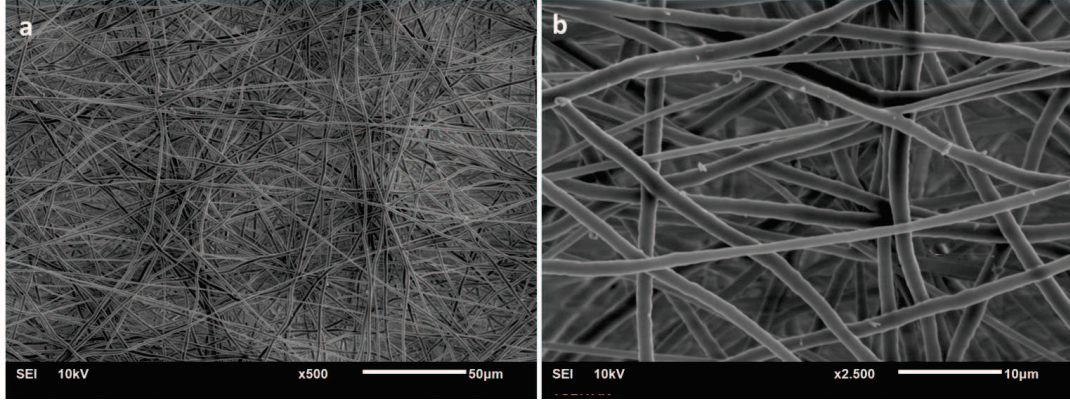
Farklı konsantrasyon kullanılarak metal nanopartikül içeren nanofiberler elde edilmiştir. Kullanılan iletken nanoparçacıklar demir (Fe) ve çinko (Zn) olup, demir üretici firmanın verdiği bilgiler doğrultusunda Fe nanopartiküller 60-80 nm, Zn nanopartiküller ise <50 nm büyüklüğündedirler. Şekil 3.3a Zn ve şekil 3.3b Fe nanopartiküllerin morfolojik görüntüleriyle bu görüntülerden seçilen noktadan yapılan enerji dağılımlı X-ray spektroskopi (EDX) analizi vermektedir. Gerek Zn gerekse Fe nanopartikülleri üretici firmanın da beyan ettiği büyüklüklerde olduğu ve %100'e yakın saflıkta olduğu EDX analizlerinde gözlenmiştir. Zn nanopartikülleri mükemmel bir küre formuna sahipken Fe nanopartiküllerin daha düzensiz morfolojide ve agglomerate eğilimli olduğu gözlenmiştir. EDX analizlerinde metalin kendisi dışında çıkan oksijenin, hem Zn hem de Fe nanopartiküllerin oksidasyona eğilimli metaller olması sebebiyle EDX analizi esnasında meydana gelen oksidasyondan ileri geldiği varsayılmaktadır.



Şekil 3.3. (a) Zn ve (b) Fe nanopartiküllerin elektron mikroskobu görüntüleri ve EDX analizleri (her bir görüntüye ait EDX analizine görüntünün hemen sağında yer verilmiştir).

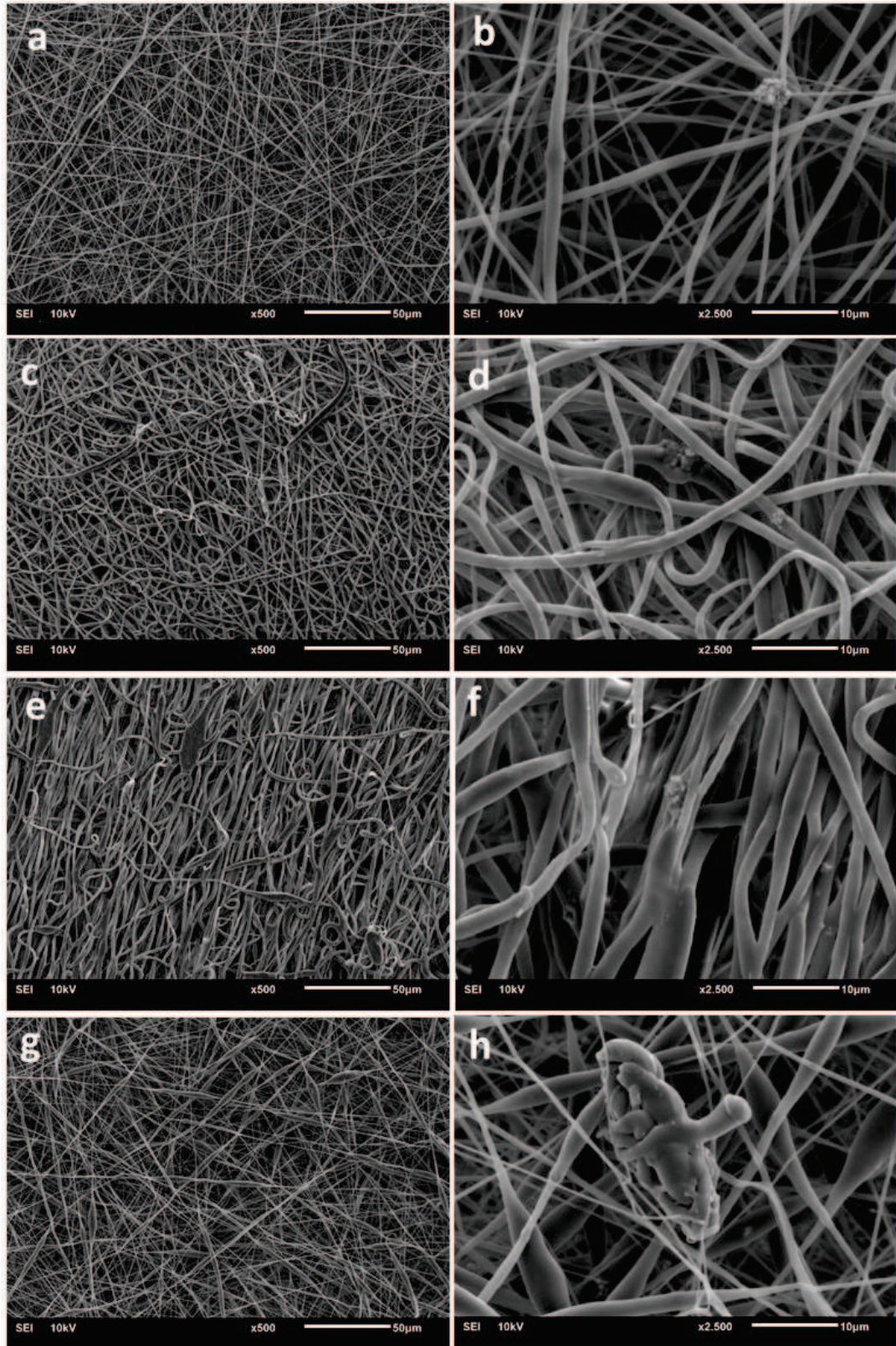
Her iki metal parçacıktan %5, %10, %15 ve %20 oranında (ağırlıkça metal nanopartikül/PCL oranı) nanofiber denemeleri yapılmıştır. PCL nanofiber için en uygun bulunan parametrelerle bu kompozit yapılarda gözlemlenebilir fiber elde edilememiştir. Bu yüzden parametreler değiştirilip uzaklık 16,5 cm kalacak şekilde 20 kV değeri kullanılmıştır. %5, %10, %15 ve %20 Zn ve Fe içeren yapılarla metal nanopartikül içermeyen PCL yapılar aynı parametrelerle başarılı bir şekilde görünür nanofiber demeti elde edilmiştir. Bu aşamadan sonra yapıların taramalı elektron mikroskobuyla morfolojik karakterizasyonu yapılmıştır. Şekil 3.3 ve 3.4 PCL, Zn ve Fe nanopartikül içeren PCL nanofiberlerin taramalı elektron mikroskobu görüntülerini göstermektedir. Şekil 3.4’de görüldüğü üzere Şekil 3.2’de elde edildiği gibi PCL nanofiber yapılar başarıyla elde edilmiştir. Şekil 3.5, farklı oranlarda Fe nanopartikül içeren PCL kompozit nanofiberlerin SEM görüntülerini içermektedir. Yer yer agglomerasyona rastlanılsa da nanofiber formun korunduğu gözlenmiştir. En az Fe nanopartikül içeren PCL/Fe5 örneği homojen bir dağılım ve en ince nanofiber içerirken, Fe nanopartikülün kompozisyon içerisindeki oranı arttıkça daha kalın nanofiberlerin oluştuğu ve bu fiberlerin birbirlerine yer yer yapıştığı gözlenmiştir.

Aynı şekilde Fe nanopartikül oranı arttıkça nanofiberlerde yer yer baloncuk oluşumu da gözlenmiştir.

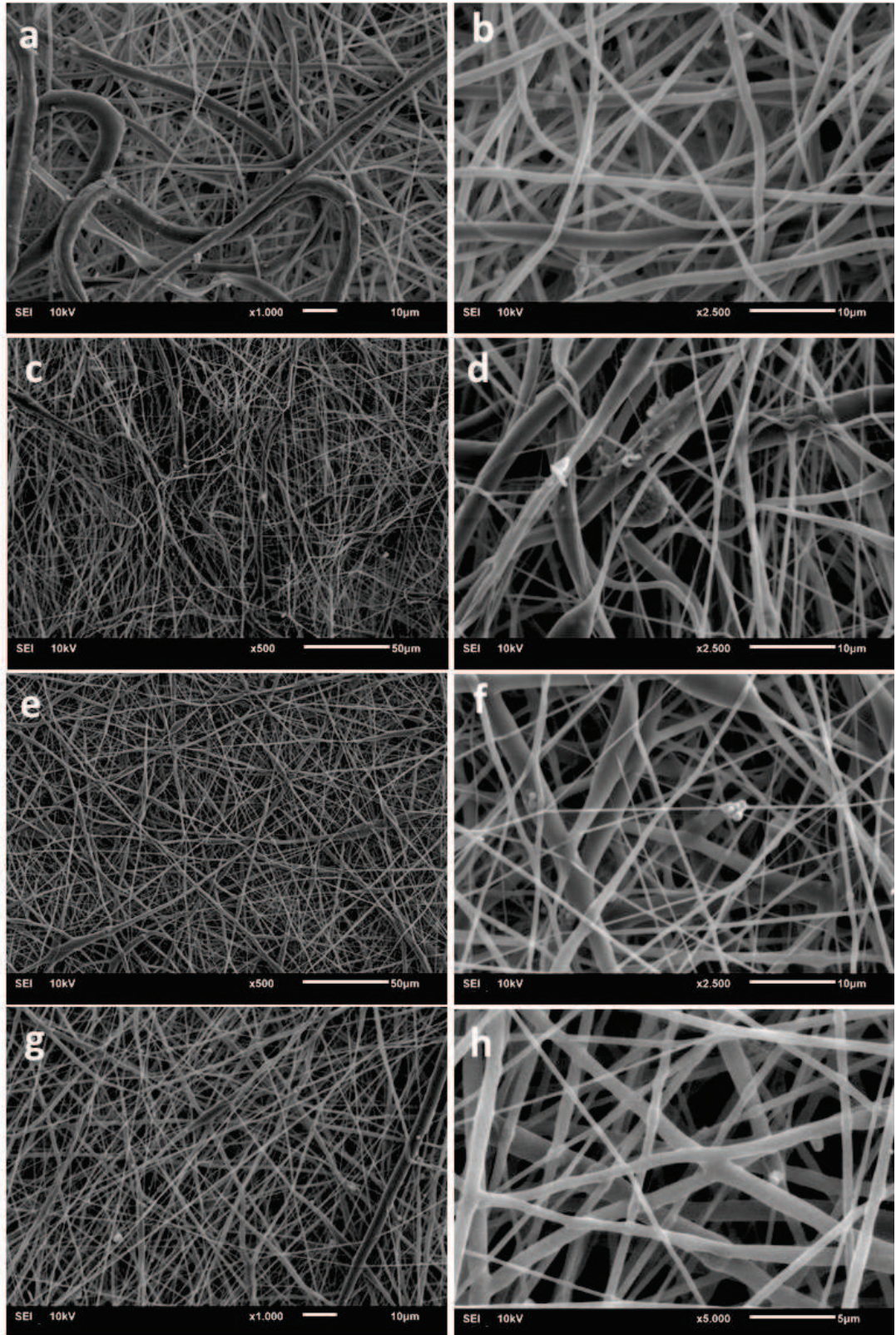


Şekil 3.4. Uzaklık 16,5 cm ve gerilim 20 kV kullanılarak üretilen PCL nanofiberlerin SEM görüntüleri: (a) x500 ve (b) x2500 büyütmede çekilmiş görüntüleri temsil etmektedir.

