Marmara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü

Polilaktik asit/Poli-hidroksi –bütirat/İpek Fibroin Kullanılarak Yara Örtüsü Eldesi

Süreyya Elif Çelik

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Programı

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi. Ayşe Ceren ÇALIKOĞLU KOYUNCU

EŞ-DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Songül ULAĞ

İSTANBUL, 2025

Marmara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü

Polilaktik asit/Poli-hidroksi –bütirat/İpek Fibroin Kullanılarak Yara Örtüsü Eldesi

Süreyya Elif Çelik

533322020

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Programı

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi. Ayşe Ceren ÇALIKOĞLU KOYUNCU

EŞ-DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Songül ULAĞ

İSTANBUL, 2025

ÖNSÖZ

Bu çalışma boyunca yardım ve destekleri için Prof. Dr. Oğuzhan GÜNDÜZ, Dr.Öğr.Üyesi Ayşe Ceren Çalıkoğlu Koyuncu, Dr. Öğr. Üyesi Songül ULAĞ, Dr.Zehra Kanlı ve NBUAM Merkezi'ndeki tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkkür ederim.

Ayrıca Değerli annem Nazife Çelik, babam Yalçın Çelik ve kardeşim Melike Duru Çelik'e; Gamze Ceren Akcanlı, Özge Karaçay ve Engin Savçın'a maddi manevi tüm destekleri için en derin teşekkürlerimi sunarım.

FYL-2024-11415 Proje numaralı çalışmamıza sağladıkları destekten ötürü Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ ..... **i**

İÇİNDEKİLER ..... **ii**

ÖZET **4**

Semboller **6**

Kısaltmalar **7**

Şekiller **8**

Tablo Listesi **9**

1.Giriş **10**

2.Yara Örtüleri **10**

2.1.Yara Örtülerinde İstenen Özellikler ..... Error! Bookmark not defined.

3.Cilt Dokusu **13**

4.1.Hücreler **16**

4.2. Doku iskeleleri **17**

5.Doku Mühendisliğinde İskele Üretim Yöntemleri **21**

5.1.Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon) Yöntemi **21**

5.2.Üç Boyutlu Yazıcıyla Biyobasım İşlemi **22**

5.3.Elektrospininig Yöntemi **23**

6.Çalışmanın Amacı **24**

7. Malzemeler ve Metotlar **25**

7.1.İpek Fibroin Sentezi **25**

7.2.Hidrojel Hazırlanması ve İskelelerin Oluşturulması **26**

7.3.Mekanik Test **27**

7.4. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Spektroskopisi **28**

7.5.Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) **28**

7.7.Nanofiberlere Hücre Ekimi ve Karakterizasyon Testleri **30**

8. Bulgular ve Tartışma **31**

8.1. Morfoloji ve Yüzey Özellikleri **31**

8.2.FTIR ile Nanofiberlerin Kimyasal Analizi **34**

8.3.DSC ile Nanofiberlerin Termal Analizi **35**

8.4.Nanofiberlerin Mekanik Özellikleri 36
8.5. Hücre Canlılık Analizi 37
9.Sonuç ve Beklentiler 40
Kaynaklar 41
Özgeçmiş 47

ÖZET

Bu çalışmada polilaktik asit (PLA), Poli-hidroksi-bütirat (PHB) ve ipek fibroin (SF) kullanılarak oluşturulacak nano boyutta ağsı yapılar, elektro-eğirme metodu kullanılarak üretildi, doku mühendisliği yaklaşımlarından faydalanıldı. Bu çalışmada PLA, ağsı tabakanın yapısını mekanik anlamda destekleyip korurken, PHB biyobozunurluğu ve biyouyumluluğu, SF ise mekanik yapıyı desteklemek için kullanıldı. Bu çalışmada, Polilaktik Asit/Poli-hidroksibutirat/İpek Fibroini (PLA/PHB/SF) nanofiberleri elektrospinning işlemiyle üretildi. Nanofiber malzemenin biyouyumluluğunu artırmak için PHB ve SF eklendi. Nanofiber iskelelerinin morfolojik karakterizasyonu için taramalı elektron mikroskobu (SEM) incelemesi yapıldı. Biyouyumluluğu tespit etmek için mezenkimal kök hücre (MSC) ile canlılık testleri yapıldı. Nanofiberlerin mekanik dayanımı çekme testiyle, termal dayanımı diferansiyel kalorimetre cihazı (DSC) ile, kimyasal yapısı Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ile ölçümlendi.

Anahtar Kelimeler: Yara Örtüsü, Elektrospining, İpek Fibroin, Poli-hidroksibütirat (PHB), Polilaktik Asit (PLA)

ABSTRACT

Nano-fibrous scaffolds were fabricated with polylactic acid (PLA), polyhydroxybutyrate (PHB), and silk fibroin (SF) using electrospinning method . PLA is incorporated as a structural reinforcement and protective component for the fibrous scaffold, and PHB is incorporated to enhance biodegradation and biocompatibility. Silk fibroin is incorporated as an additional add-on to mechanical reinforcement. PLA/PHB/SF nanofibers were prepared through electrospinning. PHB and silk fibroin were incorporated for the improvement of the biocompatibility. Morphological analysis of the nanofiber scaffolds was conducted through scanning electron microscopy (SEM). Biocompatibility was evaluated with viability assay using mesenchymal stem cells (MSC). For measuring mechanical properties, thermal stability and chemical structure of the nanofibers, tensile testing, differential scanning calorimetry (DSC), and fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) were performed.

Keywords: Wound Dressing, Electrospinning, Silk Fibroin Protein, Polyhydroxybutyrate (PHB), Polylactic Acid (PLA)

Semboller

kV **:** Kilovolt

mL **:** Mililitre

MPa **:** Mega Paskal

dk **:** Dakika

mm **:**Milimetre

cm **:**Santimetre

nm **:**Nanometre

Kısaltmalar

DSC : Diferansiyel Taramalı Kalorimetre

FTIR : Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

SEM : Taramalı Elektron Mikroskopisi

PEG : Polietilen Glikol

PVA : Polivinil Alkol

PLGA : Polilaktik-ko-glikolik Asit

PHB : Polihidroksibütirat

PLA : Polilaktik Asit

SF : Silk Fibroin

MSC : Mezenkimal Kök Hücre

PCL : Polikaprolakton

DCM : Diklorometan

DMF : Dimetilformamid

Şekiller

Şekil 1.Yara örtüsü üretiminde doku morfolojisine uygun yara grefti …… 11
Şekil 2.Doku mühendisliği teknolojileri kullanılarak yara tedavi şeması …… 12
Şekil 3.Cilt dokusu katmanları ……. 13
Şekil 4.Yara iyileşme süreçleri …….. 14
Şekil 5.Doku mühendisliği yöntemlerinde kullanılabilecek malzeme türleri ……. 18
Şekil 6.PLA polimeri formülü ve yapısı……..... 19
Şekil 7. Polimeri formülü ve yapısı……... 19
Şekil 8.İpek lifinin serisin ayıklanmadan önceki hali…… 20
Şekil 9. Dondurarak kurutma cihazı……. 22
Şekil 10. Üç boyutlu biyobasım cihazı…….. 22
Şekil 11. Elektrospining yöntemi…….. 23
Şekil 12.İpek kozalarının temizlenme ve yıkanma süreci……. 25
Şekil 13.İpek fibroinin çözünmesi ve diyaliz süreci…….. 26
Şekil 14.Deneyler yapılırken kullanılan elektrospinnig cihazı…… 27
Şekil 15.Deneyler yapılırken kullanılan çekme testi cihazı……. 27
Şekil 16.Deneyler yapılırken kullanılan FTIR testi cihazı…… 28
Şekil 17.Nanofiberlerin morfolojik yapısı incelenirken kullanılan SEM cihazı……... 29
Şekil 18.Nanofiberlerin termal yapısı incelenirken kullanılan DSC cihazı…….. 30
Şekil 19. Nanofiberlerin SEM görüntüleri ve kalınlık diyagramları…….. 33
Şekil 20. Nanofiberlerin FTIR diyagram sonuçları…… 34
Şekil 21. Nanofiberlerin DSC diyagram sonuçları……. 36
Şekil 22. Hücre ve nanofiberlerin hücre canlılık grafiği……... 38
Şekil 23. Hücreli nanofiberlerin 7.gün sonunda floresan mikroskop görüntüleri……. 39