Şekil 3.6’da ise farklı oranlarda Zn nanopartikül içeren PCL nanofiberlerin SEM görüntülerine yer verilmiştir. Fe nanopartikül içeren örneklerde olduğu gibi en düşük Zn nanopartikül içeren PCL kompozisyonu en ince ve homojen nanofiberlerin üretilmesini sağlamıştır. Bununla beraber, Fe içeren kompozisyonlardan farklı olarak, Zn nanopartikül oranı arttıkça doğru orantılı olarak nanofiberlerin homojenitesi bozulmadığı söylenebilir. Şekil 3.5e ve f’de, daha az Zn oranı içeren şekil 3.5g ve h’den farklı olarak daha az agglomerasyon ve fiberlerin birbirlerine yapışması gözlenmiştir. Hem Fe hem de Zn nanopartiküller içeren PCL nanofiber yapılarında yer yer birleşme görülmesi elektrik alanı içerisinde oluşan fiberlerde olağan bir durum olarak yorumlanmıştır (Şekil 3.5 ve 3.6). Hem Zn hem de Fe nanopartikül dolgu maddeleri oldukça iletken yapıya sahiptir. Elektron-eğirme alanındaki gerilim nanofiber oluşturma amacıyla yerleştirilen kompozisyonun iletkenliğine bağlı olarak nanofiber oluşumuna ve morfolojiye doğrudan etki eder. Oranların arttırılmasıyla iletkenlik artacaktır fakat söz konusu durumda bir parametre daha nanofiber oluşumu ve morfolojiyi etkilemektedir. Bu parametre akışkanlıktır.



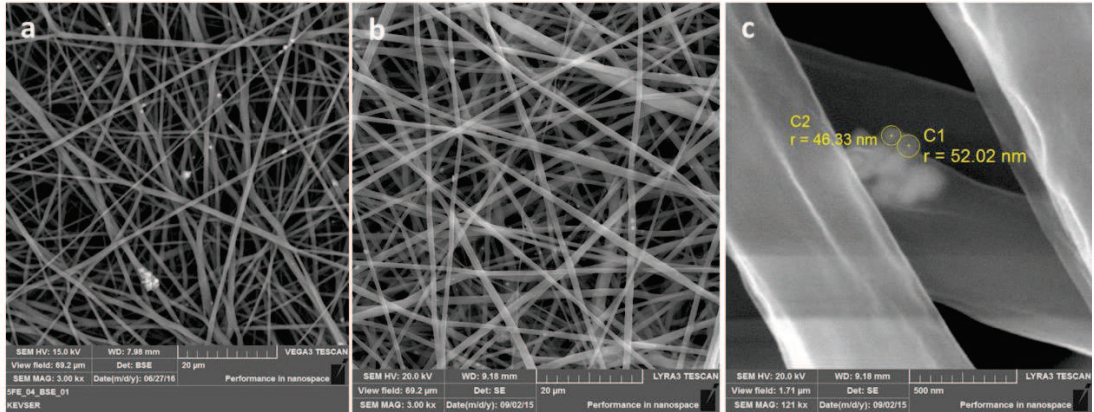
Şekil 3.5. (a ve b) PCL/Fe5, (c ve d) PCL/Fe10, (e ve f) PCL/Fe15 ve (g ve h) PCL/Fe20 nanofiberlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.



Şekil 3.6. (a ve b) PCL/Zn5, (c ve d) PCL/Zn10, (e ve f) PCL/Zn15 ve (g ve h) PCL/Zn20 nanofiberlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.

Genel olarak içerikte hiçbir dolgu maddesi bulunmayan polimer çözeltilerinin sadece konsantrasyonunu değiştirerek akışkanlığın nanofiber oluşturmaya etkisinin incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır. Akışkanlık iletkenlikle beraber nanofiber morfolojisi üzerinde etkin rol oynar. Ne var ki bu çalışmada her ikisi aynı anda değiştiği için bu parametreleri kontrol etmek ve bunların üzerinde yorum yapmak oldukça zordur. Bunun yanında genel olarak Şekil 3.5 ve 3.6'daki tüm SEM görüntülerine bakıldığında içeriğinde bulunan metal nanopartiküllerin ve oranlarının nanofiber oluşumunu engellemediği görülmüştür.

Şekil 3.7, %10 oranında metal nanopartikül içeren örneklerden rastgele seçilen görüntülerdir. Görüntüler taramalı elektron mikroskobundan alınmıştır. Görüntülerde parlak noktaların metal nanopartikül olduğu anlaşılmaktadır. Metal nano parçacıkların kompozit yapı içerisine homojen dağıldığı görülmektedir (Şekil 3.7a ve b). Şekil 3.7c'de görüldüğü üzere ilgili parlak noktaya yaklaşıldığında nanoparçacıkların toplandığı adacıkları görmek mümkün olmuştur. Bu parçacıkların çapları ölçüldüğünde nanoparçacıkların daha önce belirlenen boyutlarıyla uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 3.7. (a) PCL/Zn10, (b) PCL/Fe10, (c) PCL/Fe10 örneklerinin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri.

3.3.2. Kompozit materyallerin mekanik karakterizasyonu

Biyomalzemelerin mekanik özelliklerinin, hedef dokunun mekanik özelliklerini karşılaması, doku entegrasyonu ve gelişimi için son derece önemlidir. Bozunur

biyomalzemeler için bu duruma ilaveten bozunma süresince zarar görmüş dokunun yani implantasyon bölgesinin mekanik bütünlüğünü sağlaması önemlidir. Sinir kılavuz kanalları yapı olarak yumuşak dokuyla uyumlu ve dikişle implanta edilebilir mekanik yapıya sahip olmalıdır. Çok sert malzemeler dikişlenemediğinden dolayı uygun olmamaktadır. Bunun yanında çok yumuşak bir yapıda dikiş noktalarından yırtılmaya yol açabilir. Bu çalışmada geliştirilen materyaller çekme testi için literatürde “dog bone” olarak adlandırılan şekilde kesilip 50 Newton yük hücresi bağlı mekanik test cihazıyla (Lloyd Instrument, Fareham, UK) dakikada 10 mm hızla ilerleyen çekme deneyi yapılmıştır. Her bir örneğin kalınlığı kumpasla 5 farklı yerden ölçülüp ortalamaları alınıp cihazın yazılımında ilgili kısma girilmiştir. Her gruptan beş örnek kullanılarak deney sonunda ortalamaları alınmıştır. Nanopartikül içermeyen PCL nanofiber matriks de kontrol grubu olarak çekme deneyine tabi tutulmuştur. Deney sonucunda kopma uzunluğu (% olarak), çekme dayanımı ve modulus değerleri elde edilmiştir.

Tablo 3.4 ve 3.5 sırasıyla Zn ve Fe nanopartikül içeren PCL nanofiber yapıların çekme mekanik özelliklerini listelemektedir. Her tablonun başında karşılaştırma amacıyla metal nanopartikül içermeyen PCL nanofiber matriksin de çekme mekanik özellikleri eklenmiştir. Tablo 3.4’te görüldüğü üzere Zn nanopartikülün PCL matriks yapı içerisinde bulunması kompozisyon içeriğindeki miktara bağlı olarak PCL matriksin çekme mekanik özelliklerini geliştirmiştir. Özellikle %15’e kadar oranda Zn nanopartikül içermesi kopma uzunluğu, modulus değerleri ve çekme dayanımını oldukça arttırmıştır. Bunun yanında, %20 oranında Zn nanopartikül içermesi modulus değerini artırırken çekme dayanımını ve kopma uzunluğunu azaltmıştır. Mekanik özelliklerin en çok arttığı oran %5 olup, Zn nanopartikül miktarı arttıkça mekanik özellikler azalmıştır. PCL/Zn5’e göre azalma gözlemlenmesine rağmen %10 ve %15 oranlarında PCL matriksle karşılaştırıldığında kopma uzunluğu, modulus değeri ve çekme dayanımı olarak PCL’e göre yüksek çıkmıştır. Diğer taraftan PCL matriks içerisine Fe nanopartikül eklenmesi de mekanik açıdan Zn nanopartikül ile benzer bir davranış sergilemiştir (Tablo 3.5). Fe nanopartiküller de matriks içeriğindeki miktara bağlı olarak mekanik özellikleri geliştirmiştir. Zn içeren gruplarda olduğu gibi %5 Fe nanopartikül içeren PCL/Fe5 örneği mekanik açıdan en

yüksek değerlere sahiptir. Zn nanopartiküllerden farklı olarak, Fe içeren gruplarda %20 içerikte bile PCL matrikse göre yüksek çekme mekanik özellikleri elde edilmiştir.

Tablo 3.4. Zn nanopartikül içeren materyallerin mekanik özellikleri

Örnek	% Kopma Uzunluğu	Modulus Değeri (MPa)	Çekme Dayanımı (MPa)
PCL	169,81±35,05	24,1±7,14	14,48±1,06
PCL/Zn5	242,52±33,84	69,96±18,8	25,08±9,96
PCL/Zn10	228,7±32,37	55,63±18,99	18,27±3,89
PCL/Zn15	185,62±43,41	57,29±31,8	16,67±4,03
PCL/Zn20	167,61±38,28	50,01±9,23	11,09±9,33

Tablo 3.5. Fe nanopartikül içeren materyallerin mekanik özellikleri

Örnek	% Kopma Uzunluğu	Modulus Değeri (MPa)	Çekme Dayanımı (MPa)
PCL	169,81±35,05	24,1±7,14	14,48±1,06
PCL/Fe5	243,65±25,04	66,03±11,01	22,26±10,88
PCL/Fe10	221,93±23,21	56,21±18,89	20,93±10,68
PCL/Fe15	262,22±15,80	54,65±11,41	18,64±5,45
PCL/Fe20	186,96±18,74	46,16±11,22	12,02±4,95

Nano boyutta dolgu maddeleri yapı içerisinde mikro boyutlu dolgu maddelerine göre daha iyi uyum sağladığı için mekanik özellikleri daha çok geliştirir. Bu durum ana matriks içerisindeki orana göre değişmektedir. Bunun yanında şüphesiz her yapıda olduğu gibi dolgu maddelerinin yapının bütünlüğünü bozduğu bir sınır vardır. Hem Fe hem de Zn nanopartiküller yaklaşık olarak yakın büyüklüğe sahiptir. Metal nanopartikül içeren PCL kompozit yapılarda nanopartiküllerin homojen bir şekilde dağılmasını sağlamak için PCL solüsyonu içerisinde sonikasyonla dağıtma işlemi uygulanmıştır. Bu prosesle Fe nanopartiküllerin Zn nanopartiküllere göre daha homojen bir dağılım sağladığı sonucuna varılmıştır. Bununla beraber hem Zn hem de Fe nanopartiküllerin yapıya sertlik kazandırdığı ve bunun yanında uzama katsayısını da arttırdığı sonucu çıkmaktadır. Metallerin polimerlere göre sert yapılar olduğu göz önünde bulundurulduğunda bu durum beklenildiği gibidir.

3.3.3. Kompozit materyallerin iletkenlik ölçüm çalışmaları

Malzemeler ölçüme $1 \times 1 \text{ cm}^2$ biçiminde kesilerek hazırlanmıştır. Ölçümden hemen önce vücut sıvısını taklit eden fosfat tampon çözeltisinde (PBS, $\text{pH} = 7,4$) 37°C 'de ortalama 30 dakika bekletilmiştir (Şekil 3.8). Ölçümlerin her biri iki örnek gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerde Hp-Agilent firmasının 4155B parametre analizörü kullanılmıştır. Örneklerin hepsinde aynı temas noktalarının sağlanması için örnekler arasında 8 mm boşluk bulunan bakır yüzeyler üzerine konulmuş ve üzerinden yine iletkenlerle iki taraflı temas sağlanmıştır. Daha sonra bu yapı parametre analizörünün temas uçlarına krokodiller vasıtasıyla bağlanmıştır. Krokodiller tutturulurken hem alttaki bakır plakaya hem de üstteki iletkene temas etmesine özen gösterilmiştir. Cihaz üzerinde gerekli ayar ve programlama yapıp, aşağıda belirtilen gerilim adımlarının her birinin birer seferde alınması sağlanmıştır. Bu ölçümler sonucunda elde edilen değerler grafik olarak çizilmiştir.



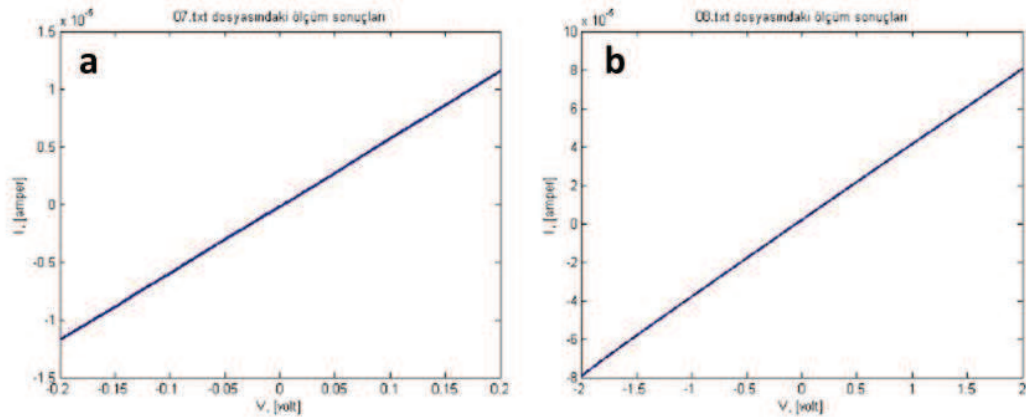
Şekil 3.8. (a) İletkenlik ölçümü için kullanılan cihazın örnek yerleştirme modülü, (b) örneklerin ölçüm öncesi fosfat tampon çözeltisinde bekletilmesi, (c) ölçüm için hazırlanan malzeme.

Ölçümler iki farklı gerilim aralığı kullanılarak yapılmıştır:

–200 mV ile 200 mV arası, 0,5 mV adımlarla (801 değer)

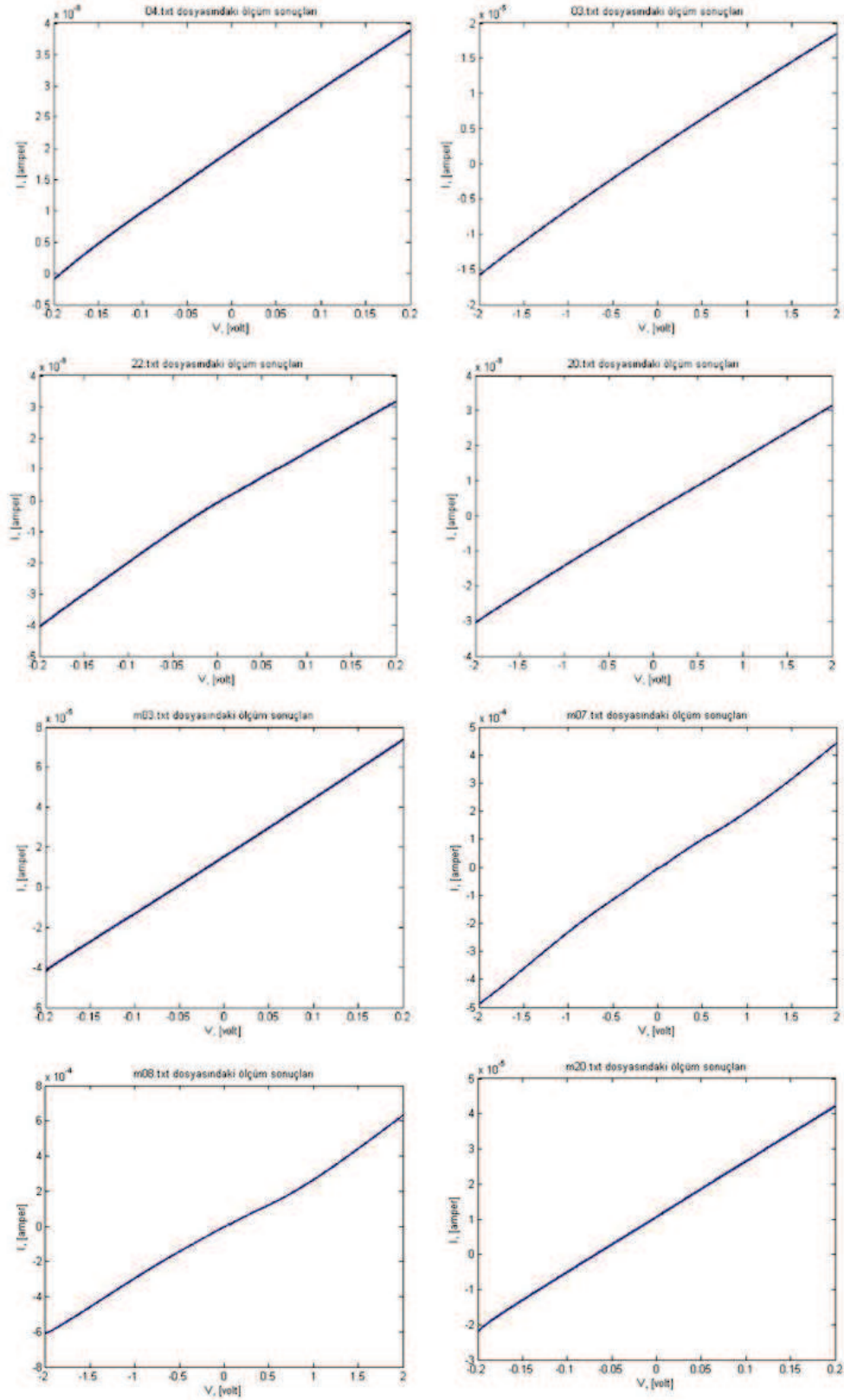
–2 V ile 2 V arası, 10 mV adımlarla (401 değer)

Vücut içerisinde ve dokular arasında çok küçük gerilimler söz konusu olduğu için 200 mV’luk değer seçilmiş, bunun yanında büyük gerilimlerde iletkenlik davranışının değişip değişmediğinin kontrolü amacıyla 2 V’luk değerler kullanılmıştır. Şekil 3.9 PCL nanofiber materyallerinin her iki gerilim aralığında, iki farklı örnekle yapılan iki tekrardan rastgele seçilen gerilime karşı akım grafiklerini göstermektedir. PCL örneklerinin hepsi her iki gerilim aralığında da doğrusal grafikler vermiştir.

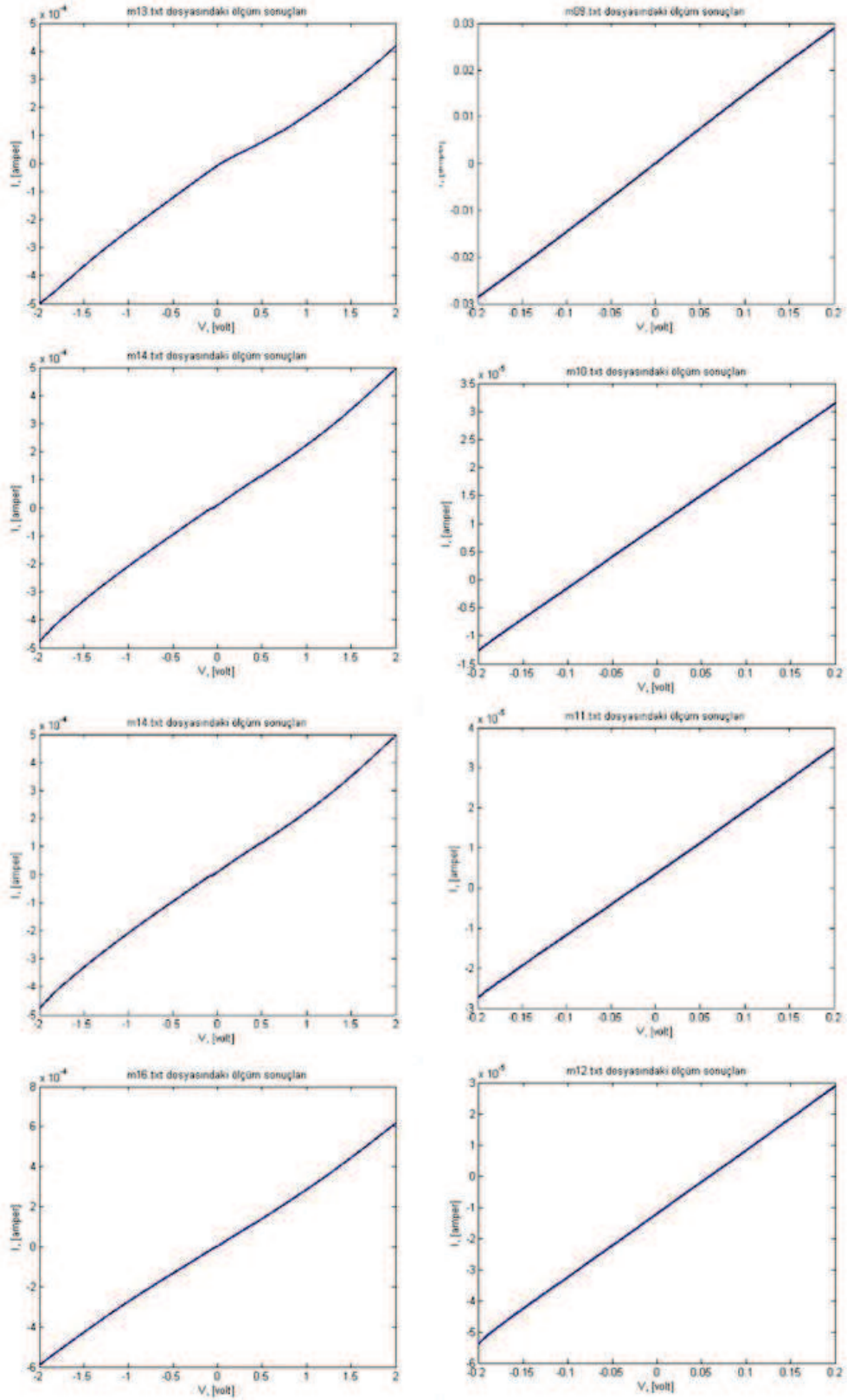


Şekil 3.9. PCL nanofiber materyalinin akıma karşı gerilim grafiği: (a) –200 mV ile 200 mV arası (0,5 mV adımlarla) ve (b) –2 V ile 2 V arası (10 mV adımlarla).