Tablo Listesi

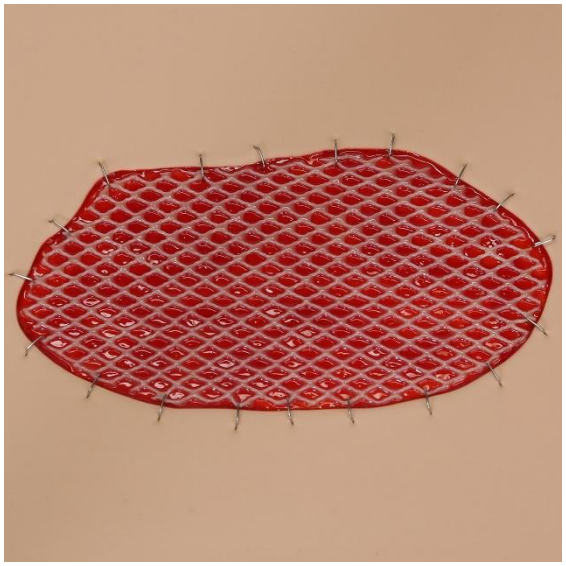
Tablo 1	Nanofiberlerin malzeme oranlarına göre isimlendirilmesi…….	29
Tablo 2	Nanofiberlerin fiber çapları……	30
Tablo 3	Nanofiberlerin mekanik özellikleri……	34

1.Giriş

Gelişen teknoloji ve tıp yöntemlerinin ilerlemesiyle biyomalzeme çalışmalarına olan ilgi artmaktadır. Bunun temelinde teknoloji faaliyetleri kullanımıyla uygun tasarımların eldesi ve canlılığın desteklenmesi beklentisi yatmaktadır. Bunu sağlamak için çeşitli yöntemler ve vücudun farklı bölgelerine özelleşmiş çalışmalar yapılmaktadır. Dokuların gördüğü hasar, uygun doku mühendisliği yöntemleriyle, farklı iskele üretim yöntemleriyle iyileştirilebilir. Bu çalışmada, biyouyumlulukları yüksek olan PLA, PHB ve silk fibroin kullanılarak yara örtüsü üretilmiştir. Bu çalışmayı destekleyen araştırma çalışmaları yapılmış ve sonuçlar belirtilmiştir.

2.Yara Örtüleri

Yara tedavisi son yıllarda önemli gelişmeler göstermiştir. Yara örtüleri, daha iyi iyileşme oranları, daha az enfeksiyon riski ve daha fazla hasta konforu gibi bir dizi fayda sunar. Yara tedavisindeki en son gelişmelerle, yaraları enfeksiyondan korumak ve iyileşmeyi desteklemek teknoloji ve malzeme bilimindeki ilerlemelerle giderek daha kolaylaşmış ve desteklenmiştir. Günümüzde, farklı yara tiplerinin ve hastaların özel ihtiyaçlarını karşılamak için çok çeşitli yara tedavileri mevcuttur. Yara debridmanı, yani ölü dokunun temizlenmesi lokal enfeksiyon ve sepsis riskini azaltarak, yaranın iyileşmesini hızlandırır ve topikal ya da sistemik tedavilerin etkinliğini artıran bir yöntemdir. Debridman, aynı zamanda sağlıklı doku oluşumunu ve cildin yeniden yapılanma sürecini destekler. Ayrıca, antibiyotik ve ilaç tedavisi ile yara iyileşmesi desteklenir. Yara iyileşmesini desteklemek amacıyla kullanılan diğer yardımcı yöntemler arasında negatif basınçlı yara tedavisi (VAC), fototerapi, elektroterapi, akustik terapi ve hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi yer alır. Bu yaklaşımlar genellikle diğer tedavilerle birlikte kombine edilerek uygulanır. İyileşmesi uzun süren kronik yaralarda, deri eşdeğerleri veya deri greftleri gibi ileri tedavi yöntemleri devreye girer (Şekil 1). Bu modern yara pansumanları, yara tedavisine yaklaşımda devrim yaratarak gelişmiş sonuçlar vermekte, iyileşme süreçlerini hızlandırmaktadır [1].

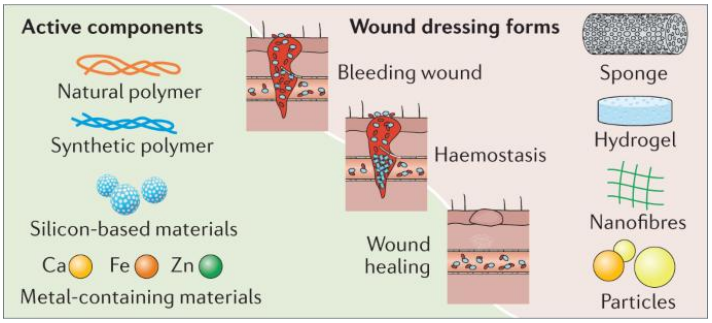


Şekil 1.Yara örtüsü üretiminde doku morfolojisine uygun yara grefti [46].

Yara tedavisi, yaranın türüne, enfeksiyon durumuna ve hastanın genel sağlık durumuna bağlı olarak farklı yöntemlerle uygulanır. Geleneksel yara bakımında yara temizliği serum fizyolojik veya antiseptik solüsyonlarla yapılır ve genellikle steril gazlı bez ve bandajlarla kapatılır. Modern tedavi yöntemleri ise daha gelişmiş teknikler içerir. Biyolojik tedaviler büyüme faktörleri, kök hücre terapileri ve doku mühendisliği ürünleriyle dokuların yenilenmesini destekler. Bunun yanında, lazer ve ultrasonik tedaviler hücre yenilenmesini artırıp, inflamasyonu azaltan yöntemler arasındadır. Yara örtüleri, yaranın türüne ve iyileşme aşamasına göre seçilir. Nem dengesini sağlayan örtüler arasında hidrokolloid örtüler, hidrojel örtüler ve aljinat örtüler bulunur; bu materyaller yara yüzeyini nemli tutarak iyileşmeyi hızlandırır. Enfeksiyon önleyici örtüler ise gümüş iyonu içeren veya medikal bal ile desteklenen antiseptik örtülerden oluşur. Biyomühendislik ürünleri arasında kollajen, kitosan ve ipek fibroin gibi biyomateryaller bulunurken, daha ileri düzeyde 3D biyobaskılı deri greftleri de yara onarımında kullanılmaktadır. Ayrıca, şeffaf film örtüler su geçirmez özellikleriyle yüzeysel yaralar için tercih edilirken, köpük örtüler basınç yaraları ve yanıklarda yüksek emiciliği sayesinde etkili bir koruma sağlar. Yara tedavisinde kullanılan bu yöntemler, yaranın özelliklerine uygun olarak seçildiğinde iyileşme sürecini hızlandırarak enfeksiyon riskini en aza indirir [2].