Şekil 3.10 ve 3.11’de ölçüm yapılan iki materyalden biri seçilerek yukarıda belirtilen her iki gerilim aralığında, gerilime karşı akım grafikleri sırasıyla Zn ve Fe içeren nanopartikül için verilmiştir. Tüm kompozit yapılar her iki gerilim aralığında da mükemmel yakın doğrusal grafik vermişlerdir. Hem demir hem de çinko metal olmalarından kaynaklanan doğasında bulunan serbest elektronların hareketi sebebiyle son derece iyi birer iletken olarak bilinmektedir. Bunun yanında malzemelerin nano boyuta indirgenmesiyle davranışlarında değişiklik olması söz konusudur.



Şekil 3.10. Zn nanopartikül içeren PCL nanofiber kompozit materyallerinin akıma karşı gerilim grafiği: (a ve b) PCL/Zn5, (c ve d) PCL/Zn10, (e ve f) PCL/Zn15 ve (g ve h) PCL/Zn20. Sağ sütun -200 mV ile 200 mV arası ($0,5$ mV adımlarla) adımları ve sol sütun -2 V ile 2 V arası (10 mV adımlarla).



Şekil 3.11. Fe nanopartikül içeren PCL nanofiber kompozit materyallerinin akıma karşı gerilim grafiği: (a ve b) PCL/Fe5, (c ve d) PCL/Fe10, (e ve f) PCL/Fe15 ve (g ve h) PCL/Fe20. Sağ sütun -200 mV ile 200 mV arası ($0,5$ mV adımlarla) adımları ve sol sütun -2 V ile 2 V arası (10 mV adımlarla).

Bu çalışmayla iletkenlik ölçümünden önce malzemelerin iletkenliklerinin doğrusal olup olmadıkları teyit edilerek yüksek gerilimlerde olduğu kadar metabolizmaya uygun nispeten küçük gerilimlerde de ölçümler yapılmıştır. Bu sonuçlar da hem PCL'in hem de demir ve çinko nanopartikül içeren kompozit yapıların iletkenliklerinin son derece doğrusal olduğunun göstergesidir.

İkinci aşama olarak her bir kompozit grup ve kontrol grubu olarak nanopartikül içermeyen PCL matriks için iletkenlik ölçümleri yapılmıştır.

İletkenlik için hesaplama şu şekilde yapılmıştır:

$$\gamma = l/(R \times A) \quad (3.1)$$

Burada “l” örneğin uzunluğu, “A” kesit alanı ve “R” ise elektriksel direnci göstermektedir. Rastgele seçilen 10 V'daki değerler için bulunan iletkenlik sonuçları aşağıdaki Tablo 3.6'da verilmiştir:

Tablo 3.6. Kompozit materyallerin iletkenlikleri

Malzeme	Elektriksel İletkenlik (S/cm)
PCL	0,0013
PCL/Zn5	0,0064
PCL/Zn10	0,0233
PCL/Zn15	0,0527
PCL/Zn20	0,0856
PCL/Fe5	0,0041
PCL/Fe10	0,0152
PCL/Fe15	0,0396
PCL/Fe20	0,0741

PCL biyobozunur bir polimer olup elektriksel olarak son derece yalıtkan bir malzemedir. PCL için çıkan iletkenlik sonucu, öncesinde fosfat tampon çözeltisiyle muamele edilmesinden kaynaklanan içeriğine sızmış su ve tuzlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Metal nanopartiküller PCL yapının iletkenliğini miktara bağlı olarak oldukça arttırmıştır. Genel olarak bakıldığında Zn içeren kompozitler Fe

içerenlere göre daha yüksek iletkenlik sonucu vermiştir. Bunun sebebi olarak çinko metalinin demir metalinden daha iletken olması gösterilebilir.

3.4. Biyolojik Değerlendirme

Bu çalışmada sinir dokusu hasarları için kullanılmak üzere biyobozunur ve iletken sinir kılavuz kanalı materyalleri geliştirilmesi üzerinde çalışılmıştır. Bu amaçla PCL yapı içerisine değişen miktarlarda eklenen Zn ve Fe nanopartikülleri nanofiber olarak elektron-eğirme yöntemiyle elde edilmiş, daha sonrasında kimyasal ve fiziksel karakterizasyonları yapılmıştır. Vücut içi uygulamalara uygun olup olmadığının ortaya konması açısından *in vitro* hücre toksisite ve nöron proliferasyon ilişkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgular ile istatistiksel çalışma yapılmıştır. İstatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında ise Friedman Testi, ikili karşılaştırmalarında Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

3.4.1. Sitotoksosite çalışmaları

Laktat dihidrogenaz (LDH) sitotoksosite testi, biyomateryal ile hücrelerin inkübasyonu sonucunda, membran yapısı bozulan hücrelerin içinde bulunan laktat dihidrogenaz enziminin besiyerine karışımını ölçen kolorimetrik bir testtir. Bu çalışmada elektriksel iletkenlik özelliklerin de etkilenmemesi için fibroblast hücreleri kullanılmıştır. Her kuyucuğa 10.000 hücre ekilmiş, 24 saat sonunda 450 nm dalgaboyunda ölçüm gerçekleştirilmiştir. Pozitif kontrol olarak Triton X-100 ile parçalanmış hücreler kullanılmıştır. Zn içeren PCL kompozit nanofiber yapılar için LDH sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri Tablo 3.7’de verilmiştir.

Gruplar arasında 1.gün LDH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p = 0,013$; $p < 0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının

tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL grubunun 1.gün LDH düzeyi, PCL/Zn10, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; p<0,05). PCL grubunun 1. Gün LDH düzeyi ile PCL/Zn5 grubunun 1.gün LDH düzeyi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0,05). PCL/Zn5 grubunun 1. gün LDH düzeyi, PCL/Zn10, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; p<0,05). PCL/Zn10 grubunun 1.gün LDH düzeyi, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; p<0,05). PCL/Zn15 grubunun 1. Gün LDH düzeyi ile PCL/Zn20 grubunun 1.gün LDH düzeyi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0,05).

Tablo 3.7. LDH düzeyine ilişkin çinko içeren materyallerin istatistiki değerlendirmeleri

LDH	PCL Ort±SS	PCL/Zn5 Ort±SS	PCL/Zn10 Ort±SS	PCL/Zn15 Ort±SS	PCL/Zn20 Ort±SS	¹ p
1.gün	0,21±0,17	0,4±0,03	0,6±0,09	1,19±0,17	1,09±0,03	0,013*
3.gün	0,81±0,04	0,87±0,07	0,98±0	1,23±0,05	1,11±0,01	0,011*
5.gün	0,82±0,03	0,86±0,03	1,03±0,04	1,29±0,01	1,23±0,05	0,010*
7.gün	1,37±0,06	0,87±0,07	1,17±0,05	1,3±0,04	1,49±0,22	0,019*
²p	0,029*	0,122	0,029*	0,719	0,029*	

¹ Kruskal Wallis Test

² Friedman Test

* p<0,05

Gruplar arasında 3.gün LDH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,011; p<0,05). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL grubunun 3.gün LDH düzeyi, PCL/Zn10, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; p<0,05). PCL grubunun 3. Gün LDH düzeyi ile PCL/Zn5 grubunun 3.gün LDH düzeyi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0,05). PCL/Zn5 grubunun 3. gün LDH düzeyi, PCL/Zn10, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; p<0,05). PCL/Zn10 grubunun 3.gün LDH düzeyi, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; p<0,05). PCL/Zn20 grubunun 3. Gün LDH düzeyi, PCL/Zn15 grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; p<0,05).

Gruplar arasında 5.gün LDH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,010; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL grubunun 5.gün LDH düzeyi, PCL/Zn10, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL grubunun 5. Gün LDH düzeyi ile PCL/Zn5 grubunun 5.gün LDH düzeyi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). PCL/Zn5 grubunun 5. gün LDH düzeyi, PCL/Zn10, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Zn10 grubunun 5.gün LDH düzeyi, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Zn20 grubunun 5. Gün LDH düzeyi, PCL/Zn15 grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$).

Gruplar arasında 7.gün LDH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,019; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL/Zn5 grubunun 7.gün LDH düzeyi, PCL, PCL/Zn10, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Zn10 grubunun 7.gün LDH düzeyi, PCL, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL grubunun 7. Gün LDH düzeyi ile PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarının 7.gün LDH düzeyi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). PCL/Zn15 grubunun 7. Gün LDH düzeyi ile PCL/Zn20 grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

PLC Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki LDH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,029; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış görülmekle birlikte, görülen bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). PCL/Zn5 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki LDH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). PCL/Zn10 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki LDH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,029; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış

görülmekle birlikte, görülen bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). PCL/Zn15 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki LDH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). PCL/Zn20 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki LDH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p: 0,029$; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış görülmekle birlikte, görülen bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 3.8 ise Fe içeren PCL nanofiber kompozit yapıların LDH sonuçlarını ve bu sonuçlara dair istatistiki bulguları göstermektedir.

Tablo 3.8. LDH düzeyine ilişkin demir içeren materyallerin istatistiki değerlendirmeleri

LDH	PCL Ort $\pm$ SS	PCL/Fe5 Ort $\pm$ SS	PCL/Fe10 Ort $\pm$ SS	PCL/Fe15 Ort $\pm$ SS	PCL/Fe20 Ort $\pm$ SS	¹ p
1.gün	0,21 $\pm$ 0,17	0,24 $\pm$ 0	0,27 $\pm$ 0,03	0,29 $\pm$ 0,07	0,29 $\pm$ 0,08	0,729
3.gün	0,81 $\pm$ 0,04	0,27 $\pm$ 0,06	0,28 $\pm$ 0,04	0,3 $\pm$ 0	0,44 $\pm$ 0,01	0,026*
5.gün	0,82 $\pm$ 0,03	0,39 $\pm$ 0,01	0,34 $\pm$ 0,02	0,35 $\pm$ 0,02	0,42 $\pm$ 0,01	0,011*
7.gün	1,37 $\pm$ 0,06	0,51 $\pm$ 0,08	0,52 $\pm$ 0,03	0,52 $\pm$ 0,03	0,82 $\pm$ 0,11	0,028*
²p	0,029*	0,042*	0,072	0,042*	0,029*	

¹ Kruskal Wallis Test

² Friedman Test

* $p<0,05$

Gruplar arasında 1.gün LDH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p<0,05$). Gruplar arasında 3.gün LDH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p: 0,026$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL/Fe5 grubunun 3.gün LDH düzeyi, PCL ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p: 0,049$; $p<0,05$). PCL/Fe5 grubunun 3.gün LDH düzeyi ile PCL/Fe10 ve PCL/Fe15 grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). PCL/Fe10 grubunun 3.gün LDH düzeyi, PCL ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p: 0,049$; $p<0,05$). PCL/Fe10 grubunun 3.gün LDH düzeyi ile PCL/Fe15 grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). PCL/Fe15 grubunun 3.gün LDH düzeyi, PCL ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur

(p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Fe20 grubunun 3.gün LDH düzeyi, PCL grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p:0,049; $p<0,05$).

Gruplar arasında 5.gün LDH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,011; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL/Fe10 grubunun 5.gün LDH düzeyi, PCL, PCL/Fe5 ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Fe10 grubunun 5. gün LDH düzeyi ile PCL/Fe15 grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). PCL/Fe15 grubunun 5.gün LDH düzeyi, PCL, PCL/Fe5 ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Fe5 grubunun 5.gün LDH düzeyi, PCL ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Fe20 grubunun 5.gün LDH düzeyi, PCL grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p:0,049; $p<0,05$).

Gruplar arasında 7.gün LDH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,028; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL/Fe5 grubunun 7.gün LDH düzeyi, PCL ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Fe5 grubunun 7.gün LDH düzeyi ile PCL/Fe10 ve PCL/Fe15 grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). PCL/Fe10 grubunun 7.gün LDH düzeyi, PCL ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Fe/10 grubunun 7.gün LDH düzeyi ile PCL/Fe15 grubunun 3.gün LDH düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). PCL/Fe/15 grubunun 7.gün LDH düzeyi, PCL ve PCL/Fe/20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p:0,049; $p<0,05$). PCL/Fe/20 grubunun 7.gün LDH düzeyi, PCL grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p:0,049; $p<0,05$).

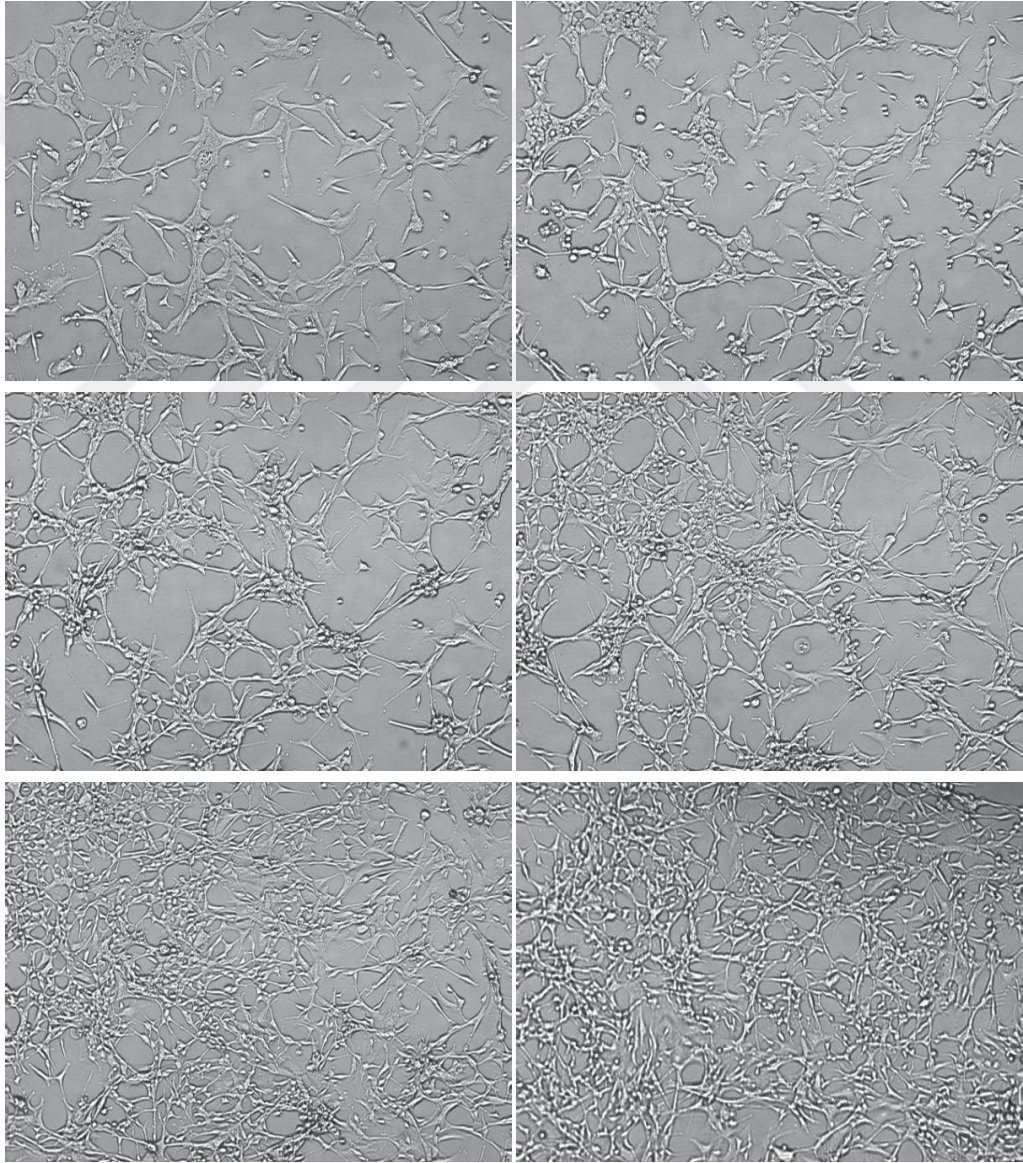
PLC Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve7.günlerdeki LDH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0,029; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış görülmekle birlikte, görülen bu artışlar istatistiksel olarak

anlamli bulunmamıştır ($p>0,05$). PCL/Fe5 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki LDH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamli farklılık bulunmaktadır ($p: 0,042$; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış görölmekle birlikte, görölen bu artışlar istatistiksel olarak anlamli bulunmamıştır ($p>0,05$). PCL/Fe10 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki LDH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamli bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). PCL/Fe15 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki LDH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamli farklılık bulunmaktadır ($p: 0,042$; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış görölmekle birlikte, görölen bu artışlar istatistiksel olarak anlamli bulunmamıştır ($p>0,05$). PCL/Fe20 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki LDH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamli farklılık bulunmaktadır ($p: 0,029$; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış görölmekle birlikte, görölen bu artışlar istatistiksel olarak anlamli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tüm sonuçlar ve istatistiki veriler göz önünde bulundurduğunda bir hafta sonunda çinko içeren örneklerde PCL/Zn5 grubunda diğer kompozit yapılara göre en az hücre ölümlü gerçekleştiği görölmüştür. Bunun yanında bu grup nanopartikül içermeyen PCL nanofiber matrikse göre bile daha az toksik çıkmıştır. Bunun sebebinin Zn nanopartikülünden açığa çıkan ve hücre ortamına karışan çinko iyonlarının katalizör etkisi olduğu düşünölmektedir. Aynı şekilde PCL/Zn10 materyali de kontrol grubu olan PCL materyaline göre daha az toksik çıkmıştır. Zn nanopartikül oranı arttıkça toksisite de artmış olmasına rağmen PCL grubuyla karşılaştırıldığında toksisitelerinin oldukça düşük olduğu görölmüştür. Demir içelikli biyomateryal gruplarında da çinko içeren yapılarla benzer bir durumun ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Bir hafta sonunda PCL/Fe5, PCL/Fe10 ve PCL/Fe15 gruplarının hücre ölüm oranlarının birbirlerine çok yakın olduğu bulunmuştur. PCL/Fe20 grubunda toksisite artmış, fakat Fe içelik tüm gruplar PCL grubuna göre toksik özellik göstermediği gibi hücrelerin çoğalmasını teşvik etmiştir. Bu durumun Zn’de oluşu gibi Fe nanopartiküllerinden hücre ortamına salınan demir iyonlarının katalizör etkisi göstererek hücre çoğalmasını teşvik ettiği düşünölmektedir.

3.4.2. Nöron materyal ilişkisi

Çalışmanın bu bölümünde bir önceki bölümden farklı olarak materyallerin elektriksel iletkenliklerinin nöron hücreleri üzerinde etkileri incelenmiştir. U87 hücre hattı hem nöron özelliği taşıdığı hem de nispeten diğer nöron tiplerine göre daha hızlı çoğaldığı için tercih edilmiştir. Şekil 3.12 farklı pasajlama zamanlarında hücrelerin ışık mikroskobu altında görüntülerini göstermektedir. Görüldüğü üzere hücreler nöron karakteristik morfolojisine sahip olup hızlı bir çoğalma göstermiştir.



Şekil 3.12. Nöroglioblastoma hücrelerinin pasajlama esnasında 1. hafta (a, b), 2. hafta (c, d) ve 3. hafta (e, f) ışık mikroskobu görüntüleri.

MTS testi canlı hücrelerin metabolik aktivitesi sonucu oluşan formazan bileşiklerinin, 490 nm dalgaboyunda ölçümüne dayanan kolorimetrik bir testtir. Bu çalışmada her kuyucuğa biyomateriyalin yerleştirilmesini takiben 2.000 hücre ekilmiş, 24 saat sonunda test uygulanmıştır. Kontrol olarak biyomateriyalle kaplı olmayan kuyucuklara ekilen hücreler kullanılmıştır. Tablo 3.9'da MTS sonuçları ve bu sonuçlara ait istatistiki değerlendirmelere yer vermiştir.

Tablo 3.9. MTS düzeyine ilişkin çinko içeren materyallerin istatistiki değerlendirmeleri

MTS	PCL	PCL/Zn5	PCL/Zn10	PCL/Zn15	PCL/Zn20	¹ p
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	
1.gün	1,03±0,01	2,57±0	2,99±0,02	3,35±0,02	2,82±0,07	0,009*
3.gün	2,62±0,01	2,66±0	3,32±0,02	3,78±0,06	2,94±0,02	0,009*
5.gün	2,59±0,01	3,28±0	3,51±0	3,67±0,03	3,10±0,01	0,009*
7.gün	3,03±0	3,45±0,04	3,6±0	3,11±0,04	3,13±0,08	0,012*
²p	0,029*	0,029*	0,029*	0,029*	0,042*	

¹ Kruskal Wallis Test

² Friedman Test

* p<0,05

Gruplar arasında 1.gün MTS düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,009; p<0,05). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL grubunun 1.gün MTS düzeyi, PCL/Zn5, PCL/Zn10, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; p<0,05). PCL/Zn5 grubunun 1.gün MTS düzeyi, PCL/Zn10, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,046; p<0,05). PCL/Zn20 grubunun 1.gün MTS düzeyi, PCL/Zn10 ve PCL/Zn15 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,046; p<0,05). PCL/Zn10 grubunun 1.gün MTS düzeyi, PCL/Zn15 grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p:0,049; p<0,05).