Yara pansumanı, doğrudan yaraya uygulanan bir malzemedir ve ideal olarak iyileşmeyi teşvik etmeyi veya daha fazla doku hasarını önlemeyi amaçlar. İyi bir pansumanın, uygun bir nem seviyesi sağlamak ve bakteri istilasına karşı bir bariyer olmak gibi görevleri vardır. İdeal bir yara örtüsü termal yalıtımı, enzim ve büyüme faktörü takviyesi, gaz değişimini kolaylaştırma ve ağrıyı azaltmak için serbest sinir uçlarının korunması özelliklerini de sağlayabilir olmalıdır. Şekil 2'de doku mühendisliği yöntemleriyle üretilecek doku ikamesi için uygun materyaller ve iskele şekilleri verilmiştir.

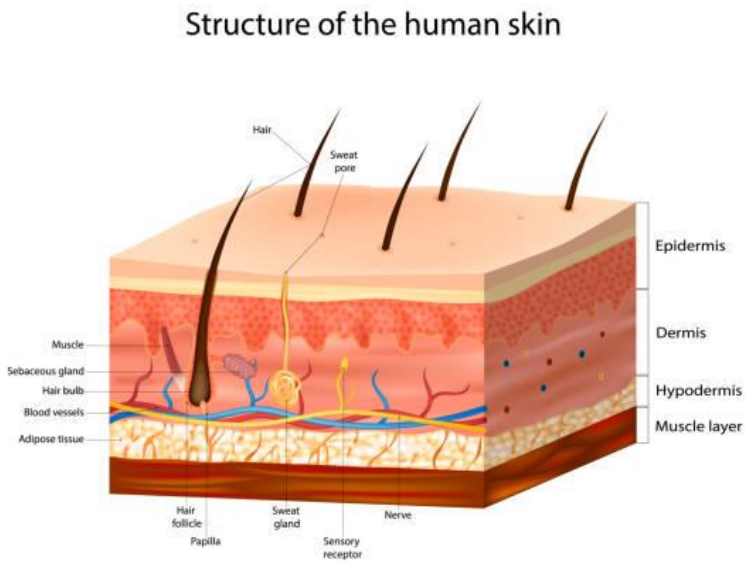
Akut yaralar, yara iyileşmesinin dört ana aşamasından geçer: Pıhtılaşma, iltihaplanma, göç-çoğalma ve yeniden şekillenme. Yeniden şekillenme aşaması, kollajenin yeniden düzenlendiği, olgun bir yaranın oluşumuna yol açar. İyileşmiş bir yaranın çekme dayanımı genellikle yaklaşık bir yılda zirveye ulaşır ve orijinal dayanımın yaklaşık %80'ine ulaşır. Bir yara iltihaplı fazda sıkışıp kaldığında ve diğer fazlara doğru ilerleyemediğinde kronik bir yaraya dönüşür. Kronik yaralar sürekli iltihaplı bir durumdadır ve enfeksiyon, nekroz veya sepsis gibi daha fazla olası komplikasyona yol açabilir. Bazı yara örtüleri kronikliğin nedenini ortadan kaldırmayı ve iltihaplı tepkiyi azaltmayı, böylece yaranın iyileşmeye devam etmesini sağlamayı amaçlar. Enfekte olmayan yaralar için drenajlı mı drenajsız mı olduğunu ve granüler, uygun şekilde iyileşen mi yoksa nekrotik mi olduğunu belirlemek önemlidir[3].



Şekil 2. Doku mühendisliği teknolojileri kullanılarak yara tedavi şeması [4].

3.Cilt Dokusu ve Yaralar

Cilt, ısıya, ışığa, yaralanmaya ve enfeksiyona karşı kalkan görevi gören insan vücudundaki en büyük hacmi kaplayan organdır. Vücut sıcaklığını düzenleme, su ve yağ depolama ve duyusal organ görevi görme gibi diğer işlevleri de yerine getirir. Cilt üç katmandan oluşur: epidermis, dermis ve deri altı yağ tabakası (Şekil 3). Epidermis, cildin ince dış tabakasıdır ve üç tip hücre içerir: skuamöz hücreler, bazal hücreler ve melanositler. Skuamöz hücreler, epidermisin en üst katmanında yer alırlar ve dış ortamla doğrudan temas halindedir. Bu hücreler yassı ve çok katlı yapılarıyla cildi fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı korur. Zamanla ölü hücreler yüzeyden dökülürler ve bu sayede cilt sürekli olarak kendini yeniler. Epidermisin alt kısmında yer alan bazal hücreler ise yeni cilt hücrelerinin üretiminden sorumludur. Bu hücreler bölünerek yukarıya doğru ilerler, zamanla olgunlaşıp skuamöz hücrelere dönüşür. Melanositler ise bazal hücrelerle aynı seviyede bulunan pigment hücreleridir. Bu hücreler melanin adı verilen ve cilde rengini veren pigmenti üretirler. Ayrıca melanin, güneşten gelen zararlı ultraviyole (UV) ışınlara karşı cildi korur. Dermis, cildin orta tabakasını oluşturur ve kan damarları, lenf damarları, kıl folikülleri, ter bezleri, kolajen demetleri, fibroblastlar, sinirler ve yağ bezlerini içerir. Kan damarları, cilde oksijen ve besin taşır, atık maddeleri uzaklaştırır ve yara iyileşmesini destekler. Lenf damarları, dokularda biriken fazla sıvıyı toplayarak bağışıklık sistemiyle birlikte enfeksiyonlara karşı koruma sağlar. Kıl folikülleri, vücudun belirli bölgelerinde kılların oluşumunu sağlar; aynı zamanda bu foliküller çevresindeki yapılar, yara iyileşmesi sürecinde de aktif rol oynar. Ter bezleri, vücut sıcaklığını düzenlemek ve toksinleri atmak için ter üretir. Yağ bezleri ise cildi ve saçları nemli tutan sebum adlı yağı salgılayarak, kuruma ve mikroorganizmalara karşı koruma sağlar. Deride bulunan kolajen demetleri, cilde dayanıklılık ve esneklik kazandıran lifli protein yapıdadır. Fibroblastlar bu kolajen ve benzeri bağ dokusu elemanlarını üretir; ayrıca yara iyileşmesinde temel rol oynayan hücrelerdir. Sinir uçları ise dokunma, basınç, sıcaklık ve ağrı gibi duyuların algılanmasını sağlar. Bu yapılar birlikte çalışarak cildin sadece bir koruyucu örtü değil, aynı zamanda aktif bir savunma, hissetme ve yenilenme organı olmasını sağlar. Bu tabaka cilde esneklik ve güç sağlar. Deri altı yağ tabakası, kolajen ve yağ hücreleri ağı içeren en derin cilt tabakasını oluşturur. Bu tabaka darbeyi yalıtır ve emer, vücut ısısını düzenlemeye ve vücudu yaralanmalardan korumaya yardımcı olur.

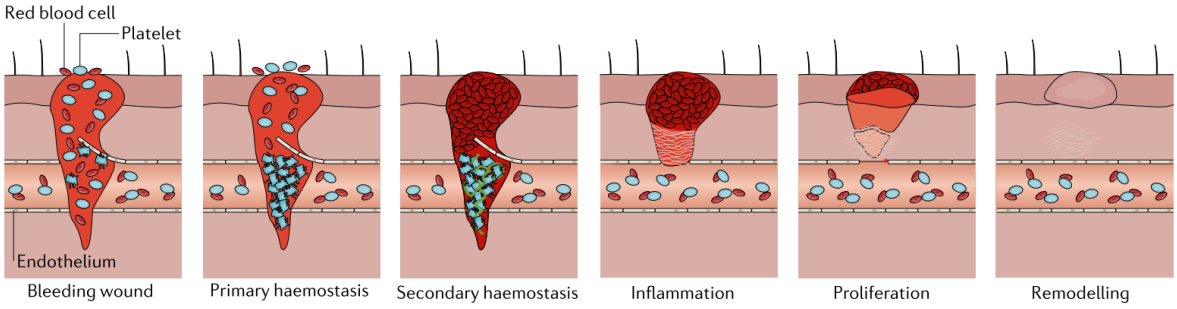


Şekil 3. Cilt dokusu katmanları [47].

Derinin yapısal bütünlüğü ve fonksiyonları, büyük ölçüde ekstraselüler matriks (ECM) tarafından sağlanır. ECM, hücrelere yalnızca mekanik destek sunmakla kalmaz, aynı zamanda hücre davranışlarını düzenleyen biyokimyasal sinyaller ileterek doku homeostazını ve onarım süreçlerini destekler. Derinin ECM yapısı başlıca üç tip liften oluşur: kollajen, elastin ve retiküler lifler. Vücutta en bol bulunan proteinlerden biri olan kollajen, deriye yapısal destek sağlar ve dokunun mekanik dayanıklılığını artırır; fibriller yapısıyla hücrelere destek olur ve doku bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunur. Elastin lifler ise deriye esneklik kazandırır ve dokunun gerilme sonrasında orijinal formuna dönmesini sağlayarak mekanik streslere karşı dayanıklılığını artırır. Retiküler lifler ise ince kollajen liflerinden oluşur ve hücrelere destekleyici bir ağ sunarak doku organizasyonunda önemli bir rol oynar [5].

Cilt yüzeyindeki bir yaralanma veya yırtılma *yara* olarak tanımlanır. Ciltteki hasar fiziksel, kimyasal, mekanik veya termal yollarla meydana gelebilir. Genellikle akut ve kronik olmak üzere iki tür yara vardır. Akut yara, travmatik veya cerrahi olarak meydana gelen ve genellikle iyileşme sürecine iyi yanıt veren temiz yaralardır. Bu tür yaralar, travma, yanık veya cerrahi müdahaleler sonrası ortaya çıkar. Cerrahi olarak sütürlerle kapatılmış temiz yaralar, akut yaralara örnek teşkil eder. Kronik yara ise iyileşmesi geç veya zor olan, bazen hiç iyileşmeyen yaralardır. Kronik yara, genellikle 6-8 hafta süresince iyileşmeyen veya 4 hafta boyunca herhangi bir iyileşme belirtisi göstermeyen yaralar için kullanılan bir terimdir. Kronik yaralardan en yaygın olanları, diyabetik ayak (diyabetik ülser, nöropatik, iskemik,

nöro-iskemik), venöz ülser (ulcus cruris venosum, venöz bacak yarası, varis ülseri), basınç yarası (bası yarası, dekübitüs, yatak yarası), arteriyel yetmezlik yarası (aterosklerotik, vaskülitik) ve radyasyon hasarı sayılabilir [6]. Deri, vücudu dış etkenlere karşı koruyan, termoregülasyon ve bağışıklık gibi hayati işlevlere sahip bir organdır. Ancak fiziksel travma, kesik, yanık gibi durumlarda bu yapısal bütünlük bozulur ve doku hasarına bağlı olarak yara iyileşme süreci başlar. Bu süreç dört temel evrede gerçekleşir: hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve doku yeniden yapılanması. İlk olarak hemostaz fazında kanama durdurulur ve fibrin ağıyla geçici bir bariyer oluşur. Ardından inflamasyon fazında bağışıklık hücreleri (nötrofiller, makrofajlar) bölgeye göç eder; patojenleri yok eder ve büyüme faktörleri salgılanarak iyileşme süreci aktive edilir. Proliferasyon aşamasında fibroblastlar aktive olur, ekstraselüler matriks yeniden yapılandırılır ve yeni damar oluşumu ile birlikte doku meydana gelir. Son aşama olan yeniden yapılanma fazı gerçekleşir (Şekil 4). Bu süreçlerin sonucunda epitel hücreleri çoğalarak yaranın yüzeyini kaplarken, çoğu zaman orijinal doku tam olarak geri kazanılamaz ve skar dokusu (fibrotik iz) oluşabilir. Bu nedenle yara örtüsü gibi biyomalzemelerin, iyileşme sürecini hızlandırıcı ve doku bütünlüğünü destekleyici şekilde tasarlanması büyük önem taşımaktadır [7].



Şekil 4.Yara iyileşme süreçleri [4].

4. Doku Mühendisliği

Doku mühendisliği çalışmaları, hasarlı doku onarımını sağlayan, klinik ihtiyaçları karışlayabilme potansiyeline sahip bir tedavi yaklaşımıdır. Doku mühendisliği temelinde, doku ve organ işlevini arttıran biyomalzeme üretimi yatar. Bu malzemeler, vücut dahilinde uzun süre bulunabilme ve temas edebilme kapasitesine sahip malzemelerdir[8]. Doku mühendisliği; tıp ve mühendisliği içinde barındıran interdisipliner bir alandır. Genel uygulamada hücreler, sentetik veya doğal materyallerden oluşan iskeleye ekilir [9].

4.1.Hücreler

Rejeneratif tıp ve doku mühendisliğinin biyomalzeme üretiminde kullanımı, hücre bakımını, farklılaştırılmasını ve doku uyumlu hücre iskelelerinin geliştirilmesini içine alarak oldukça hızlı gelişim göstermiştir [10]. Osteoblastlar ve kondrositler gibi somatik hücreler çeşitli doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan hücre kaynakları arasında yer alır. Daha sonra kök hücre kullanımıyla doku mühendisliği çalışmaları oldukça hızlı ivme kazanmıştır. Yetişkin canlıdan türetilen kök hücre kullanımı hücre terapilerinde MSC kullanımına oldukça sık rastlanır [11]. Doku mühendisliği çalışmalarında, kaynaktan hücre toplanması, hücre kültürü yöntemleriyle hücrelerin büyütülüp çoğaltılması, büyüme faktörleriyle desteklenmesi ve bu ikamelerin hasarlı dokuların yerine geçmesi sağlanır. Hücre taşıyıcılarda, yani iskelelerde, hücre yapışması, hücre göçü, çoğalması ve farklılaşması gibi hücresel büyüme süreçlerini destekleyen bileşenlerden oluşan yapılar kullanılır [12]. Evans ve Kaufman'ın 1981'de fare embriyolarından ve Thomson'ın 1998'de insan embriyolarından embriyonik kök hücrelerinin (ESC) izole etmesiyle, doku ve organ oluşumu incelemeleri, rejeneratif tıp ve doku mühendisliği gibi alanların gelişmesine büyük katkı sağlamıştır [13]. Embriyonik kök hücreler hücre farklılaşması yetenekleriyle ilgi çekicilerdir fakat etik sorunlar, tümör oluşturma riski, bağışıklık reddi, farklılaşmanın zor kontrol edilmesi gibi sebeplerle ESC kullanımına kuşkuyla yaklaşılmaktadır [14]. Yetişkin kök hücreler ise spesifik hücrelere dönüşebilen ve genellikle daha sınırlı potansiyele sahip hücrelerdir [15]. Bu hücrelerin başlıca kaynakları kemik iliği kök hücreleri ve kan hücreleridir (lökosit, eritrosit, trombosit). Örneğin, kök hücreler kemik, kıkırdak, yağ ve kas hücrelerine dönüşebilmektedir [16]. Deri kök hücreleri, deri dokusunun hücrelerine; sinir sistemi kök hücreleri ise nöronlar ve glia hücrelerine; meme kök hücreleri meme dokusu hücrelerine; kas kök hücreleri kas hücrelerine;

karaciğer kök hücreleri ise karaciğer hücrelerine dönüşebilir. Yetişkin kök hücreler, organ ve doku onarımları, hastalık tedavileri ve rejeneratif tıpta yaygın olarak kullanılır [15][17].