Gruplar arasında 3.gün MTS düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,009; p<0,05). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL grubunun 3.gün MTS düzeyi, PCL/Zn5, PCL/Zn10, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; p<0,05). PCL/Zn5 grubunun 3.gün MTS düzeyi,

PCL/Zn10, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Zn20 grubunun 3.gün MTS düzeyi, PCL/Zn10 ve PCL/Zn15 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Zn10 grubunun 3.gün MTS düzeyi, PCL/Zn15 grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$).

Gruplar arasında 5.gün MTS düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,009; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL grubunun 5.gün MTS düzeyi, PCL/Zn5, PCL/Zn10, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Zn20 grubunun 5.gün MTS düzeyi, PCL/Zn5, PCL/Zn10 ve PCL/Zn15 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Zn5 grubunun 5.gün MTS düzeyi, PCL/Zn10 ve PCL/Zn15 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Zn10 grubunun 5.gün MTS düzeyi, PCL/Zn15 grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$).

Gruplar arasında 7.gün MTS düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,012; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL grubunun 7.gün MTS düzeyi, PCL/Zn5, PCL/Zn10, PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Zn15 grubunun 7.gün MTS düzeyi, PCL/Zn5 ve PCL/Zn10 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p:0,049; $p<0,05$). PCL/Zn20 grubunun 7.gün MTS düzeyi, PCL/Zn5 ve PCL/Zn10 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p:0,049; $p<0,05$). PCL/Zn5 grubunun 7.gün MTS düzeyi, PCL/Zn10 grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p:0,049; $p<0,05$). PCL/Zn15 ve PCL/Zn20 grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

PLC Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki MTS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,029; $p<0,05$). 3. gün ve 5. gün arasında görülen azalış dışında diğer günler arasında artış görülmekle birlikte,

görülen bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). PCL/Zn5 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki MTS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p: 0,029$; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış görülmekle birlikte, görülen bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). PCL/Zn10 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki MTS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p: 0,029$; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış görülmekle birlikte, görülen bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). PCL/Zn15 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki MTS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,029$; $p<0,05$). 1. günden 3. güne artış görülürken, 3. günden 7. güne kadar azalış görülmekle birlikte, görülen bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). PCL/Zn20 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki MTS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,042$; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış görülmekle birlikte, görülen bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 3.10'da Fe içeren kompozit materyallerin MTS sonuçları ve bu sonuçlara ait istatistiki değerlendirmelerine yer verilmektedir. Gruplar arasında 1.gün MTS düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p: 0,012$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL grubunun 1.gün MTS düzeyi, PCL/Fe5, PCL/Fe10, PCL/Fe15 ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p: 0,049$; $p<0,05$). PCL/Fe5 grubunun 1.gün MTS düzeyi, PCL/Fe10, PCL/Fe15 ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p: 0,049$; $p<0,05$). PCL/Fe20 grubunun 1.gün MTS düzeyi, PCL/Fe10 ve PCL/Fe15 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p: 0,049$; $p<0,05$). PCL/Fe10 grubunun 1. gün MTS düzeyi ile PCL/Fe15 grubunun 1. gün MTS düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p: 0,507$; $p>0,05$).

Tablo 3.10. MTS düzeyine ilişkin demir içeren materyallerin istatistiki değerlendirmeleri

	PCL	PCL/Fe5	PCL/Fe10	PCL/Fe15	PCL/Fe20	
MTS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	¹ p
1.gün	1,03±0,01	2,43±0	3,18±0	3,08±0,15	2,65±0	0,012*
3.gün	2,62±0,01	3,43±0,06	3,61±0,05	3,8±0,01	3,67±0,01	0,010*
5.gün	2,59±0,01	3,45±0,01	3,64±0,04	3,8±0,01	3,83±0,01	0,009*
7.gün	3,03±0	3,56±0	3,92±0	3,94±0,02	3,97±0,01	0,011*
²p	0,029*	0,042*	0,042*	0,042*	0,029*	

¹ Kruskal Wallis Test² Friedman Test* $p < 0.05$

Gruplar arasında 3.gün MTS düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,010; $p < 0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL grubunun 3.gün MTS düzeyi, PCL/Fe5, PCL/Fe10, PCL/Fe15 ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p < 0,05$). PCL/Fe5 grubunun 3.gün MTS düzeyi, PCL/Fe10, PCL/Fe15 ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p < 0,05$). PCL/Fe15 grubunun 3.gün MTS düzeyi, PCL/Fe10 ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p: 0,049; $p < 0,05$). PCL/Fe10 ve PCL/Fe20 gruplarının 3.gün MTS düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p: 0,077; $p > 0,05$).

Gruplar arasında 5.gün MTS düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,009; $p < 0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL grubunun 5.gün MTS düzeyi, PCL/Fe5, PCL/Fe10, PCL/Fe15 ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p < 0,05$). PCL/Fe5 grubunun 5.gün MTS düzeyi, PCL/Fe10, PCL/Fe15 ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p < 0,05$). PCL/Fe10 grubunun 5.gün MTS düzeyi, PCL/Fe15 ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p < 0,05$). PCL/Fe15 grubunun 5.gün MTS düzeyi, PCL/Fe20 grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p < 0,05$).

Gruplar arasında 7.gün MTS düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,011; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda; PCL grubunun 7.gün MTS düzeyi, PCL/Fe5, PCL/Fe10, PCL/Fe15 ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). Fe%5 grubunun 7.gün MTS düzeyi, PCL/Fe10, PCL/Fe15 ve PCL/Fe20 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Fe20 grubunun 7.gün MTS düzeyi, PCL/Fe10 ve PCL/Fe15 gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p: 0,049; $p<0,05$). PCL/Fe10 ve PCL/Fe15 gruplarının 7.gün MTS düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p: 0,184; $p>0,05$).

PLC Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki MTS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,029; $p<0,05$). 3. gün ve 5. gün arasında görülen azalış dışında diğer günler arasında artış görülmekle birlikte, görülen bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

PCL/Fe5 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki MTS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,042; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış görülmekle birlikte, görülen bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). PCL/Fe10 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki MTS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,042; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış görülmekle birlikte, görülen bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). PCL/Fe%15 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki MTS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,042; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış görülmekle birlikte, görülen bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). PCL/Fe20 Grubunda; 1.gün, 3.gün, 5.gün ve 7.günlerdeki MTS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,029; $p<0,05$). Her bir gün için bir önceki güne göre artış görülmekle birlikte, görülen bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Sonuç olarak bir hafta sonundaki değerlere bakıldığında hücre proliferasyonunun metal nanopartiküllerin eklenmesiyle teşvik edildiği ortaya çıkmıştır. Zn grubu içerisinde en iyi proliferasyonu destekleyen grup PCL/Zn5, Fe grubu içerisinde PCL/Fe5'tir. Metal nanopartikül değerleri arttıkça proliferasyon devam etmiş fakat teşvik oranı %5 nanopartikül içeren gruplara göre azalmıştır.



BÖLÜM 4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu çalışmada çinko ve demir olmak üzere iki farklı metal nanopartikül değişen oranlarda kullanılarak PCL matriks içerisinde elektroneğirme yöntemiyle nanofiber olarak işlenerek sinir dokusu için rejeneratif tıpta kullanılmak üzere biyobozunur matriksler elde edilmiştir. Üretilen malzemelerin özellikle iletkenlik özelliğinden dolayı sinir dokusunun yenilenmesi ve içeriğindeki metallerin biyobozunur özellikli olmasından dolayı uzun vadede vücut içerisinde toksik bir etkiye sebep olmayacağı öngörülmüştür. Materyalin fonksiyonelliğine değer katacak olan metal nanopartiküllerle düzgün morfolojik yapıda nanokompozit elde edilmiş ve nanopartiküllerin kompozit yapı içerisine dağılımı taramalı elektron mikroskopuyla gözlemlenmiştir. SEM görüntülerinden elde edilen EDX analizlerinden metal nanopartiküllerin homojen bir dağılıma sahip olduğu fakat bir miktar aglomerasyon olduğu gözlenmiştir. Mekanik deneyler, metal nanopartiküllerin PCL matriksin sertlik ve dayanımını arttırdığını ortaya koymuştur. Farklı gerilim değerleri altında iletkenlik ölçümleri gerçekleştirilmiş olup malzemelerin değişen gerilimlerde doğrusal iletkenlik gösterdikleri sonucu ortaya çıkmıştır. Malzemelerle yapılan hücre toksisite çalışmalarında malzemelerin herhangi bir toksikolojik etkiye sahip olmadıkları gibi tam tersine fibroblast hücrelerinin çoğalmasını destekleyici özellikte olduğu bulgusu elde edilmiştir. Nöron özellikli hücrelerle yapılan araştırmalarda ise malzemelerin içeriğindeki orana bağlı olarak proliferatif etkisi olduğu ortaya konmuştur. Çinko nanopartikül içeren PCL nanokompozit yapılar demir nanopartikül içeren yapılara göre fibroblastlar üzerinde daha çok proliferatif etki gösterdiği için çinko nanopartiküllerin biyomalzeme kullanımında öncelik verilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Nöroglial hücreler üzerinde çoğalma etkisine bakılarak %10 çinko nanopartikül içeren nanokompozit yapının sinir rejenerasyonu materyali için en uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Alluin, O., Wittmann, C., Marqueste T. 2009. Functional recovery after peripheral nerve injury and implantation of a collagen guide. *Biomaterials*, 30, 3, 363–373.
- Ashley, W. W., Weatherly, Jr. T., Park, T. S. 2006. Collagen nerve guides for surgical repair of brachial plexus birth injury. *Journal of Neurosurgery*, 105, 452–456.
- Aydemir Sezer, U., Ozturk, K., Aru, B., Yanikkaya Demirel., G., Sezer, S., Bozkurt, M. R. 2017. Zero valent zinc nanoparticles promote neuroglial cell proliferation: A biodegradable and conductive filler candidate for nerve regeneration. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 28, 1-11.
- Bender, M. D., Bennett, J. M., Waddell, R. L., Doctor, J. S., Marra, K. G. 2004. Multi-channeled biodegradable polymer/CultiSpher composite nerve guides. *Biomaterials*, 25, 7-8, 1269–1278.
- Bertlev, M. J., Meek, M. F., Nicolai, J. P. 2005. A prospective clinical evaluation of biodegradable Neurolac nerve guides for sensory nerve repair in the hand. *Journal of Hand Surgery*, 30, 513–518.
- Bini, T. B., Gao, S., Tan, T. C. 2004a. Electrospun poly(l-lactide-co-glycolide) biodegradable polymer nanofibre tubes for peripheral nerve regeneration. *Nanotechnology*, 15, 11, 1459–1464.
- Bini, T. B., Gao, S., Xu, X., Wang, S., Ramakrishna, S., Leong, K. W. 2004b. Peripheral nerve regeneration by microbraided poly(l-lactide-co-glycolide) biodegradable polymer fibers. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 68, 2, 286–295.
- Boland, E. D., Wnek, G. E., Simpson, D. G., Pawlowski, K. J., Bowlin, G. L. 2001. Tailoring tissue engineering scaffolds using electrostatic processing techniques: a study of poly(glycolic acid) electrospinning. *Journal of Macromolecular Science Pure Applied Chemistry*, A38, 1231.
- Chang, J. Y., Lin, J. H., Yao, C. H., Chen, J. H., Lai, T. Y., Chen, Y. S. 2007b. In vivo evaluation of a biodegradable EDC/NHSCross-linked gelatin peripheral nerve guide conduit material. *Macromolecular Bioscience*, 7, 500–507.
- Chang, J. Y., Lin, J. Y., Yao, C. H., Chen, J. H., Lai, T. Y., Chen, Y. S. 2007a. In vivo evaluation of a biodegradable EDC/NHSCross-linked gelatin peripheral nerve guide conduit material. *Macromolecular Bioscience*, 7, 4, 500–507.

- Chao, T. I., Xiang, S., Chen, C. S., Chin, W. C., Nelson, A. J., Wang, C., Lu, J. 2009. Carbon nanotubes promote neuron differentiation from human embryonic stem cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 384, 426-430.
- Chen, Y. S., Chang, J. Y., Cheng, c. Y., Tsai, F. J., Yao, C. H., Liu, B. S. 2005. An in vivo evaluation of a biodegradable genipincross- linked gelatin peripheral nerve guide conduit material. *Biomaterials*, 26, 18, 3911–3918.
- Chiu, D. T. W. , Janecka, I., Krizek, T. 1982. Autogenous vein graft as a conduit for nerve regeneration. *Surgery*, 91 (2), 226-33.
- De Ruiter, G. C., Onyeneho, I. A., Liang, E. T. 2008. Methods for in vitro characterization of multichannel nerve tubes. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 84, 3, 643–651.
- Evans, G. R. 2000. Challenges to nerve regeneration. *Seminars in Surgical Oncology*, 19, 312–318.
- Foramitti, C. 1904. Zur Technik der nervennaht. *Arschivium Klinik Chirurgie*. 73, 643-648.
- Gluck, T. 1880. Uber neuroplastik auf dem weg der transplantation. *Archivivium Klinik Chirurgie*, 25, 606-616.
- He, L., Zhang, Y., Zeng, C. 2009. Manufacture of PLGA multiple-channel conduits with precise hierarchical pore architectures and in vitro/vivo evaluation for spinal cord injury. *Tissue Engineering Part C*, 15, 2, 243–255.
- Hsu, S. H., Chan, S. H., Chiang, C. M., Chen, C. C-C., Jiang, C. F. 2011. Peripheral nerve regeneration using a microporous polylactic acid asymmetric conduit in a rabbit long-gap sciatic nerve transection model. *Biomaterials*, 32, 3764-3775.
- Hsu, S. H., Kuo, W. C., Chen, Y. T., Yen, C. T., Chen, Y. F., Chen, K. S., Huang, W. C., Cheng, H. 2013. New nerve regeneration strategy combining laminin-coated chitosan conduits and stem cell therapy. *Acta Biomaterialia* 9, 6606–6615.
- Huang, Y-C., Hsu, S-H., Kuo, W-C., Chang-Chien, C-L., Cheng, H, Huang, Y-Y. 2011. Effects of laminin-coated carbon nanotube/chitosan fibers on guided neurite growth. *Journal of Biomedical Materials Research Part A Volume 99A*, 1, 86–93.
- Ichihara, S., Inada, Y., Nakamura, T. 2008. Artificial nerve tubes and their application for repair of peripheral nerve injury: an update of current concepts. *Injury, International Journal Care Injured* 39S4, S29–S39.
- Jansen, K., van der Werv, J. F., van Wachem, P. B., Nicolai, J. P., de Leij, L. F., van Luyn, M. J. 2004. A hyaluronan-based nerve guide: In vitro cytotoxicity, subcutaneous tissue reactions, and degradation in the rat. *Biomaterials*, 25, 483–489.
- Keefer, E. W., Botterman, B. R., Romero, M. I., Rossi, A. F., Gross, G. W. 2008. Carbon nanotube coating improves neuronal recordings. *Nature Nanotechnology*, 3, 434–439.

- Kokai, L. E., Ghaznavi, A. M., Marra, K. G. 2010. Incorporation of double-walled microspheres into polymer nerve guides for the sustained delivery of glial cell line-derived neurotrophic factor. *Biomaterials*, 31, 8, 2313–2322.
- Lee, B. K., Ju, Y. M., Cho, J-G., Jackson, J. D., Lee, S. J., Atala, A., Yoo, J. J. 2012. End-to-side neurorrhaphy using an electrospun PCL/collagen nerve conduit for complex peripheral motor nerve regeneration. *Biomaterials*, 33, 9027–9036.
- Lee, S. K., Wolfe, S. W. 2000. Peripheral nerve injury and repair. *Journal of American Academy Orthopedic Surgery* 8, 243–252.
- Li, S. T., Archibald, S. J., Krarup, C., Madison, R. D. 1992. Peripheral nerve repair with collagen conduits. *Clinical Materials*, 9, 3-4, 195–200, 1992.
- Lietz, M., Ullrich, A., Schulte-Eversum, C., Oberhoffner, S., Fricke, C., Muller, H. W., Schlosshauer, B. 2006. Physical and biological performance of a novel block copolymer nerve guide. *Biotechnology Bioengineering*, 93, 99–109.
- Lin, Y-L., Jen, J-C., Hsu, S-H., Chiu, I-M. 2008. Sciatic nerve repair by microgrooved nerve conduits made of chitosan-gold nanocomposites. *Surgical Neurology*, 70, 1:9–1:18.
- Liu, B. S. 2008. Fabrication and evaluation of a biodegradable proanthocyanidin-crosslinked gelatin conduit in peripheral nerve repair. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 87, 4, 1092–1102.
- Lohmeyer, J., Zimmermann, S., Sommer, B., Machens, H. G., Lange, T., Mailander, P. 2007. Bridging peripheral nerve defects by means of nerve conduits. *Chirurg* 78, 142–147.
- Lovat, V., Pantarotto, D., Lagostena, L., Cacciari, B., Grandolfo, M., Righi, M., Spalluto, G., Prato, M., Ballerini, L. 2005. Carbon nanotube substrates boost neuronal electrical signaling. *Nano Letters*, 5, 1107–1110.
- Lu, M. C., Hsiang, S.-W., Lai, T.-Y., Yao, C.-H., Lin, L.-Y., Chen, Y.-S. 2007. Influence of cross-linking degree of a biodegradable genipin-cross-linked gelatin guide on peripheral nerve regeneration. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 18, 7, 843–863.
- Mackinnon, S. E., Dellon, A. L. 1990a. A study of nerve regeneration across synthetic and biologic nerve conduits for nerve gaps up to 5cm in primates. *Journal Reconstruction Microsurgery* 6, 117–121.
- Mackinnon, S. E., Dellon, A. L. 1990b. Clinical nerve reconstruction with bioabsorbable polyglycolic acid tube. *Plastic Reconstruction Surgery*, 85, 419–424.
- Matsumoto, K., Sato, C., Naka, Y., Kitazawa, A., Whitby, R. L. D., Shimizu, N. 2007. Neurite Outgrowths of Neurons with Neurotrophin-Coated Carbon Nanotubes. *Journal of Bioscience and Bioengineering, Japan Vol.* 103, 3, 216–220.
- Mattson, M., Haddon, R., Rao, A. 2000. Molecular functionalization of carbon nanotubes and use as substrates for neuronal growth. *Journal of Molecular Neuroscience*, 14, 175–182.

- Meek, M. F., Coert, J. H. 2002. Clinical Use of Nerve Conduits in Peripheral-Nerve Repair: Review of the Literature *Journal of Reconstructive Microsurgery*, 18, 2, 97–109.
- Molander, H., Olsson, Y., Engkvist, O., Bowald, S., Eriksson, I. 1982. Regeneration of peripheral nerve through a polyglactin tube. *Muscle Nerve*, 5, 54–57.
- Moore, A. M., Kasukurthi, R., Magill, C. K., Farhadi, H. F., Borschel, G. H., Mackinnon, S. E. 2009. Limitations of Conduits in Peripheral Nerve Repairs. *Hand*, 4, 180–186.
- Moore, M. J., Friedman, J. A., Lewellyn, E. B. 2006. Multiplechannel scaffolds to promote spinal cord axon regeneration. *Biomaterials*, 27, 3, 419–429.
- Mosahebi, A., Wiberg, M., Terenghi, G. 2003. Addition of fibronectin to alginate matrix improves peripheral nerve regeneration in tissue-engineered conduits. *Tissue Engineering*, 9, 2, 209–218.
- Murugan, R., Ramakrishna, S. 2006. Nano-Featured Scaffolds for Tissue Engineering: A Review of Spinning Methodologies. *Tissue Engineering*, 12, 3.
- Nguyen-Vu, T. D. B., Chen, H., Alan, M., Cassell, R., Andrews, M., Meyyappan, J. 2006. Vertically aligned carbon nanofiber arrays: an advance toward electrical–neural interfaces. *Small*, 2, 89–94.
- Oh, S. H., Kim, J-H., Song, K. S. 2008. Peripheral nerve regeneration within an asymmetrically porous PLGA/Pluronic F127 nerve guide conduit. *Biomaterials*, 29, 11, 1601–1609.
- Park, J. S., Park, K., Moon, H. T., Woo, D. G., Yang, H. N., Park, K-H. 2009. Electrical Pulsed Stimulation of Surfaces Homogeneously Coated with Gold Nanoparticles to Induce Neurite Outgrowth of PC12 Cells. *Langmuir*, 25, 451–457.
- Paviolo, C., Haycock, J. W., Yong, J., Yuc, A., McArthur, S. L., Stoddart, P. R. 2013. Plasmonic properties of gold nanoparticles can promote neuronal activity. *Procedure of SPIE Vol. 8579 85790C-1-11*.
- Raimondo, S., Nicolino, S., Tos, P., Battiston, B., Giacobini-Robecchi, M. G., Perroteau, I., Geuna, S. 2005. Schwann cell behavior after nerve repair by means of tissue-engineered muscle–vein combined guides. *Journal of Comparative Neurology*, 489, 249–259.
- Schlosshauer, B., Dreesmann, L., Schaller, H. E., Sinis, N. 2006. Synthetic nerve guide implants in humans: A comprehensive survey. *Neurosurgery* 59, 740–748.
- Schlosshauer, B., Muller, E., Schroder, B., Planck, H., Muller, H. W. 2003. Rat Schwann cells in bioresorbable nerve guides to promote and accelerate axonal regeneration. *Brain Research*, 963, 321–326.
- Seckel, B. R., Jones, D., Hekimian, K. J., Wang, K.-K., Chakalis, D. P., Costas, P. D. 1995a. Hyaluronic acid through a new injectable nerve guide delivery system enhances peripheral nerve regeneration in the rat. *Journal of Neuroscience Research*, 40, 3, 318–324.