4.2. Doku iskeleleri

Doku mühendisliği işlemlerinde kullanılan "iskele" adı verilen özel yapılar üzerinde yeni dokular oluşturulur. Bu iskeleler, oluşturulacak dokular için mekanik ve yapısal destek sağlar. Yeni dokuyu oluşturan bu yapı için, hücre, iskele ve büyüme faktörleri çok önemlidir. Doku iskeleleri, canlılığı uygun şekilde destekleyecek uygun malzemelerden üretilmelidir.

4.2.1 Biyomalzemeler

Doku mühendisliği tasarımları yapılırken, kullanılacak bölgede aranan mekanik ve kimyasal özellikleri sağlamak için dokuya uygun özellikleri taşıyan malzemeler kullanılmaktadır. Bu malzemelerin seçim ve üretim süreçlerine hâkim olmak malzemenin yerine göre kullanımında avantaj sağlar [8]. Biyomalzeme üretiminde kullanılan malzemeler organik ve inorganik olarak ikiye ayrılabilir. Biyomalzemeler hücrelerin doğal alanlarını taklit edecek ortamın ikamesinin hazırlanması amacıyla üretilirler. Bunun için uygun malzeme türlerinden olan, doğal, sentetik veya yarı sentetik polimerler kullanılabilir.

4.2.1.1 Biyopolimerler

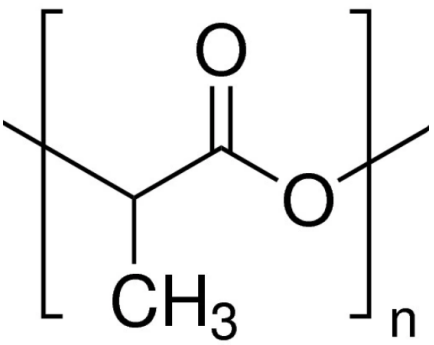
Biyopolimerler biyolojik olarak parçalanan, gerektiğinde canlılıkla uyumlu şekilde kullanılabilen ve çevre dostu polimelerlerdir. Doğal ve sentetik kaynaklı polimerler olarak ayrılabilirler. Biyopolimerler çeşitli endüstriyel uygulamalarda da kullanılır. Doğal biyopolimerler, doğal kaynaklardan elde edilirler. Biyolojik uyumlulukları yüksektir. Sentetik biyopolimerler ise daha kontrollü bir şekilde üretilir ve biyomedikal alanlarda ve biyoplastik üretimi gibi özel uygulamalarda kullanılır. Her iki tür biyopolimer de çevre dostu ve sürdürülebilir alternatifler sunmaktadır.Doku mühendisliğiyle yara tedavisi yöntemlerine kullanılabilecek doğal ve sentetik malzemeler Şekil 5'de verilmiştir.



Şekil 5.Doku mühendisliği yöntemlerinde kullanılabilecek malzeme türleri [18].

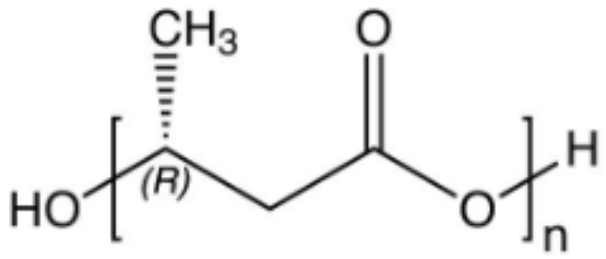
4.2.1.1.1 Sentetik Biyopolimerler

Sentetik polimerler gerekli kimyasal tepkimeler sonucu elde edilebilen polimer yapılı ürünlerdir. Üretimleri ve optimizasyonları kolaydır. Bunun haricinde, biyokompozit tasarımlarında ve biyomalzeme katkılandırmalarında sıkça kullanılırlar. Polietilen glikol (PEG), etilen polimerizasyonuyla elde edilen sentetik bir biyopolimerdir. Biyouyumlu ve suda çözünür bir yapıya sahiptir [19]. Doku mühendisliğinde biyouyumluluğu artırmak amacıyla sıkça kullanılmaktadır. Benzer şekilde, vinil-asetatın polimerizasyonuyla üretilen polivinil alkol (PVA) biyobozunur, biyouyumlu ve mekanik dayanımı yüksek bir biyopolimerdir. Geniş kullanım alanına sahip olması ve ekonomik oluşu, tercih edilme nedenlerindendir[20]. Poli-laktik-ko-glikolik asit (PLGA), poli-laktik asit (PLA) ve poli-glikolik asit (PGA) polimerlerinin farklı oranlarda kopolimerizasyonuyla elde edilmektedir [21]. Bu kopolimer, biyobozunma süresinin kontrol edilebilmesi sayesinde özelleştirilebilir yapıya sahiptir.



Şekil 6.PLA polimeri formülü ve yapısı [48].

Diğer yandan, mikroorganizmalar tarafından sentezlenen poli-hidroksibütirat (PHB) (Şekil 7), biyobozunur ve biyouyumlu polyesterler grubuna dâhildir. Mukavemeti yüksek olan PHB, kemik, kıkırdak, sinir ve cilt rejenerasyonu gibi doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmaktadır[22]. Ancak kırılganlığı ve sınırlı elastikiyeti nedeniyle biyokompozit formda kullanımı veya biyoaktif dolgu maddeleriyle desteklenmesi tercih gerekmektedir. Bunların yanı sıra, PLA biyobozunurluğu ve biyouyumluluğu sayesinde doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan sentetik bir polimerdir (Şekil 6). İskele yapılarında, yüzey modifikasyon işlemlerinde ve biyomürekkep malzemelerinde yaygın olarak tercih edilmektedir. Sentetik yapısından dolayı hücresel yapışma ve çoğalmayı desteklemek amacıyla farklı biyopolimerlerle birleştirilerek veya yüzey işlemlerinden geçirilerek kullanılabilir [23].

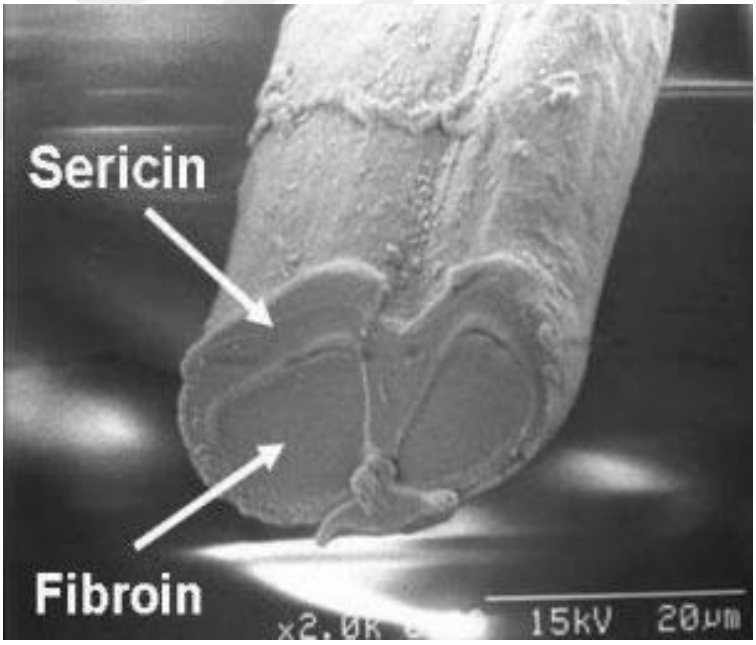


Şekil 7. PHB Polimeri formülü ve yapısı [49].

4.2.1.1.2. Doğal Biyopolimerler

Doku mühendisliğinde kullanılan doğal polimerler, canlılardan elde edilmektedir. Buna bağlı olarak, sentetik polimerlere kıyasla biyouyumlulukları daha yüksektir. Biyopolimerler, doku mühendisliği uygulamalarında dayanıklılık, elastiklik, jelimsi yapı ve biyouyumluluk gibi çeşitli avantajlar sunarak doku mühendisliğinde önemli bir rol oynamaktadır. Bitkilerin hücre duvarında bulunan selüloz, üç boyutlu yazım yöntemiyle doku mühendisliği üretiminde materyal olarak kullanılmaktadır[24]. Keratin, saç, tırnak ve tüy gibi biyolojik yapılarda bulunan yapısal bir proteindir ve elastiklik ile dayanıklılık sağlaması nedeniyle kas ve kemik doku mühendisliği çalışmalarında tercih edilmektedir [25]. Benzer şekilde, böceklerin ve sert kabuklu bazı canlıların dış iskeletinde bulunan kitin, yapıya sertlik kazandıran bir biyopolimer olup, özellikle yara ve yanık tedavilerinde kullanılmaktadır [26]. Hyalüronik asit, insan ve hayvan dokularında doğal olarak bulunan, nem tutucu ve elastik özellikleriyle bilinen

biyopolimerlerden biridir. Jelimsi yapısı sayesinde üç boyutlu doku iskelesi üretiminde ve kemik doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Deniz canlılarından elde edilen aljinat da benzer şekilde jelleştirici ve elastikiyet sağlayıcı özelliklere sahip olup, hidrojel formunda birçok doku üretiminde kullanılmaktadır [27][28]. Bağ dokularında bulunan elastin ise esnekliğiyle öne çıkan bir biyopolimerdir. İnsan ve hayvan dokularında doğal olarak bulunan bu yapı, elastik özellikleri sayesinde doku mühendisliği uygulamalarda önemli bir yer tutmaktadır [29]. İpek fibroin**,** biyouyumlu ve biyobozunur özelliklere sahip doğal bir proteindir ve özellikle doku mühendisliği uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. İpekler farklı şekillerde işlenerek, hidrojel, film, toz parçacığı, lifli(fibröz), sünger gibi formlarda üretilebilir. İpek, içeriğinde iki tip protein bulunur; SF lifler ve onlara sarılı şekilde bulunan serisin (Şekil 8). İkisi de pek çok kullanım alanına sahip, kendine has özellikleri olan iki farklı proteindir. Doku iskelesi üretiminde kullanılan fibroin yapısal bir proteindir ve mekanik özellikleri iyileştirmek için kullanılır. Serisin ise yapışkan özelliğe sahip bir polimerdir [30].



Şekil 8.İpek lifinin serisin ayıklanmadan önceki hali [31].

İpek fibroinin mekanik özellikleri, biyouyumluluğu ve hücre yenilenmesini destekleyen yapısı, doku mühendisliği için oldukça uygun özellikler sunmaktadır[32]. Biyobozunurluk, kullanılan malzemenin zamanla biyolojik ortamda çözünerek vücutta kalıntı bırakmadan atılması özelliğidir. İpek fibroinin biyobozunurluğu, doku mühendisliği işlemlerinde kullanılırken geçici bir iskele görevi görmesi istenen bir özelliktir. İpek fibroin, doğal protein

olması sebebiyle yüksek mukavemet ve esneklik sağlayan bir yapıdadır ve mekanik destek amacıyla kullanılabilir. Canlıda düşük immünojen yapı gösteren veya minimum bağışıklık tepkisi veren malzemeler biyouyumlu yapılardır. İpek fibroinin doku mühendisliği çalışmaları için kullanımında biyouyumlu özellik göstermesi oldukça önemlidir[23]. Dokularda kullanılacak ürünlerin hücre tutunması ve çoğalması için uygun ortama sahip olması gerekmektedir. Oluşturulacak dokunun yeniden üretilmesine destek olan bir yapı üretmek doku mühendisliği için oldukça önemlidir.

5.Doku Mühendisliğinde İskele Üretim Yöntemleri

Doku mühendisliğinde farklı üretim metotları kullanılabilir. Bu çalışmalarda ilgili dokunun canlılığını ve iyileşmesini sağlayabilecek kalınlıkta, hücrelerin rahatça çoğalabileceği yapıda ve topografide bir ikameye ihtiyaç duyulur. Aynı zamanda kişinin immün sistemi tarafından reddedilmeyen bir fiziksel ve kimyasal yapıda olması oldukça önemlidir. Ayrıca biyobozunurluk ve yüzeysel boyut uyumu da aranan bir özelliktir. Bu özellikleri taşıyan yapılar üretmek için kullanılan farklı yöntemler vardır.

5.1.Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon) Yöntemi

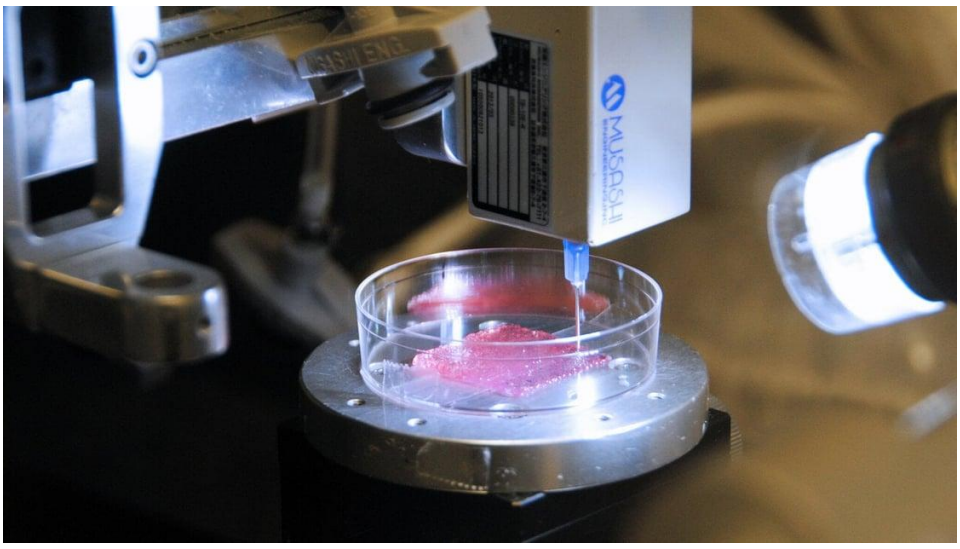
Bu yöntem dondurulma işleminden sonra düşük basınç altında süblimleştirme yöntemi kullanarak sıvının uzaklaştırılması işlemine dayanır. Bu işlemin yapıldığı cihaz Şekil 9'da gösterilmiştir. Bu işlem sayesinde kontrol edilebilir gözenekli yapılar elde edilir. Biyouyumlu, gözenekli ve biyobozunur malzemeler üretilebilir[33].