- Seckel, B. R., Jones, D., Hekimian, K.J. 1995b. Hyaluronic acid through a new injectable nerve guide delivery system enhances peripheral nerve regeneration in the rat. *Journal of Neuroscience Research*, 15, 40(3), 318–324.
- Shahin, K., Doran, P. M. 2011. Improved Seeding of Chondrocytes into Polyglycolic Acid Scaffolds Using Semi-Static and Alginate Loading Methods. *Biotechnology Progress*, 27, 1, 191–200.
- Siemionow, M., Brzezicki, G. 2009. Current Techniques and Concepts In Peripheral Nerve Repair. *International Review of Neurobiology*, 87, 141–172.
- Stanec, S., Stanec, Z. 1998. Reconstruction of upper extremity peripheral nerve injuries with ePTFE conduits. *Journal of Reconstruction Microsurgery* 14, 227–232.
- Strange, F. G. 1947. An operation for nerve pedicle grafting preliminary communication. *British Journal of Surgery* 34, 423–425.
- Sucapane, A., Cellot, G., Prato, M., Giugliano, M., Parpura, V., Ballerini, L. 2009. Interactions Between Cultured Neurons and Carbon Nanotubes: A Nanoneuroscience Vignette. *Journal of Nanoneuroscience*, 1, 1(1), 10–16.
- Suematsu, N. 1989. Tubulation for peripheral nerve gap: its history and possibility. *Microsurgery*, 10, 71–73.
- Sundback, C.A., Shyu, J. Y., Wang, Y. 2005. Biocompatibility analysis of poly(glycerol sebacate) as a nerve guide material. *Biomaterials*, 26, 27, 5454–5464.
- Symeonidis, D., Efthimiou, M., Koukoulis, G., Athanasiou, E., Mamaloudis, I., Tzovaras, G. 2013. Open inguinal hernia repair with the use of polyglycolic acid/trimethylene carbonate absorbable mesh: a critical update of the long-term results. *Hernia*, 17, 1, 85–87.
- Tran, P. A., Zhang, L., Webster, T. J. 2009. Carbon nanofibers and carbon nanotubes in regenerative medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61, 1097–1114.
- Wang, K. K., Nemeth, I., Seckel, B. R., Chakalis-Haley, D. P. 1998. Hyaluronic acid enhances peripheral nerve regeneration in vivo. *Microsurgery*, 18(4), 270–275.
- Wang, W., Itoh, S., Matsuda, A. 2008. Enhanced nerve regeneration through a bilayered chitosan tube: the effect of introduction of glycine spacer into the CYIGSR sequence. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 85, 4, 919–928.
- Wang, X., Hu, W., Cao, Y., Yao, J., Wu, J., Gu, X. 2005. Dog sciatic nerve regeneration across a 30-mm defect bridged by a chitosan/PGA artificial nerve graft. *Brain*, 128, 8, 1897–1910.
- Wang, Y., Ameer, G. A., Sheppard, B. J., Langer, R. 2002. A tough biodegradable elastomer. *Nature Biotechnology*, 20, 6, 602–606.
- Weber, R. A., Breidenbach, W. C., Brown, R. E., Jabaley, M. E., Mass, D. P. 2000. A randomized prospective study of polyglycolic acid conduits for digital nerve reconstruction in humans. *Plastic Reconstruction Surgery*, 106, 1036–1045.

- Weiss, P. 1943. Nerve reunion with sleeves of frozen-dried artery in rabbits, cats, and monkeys. *Experimental Biology and Medicine*, 54, 274–277.
- Wen, X., Tresco, P. A. 2006. Fabrication and characterization of permeable degradable poly(dl-lactide-co-glycolide) (PLGA) hollow fiber phase inversion membranes for use as nerve tract guidance channels. *Biomaterials*, 27, 20, 3800–3809.
- Yang, F., Murugan, R., Wang, S., Ramakrishna, S. 2005. Electrospinning of nano/micro scale poly(L-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering. *Biomaterials*, 26, 2603–2610.
- Yannas, I. V., Zhang, M., Spilker, M. H. 2007. Standardized criterion to analyze and directly compare various materials and models for peripheral nerve regeneration. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 18, 943–966.
- Yano, T., Haro, A., Shikada, Y., Okamoto, T., Maruyama, R., Maehara, Y. 2012. A Unique Method for Repairing Intraoperative Pulmonary Air Leakage with Both Polyglycolic Acid Sheets and Fibrin Glue. *World Journal of Surgery*, 36, 2, 463–467.
- Young, R., Terenghi, C., Wiberg, M. 2002. Poly-3-hydroxybutyrate (PHB): a resorbable conduit for long-gap repair in peripheral nerves. *British Journal of Plastic Surgery*, 55, 3, 235–240.
- Yucel, D., Torun Kose, G., Hasirci, V. 2010. Polyester based nerve guidance conduit design. *Biomaterials*, 31, 1596–1603.
- Lin, Y.-L., Jen, J.-C., Hsu, S.-H., Chiu, I.-M. 2008. Sciatic nerve repair by microgrooved nerve conduits made of chitosan-gold nanocomposites. *Surgical Neurology*, 70, S1:9–S1:18.
- van der Giessen, W.J., Lincoff, A.M., Schwartz, R.S., van Beusekom, H.M., Serruys, P.W., Holmes, D.R. Jr, Ellis, S.G., Topol, E.J. 1996. Marked inflammatory sequelae to implantation of biodegradable and nonbiodegradable polymers in porcine coronary arteries. *Circulation* 94:1690–1697.
- Hermawan, H., Dube, D., Mantovani, D. 2010. Developments in metallic biodegradable stents. *Acta Biomater* 6:1693–1697.
- Hermawan, H., Alamdari, H., Mantovani, D., Dubé, D. 2008. Iron-manganese: new class of degradable metallic biomaterials prepared by powder metallurgy. *Powder Metall* 51:38–45.
- Heublein, B., Rohde, R., Kaese, V., Niemeyer, M., Hartung, W., Haverich, A. 2003. Biocorrosion of magnesium alloys: a new principle in cardiovascular implant technology. *Heart* 89:651–656.
- Levesque, J., Dube, D., Fiset, M., Mantovani, D. 2003. Investigation of corrosion behaviour of magnesium alloy AM60B-F under pseudo-physiological conditions. *Mater Sci Forum* 426–432:521–526.
- Li, Z., Gu, X., Lou, S., Zheng, Y. 2008. The development of binary Mg-Ca alloys for use as biodegradable materials within bones. *Biomaterials* 29:1329–1344.

- Peuster, M., Wohlsein, P., Brugmann, M., Ehlerding, M., Seidler, K., Fink, C., Brauer, H., Fischer, A., Hausdorf, G. 2001. A novel approach to temporary stenting: Degradable cardiovascular stents produced from corrodible metal-results 6–18 months after implantation into New Zealand white rabbits. *Heart* 86:563–569.
- Peuster, M., Hesse, C., Schloo, T., Fink, C., Beerbaum, P., Schnakenburg, C.V. 2006. Long term biocompatibility of a corrodible peripheral iron stent in the porcine descending aorta. *Biomaterials* 27:4955–4962.
- Xin, Y., Liu, C., Zhang, X., Tang, G., Tian, X., Chu, P.K. 2007. Corrosion behavior of biomedical AZ91 magnesium alloy in simulated body fluids. *J Mater Res* 22:2004–2011.
- Zhang, E., Yang, L. 2008. Microstructure, mechanical properties and bio-corrosion properties of Mg-Zn-Mn-Ca alloy for biomedical application. *Mater Sci Eng, A* 497:111–118.
- Witte, F., Kaese, V., Haferkamp, H., Switzer, E., Linderberg, A.M., Wirth, C.J., Windhagen, H. 2005. In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. *Biomaterials* 26:3557–3563.
- Schinhammer, M., Hänzi, A.C., Löffler, J.F., Uggowitzer, P.J. 2010. Design strategy for biodegradable Fe-based alloys for medical applications. *Acta Biomater* 6:1705–1713.
- El-Omar, M.M., Dangas, G., Iakovou, I., Mehran, R. 2001. Update on in-stent restenosis. *Curr Interv Cardiol Rep* 3:296–305.
- Schomig, A., Kastrati, A., Mudra, H., Blasini, R., Schuhlen, H., Klauss, V., Richardt, G., Neumann, F.J. 1994. Four-year experience with Palmaz-Schatz stenting in coronary angioplasty complicated by dissection with threatened or present vessel closure. *Circulation* 90:2716–2724.
- Waksman, R., Pakala, R., Kuchulakanti, P.K., Baffour, R., Hellinga, D., Seabron, R., Tio, F.O., Wittchow, E., Hartwig, S., Harder, C., Rohde, R., Heublein, B., Andreae, A., Waldmann, K-H., Haverich, A. 2006. Safety and efficacy of bioabsorbable magnesium alloy stents in porcine coronary arteries. *Catheter Cardiovasc Interv* 68:606–617.
- Waksman, R., Pakala, R., Baffour, R., Seabron, R., Hellinga, D., Tio, F.O. 2008. Short-term effects of biocorrodible iron stents in porcine coronary arteries. *J Interv Cardiol* 21:15–20.
- Zhang, E., Xu, L., Yu, G., Pan, F., Yang, K. 2009. In vivo evaluation of biodegradable magnesium alloy bone implant in the first 6 months implantation. *J Biomed Mater Res A* 90:882–893.
- Vojteřch, D., Kubařsek, J., Šerařk, J., Novařk, P. 2011. Mechanical and corrosion properties of newly developed biodegradable Zn-based alloys for bone fixation. *Acta Biomaterialia* 7:3515–3522.
- Pego, A., Van Luyn, M., Brouwer, L., van Wachem, P., Poot, A., Grijpma, D. 2003. In vivo behaviour of poly(1,3-trimethylene carbonate) and copolymers of 1,3-

trimethylene carbonate with d,l-lactide or epsilon-caprolactone: degradation and time response. *J Biomed Mater Res A*, 67:1044–1054.

Dendunnen, W.F.A., Schakenraad, J.M., Zondervan, G.J., Pennings, A.J., Vanderlei, B., Robinson P.H. 1993. A new PLLA PCL copolymer for nerve regeneration *J Mater Sci-Mater Med*, 4:521–525.

Nisbet, D.R., Rodda, A.E., Horne, M.K., Forsythe, J.S., Finkelstein D.I. 2009. Neurite infiltration and cellular response to electrospun polycaprolactone scaffolds implanted into the brain. *Biomaterials* 30:4573–4580.

Schnell, E., Klinkhammer, K., Balzer, S., Brook, G., Klee, D., Dalton, P. et al. 2007. Guidance of glial cell migration and axonal growth on electrospun nanofibers of poly-epsilon-caprolactone and a collagen/poly-epsilon-caprolactone blend *Biomaterials*, 28: 3012–3025.

Kim, Y.T., Haftel, V.K., Kumar, S., Bellamkonda R.V. 2008. The role of aligned polymer fiber-based constructs in the bridging of long peripheral nerve gaps *Biomaterials*, 29: 3117–3127

ÖZGEÇMİŞ

Ümran Aydemir Sezer, 02.04.1986'da Isparta'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Isparta'da tamamladı. 2004 yılında Isparta Süleyman Demirel Fen Lisesi'nden mezun oldu. Aynı yıl başladığı Orta Doğu Teknik Üniversitesi Kimya Bölümü'nü 2009 yılında bitirdi. 2009 yılında Orta Doğu Teknik Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı. Aynı yıl Atılım Üniversitesi'nde araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı. 2013 yılında yüksek lisans eğitimini tamamlayıp aynı bölümde doktora eğitimine başladı. 2013 yılında TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Malzeme Enstitüsü'nde araştırmacı olarak çalışmaya başladı. Akabinde doktora eğitimine Sakarya Üniversitesi Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü'nde devam etti. Halen TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Malzeme Enstitüsü'nde uzman araştırmacı olarak görev yapmaktadır.