Şekil 9.Dondurarak kurutma cihazı (liyofilizatör) [50].

5.2.Üç Boyutlu Yazıcıyla Biyobasım İşlemi

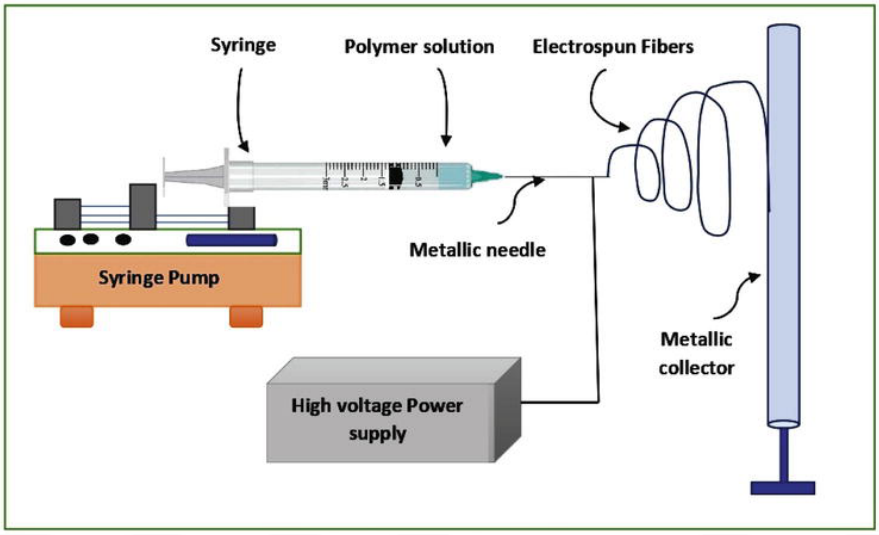
Bir eklemeli imalat metodu olan 3B baskı, malzemenin katman katman oluşturulması temeline dayanır. Mürekkep olarak biyobasım materyalleri kullanılır. Genelde bilgisayar temelli, üç eksenli platformlar kullanılarak, yazıcı başlığının hareketlerine bağlı olarak yönetilir (Şekil 10). Biyobaskıda, içeriğini yaşayan ve büyüme gösteren hücrelerin oluşturduğu biyomürekkepler sayesinde, doğal doku benzeri dokular üretilir[23].



Şekil 10. Üç boyutlu biyobasım [51].

5.3.Elektrospininig Yöntemi

Bu yöntem elektrik voltajıyla çalışan bir cihaz sayesinde toplayıcı plakaya polimer lifleri fırlatılması işlemidir. Güçlü bir elektrostatik alanda, ilgili ürün malzemenin püskürtülmesi, gerilmesi, bölünmesi, kürlenmesi ve çözücünün buharlaştırılması işlemiyle nanofiberler elde edilen bir teknolojidir. Elektrospining yöntemi, geniş malzeme kullanımı, uygun işlem parametreleri, düşük maliyet gibi avantajlarıyla, nanofiber malzemelerinin hazırlanması için en basit ve etkili yöntemlerden biridir [34].



Şekil 11. Elektrospinning yöntemi [52].

Elektrospining yönteminde kullanılan ekipman Şırınga, polimer püskürtme ucu,şırınga pompası, yüksek voltaj güç kaynağı ve toplayıcı plakadan oluşur (Şekil 11). İlgili çözelti, bir şırıngaya yüklenir. Yüksek voltaj güç kaynağının elektrotlarından biri iğnenin ucuna, diğeri ise toplayıcı plakaya yerleştirilir. Böylece bir elektrik alan oluşturulur. Polimer çözeltisi pompa yardımıyla toplayıcı plakaya doğru tutulur ve basınçlı itici bir kuvvet uygulanır. İlk olarak bazı damlacıklar gözlemlenir. Ardından yüksek elektrik alanının etkisi altında "Taylor Konisi" olarak bilinen şekil oluşur ve çözelti plakaya püskürtülmeye başlanır. Çözeltisi iğnenin ucundan toplayıcı plakaya doğru akmaktadır. Son olarak toplayıcı plakada nanofiberler oluşmaktadır [35]. Elektrospinning metoduyla püskürtülecek polimerin uygun bir çözücüde çözülmesi, işleminin ilk adımıdır. Çözücüler uygun kaynama noktalarına, uçuculuğa, buhar basıncına sahip olmalıdırlar. Polimer çözeltilerini hazırlamak için kullanılan çözücülerin morfolojileri üzerinde oldukça etkilidir. İşlem sırasında, oluşan jet toplayıcıya doğru hızlandıkça çözücü buharlaşır. Fazla buharlaşma olursa, lifler tekli oluşacaktır. Lif oluşmayabilir veya çözücü buharlaşmazsa toplayıcı üzerinde polimer çözeltisi birikebilir.

Elektrospinning metodunda kullanılan polimerlerin çoğu sulu çözeltilerde çözünmez [36]. Elektrospinning yöntemi, farklı doku mühendisliği uygulamalarında yaygın olarak kullanılan bir teknik olup, çeşitli polimer kombinasyonları ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, jelatin, poli(ε-kaprolakton) (PCL) ve hidroksiapatit kullanılarak kemik doku mühendisliği alanında önemli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Kardiyak doku mühendisliği kapsamında ise aljinat ve kitosan bazlı yapıların üretilmiştir. Hücresel uyumluluk açısından umut verici sonuçlar alınmıştır. Ayrıca PCL, jelatin ve grafen kombinasyonları ile başarılı nöral doku ikameleri geliştirilmiş, bu yapılar sinir rejenerasyonu açısından potansiyel göstermiştir. Tüm bu çalışmalar, elektrospinning yönteminin biyomedikal alandaki geniş uygulama yelpazesini ve etkinliğini ortaya koymaktadır [36].

6.Çalışmanın Amacı

İpek fibroinin düşük immünojenitede, toksisite göstermeyen, yüksek gerilme mukavemetine sahip, kontrollü porozite sağlayan, biyouyumlu bir materyal olduğu bilinmektedir. Ayrıca esneklik ve mukavemet açısından oldukça avantajlıdır. Dolayısıyla kimyasal ve mekanik yapısı ile oldukça uygun bir biyomalzeme olma potansiyeli göstermektedir. İşlemler hassasiyetle gerçekleştirildiğinde doku iskelesi olarak kullanılabilmektedir. PHB ise uygun ortam sağlandığında biyobozunur özellik gösterir. Mekanik stabilite sağlar bir yapısı vardır. Bu özelliklerin birlikte kullanılması ile yara örtüsü üretimi için biyouyumlu bir tabaka üretilebilir [37]. PHB ve SF kombinasyonlarının kullanıldığı araştırmalara dair doğrudan örnekler, genellikle bu malzemelerin etkilerini inceleyen çalışmalara dayanmaktadır. Bu iki polimerin birlikte kullanımı, iskele oluşturmak, biyouyumluluk ve hücre proliferasyonu sağlamak için umut vadetmektedir. PHB'nin yapısal bütünlüğü ile SF'nin esnekliği ve biyouyumluluğu birleştiğinde, doku mühendisliğinde kullanılmak üzere oldukça uygun bir potansiyeli bulunmaktadır. Bu kombinasyonun kullanılmasıyla ilgili PLA, PHB ve SF'nin birlikte kullanıldığı bir çalışma bulunmamaktadır [38]. Bu çalışma elektrospinning yöntemi kullanılarak, PHB/SF ve PLA polimerlerini bir araya getirildiği bir doku iskelesi üretimini amaçlamaktadır. Bu iskelelerin yara örtüsü olarak kullanılması ön görülmektedir.

7. Malzemeler ve Metotlar

7.1.İpek Fibroin Sentezi

Kuru ipek kozaları (Filiz Yün, Bursa) parçalanıp 3 kere %0,5 Na_2CO_3 (Solarbio Science & Technology Co., Ltd.) solüsyonunda 90°C de kaynatılıp, 1 gün oda sıcaklığında kurutuldu (Şekil 12), $CaCl_2 \cdot CH_3CH_2OH \cdot H_2O$ (44:45:11 oranında) çözeltisinde, 4-6 saat arasında fibroinler tamamen çözülene kadar karıştırıldı. Çözünen SF'ler kullanılmak üzere +4°C'de bekletildi (Şekil 13).



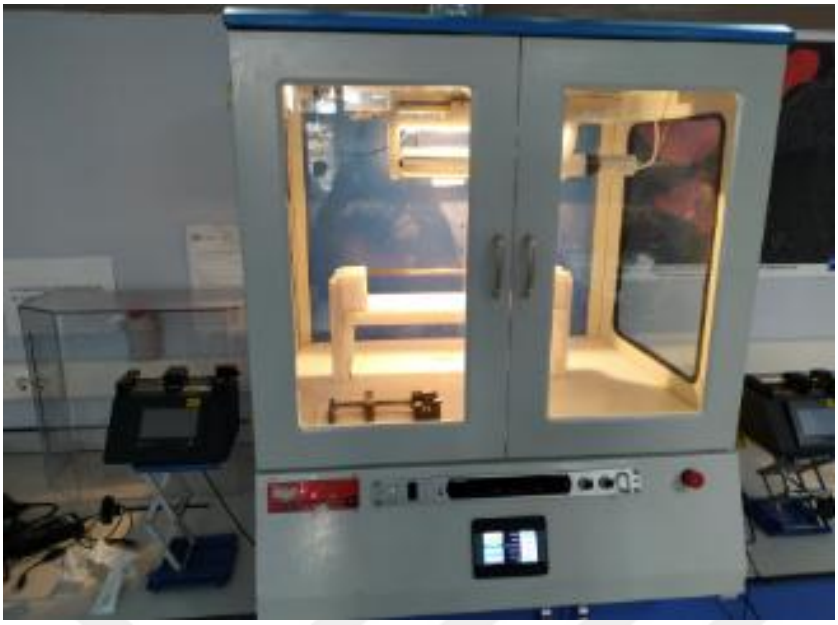
Şekil 12.İpek kozalarının temizlenme ve yıkanma süreci.



Şekil 13.İpek fibroinin çözünmesi ve diyaliz süreci.

7.2.Hidrojel Hazırlanması ve İskelelerin Oluşturulması

PLA polimeri dikloro-metan (DCM) VE dimetilformamid (DMF) çözücülerinde %10 oranında çözdürüldükten sonra, %0,5 ağırlık oranında PHB eklendi. Ardından, %0/5 ağırlık, %1 ağırlık ve %1/5 ağırlık olmak üzere farklı SF konsantrasyonları %10 ağırlık PLA ve %0,5 ağırlık PHB çözeltisine eklendi ve bu karışım 10 dakika karıştırıldı. Kurulum bir şırınga pompasından (NE-300, New Era Pump Systems, Inc., ABD), tek bir pirinç iğneden (çapı 1,63 mm), iğneye bağlı yüksek voltajlı bir güç kaynağından ve laboratuvar ölçekli bir elektrospinning ünitesinden (NS24, Inovenso Co., Türkiye) (Şekil 14) oluşturulmuştur. Polimer çözeltileri 10 ml'lik plastik şırıngalara dolduruldu. Toplayıcı ve iğnenin ucu yüksek voltajlı bir güç kaynağına bağlandı. Elektrospinning için çözeltiler bir şırınga pompası kullanılarak sabit 4 ml/saat akış hızıyla verildi. Gerilim 28 kV'a maruz bırakılmıştır.



Şekil 14.Deneyler yapılırken kullanılan elektrospinning cihazı.

7.3.Mekanik Test

Dikdörtgen şeklinde 1cm x 5cm ölçülerinde parçalara bölünen nanofiberler her numunenin kalınlığı yüksek hassasiyetli dijital mikrometre (Mitutoyo,ABD) kullanılarak ölçüldü. Elektrospinning yöntemiyle elde edilmiş numunelerin çekme testleri özel yazılımlı test cihazıyla (Shimadzu, Japonya) (Şekil 15) gerçekleştirildi. Bütün numuneler kopma noktasına kadar 5mm/dak hızıyla çekildi. Test oda sıcaklığında gerçekleştirildi.



Şekil 15.Deneyler yapılırken kullanılan çekme testi cihazı.

7.4. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Spektroskopisi

Moleküler yapı tespiti ve kimyasal karakterizasyonunun tespiti için Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR4700 Jasco, Japonya) (Şekil 16) yöntemiyle tespit edildi. Spektrum analizi 450-4000cm^{-1} tarama aralığında ve 4^{-1}cm çözünürlükte gerçekleştirildi.



Şekil 16.Deneyler yapılırken kullanılan FTIR test cihazı.

7.5.Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

İskelelerin yüzey morfolojilerinin tespiti için taramalı elektron mikroskobundan (SEM) (EvaMA 10, Zeiss, ABD) faydalanıldı (Şekil 17). Görüntüleme gerçekleştirilmeden önce altın kaplama makinesiyle (Quorium, SC7620, ABD) 120 sn boyunca,altın (Au) kaplama yapıldı.



Şekil 17.Nanofiberlerin morfolojik yapısı incelenirken kullanılan SEM cihazı [58].

7.6.Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)

İskelelerin termal geçiş noktalarını hesaplamak üzere DSC cihazından (Shimadzu, DSC 60) faydalanıldı (Şekil 18). Numuneler (5mg), 10°C/dk ısıtma hızıyla, 30-600°C aralığında koşullandırılmış kalorimetre hücrelerine yerleştirildi. Sonuçlar kaydedilip sonuçlar grafik olarak işlendi.



Şekil 18.Nanofiberlerin termal yapısı incelenirken kullanılan DSC cihazı [58].

7.7.Nanofiberlere Hücre Ekimi ve Karakterizasyon Testleri

MSC'ler büyüme besi yeri (L-Glutaminli MEM Alfa Modifikasyonu, %10 FBS, %1 antibiyotik) büyütüldü. Uygun sayıda hücre elde edildiğinde tripsin ile kaldırıldı. İskeleler 1 cm çapında kesilip UV altında sterilize edildikten sonra, besi yerindeki proteinlerin iskelelere tutunmasını sağlamak için bir gece boyunca büyüme ortamında bırakıldı. İskele başına 5.000 MSC ekildi. Tüm örnekler besi yeri ile inkübe edildi ve ortam her iki günde bir yenilendi. MSC'lerin *in vitro* proliferasyonu, hücre ekilmesinden sonraki 1., 3. ve 7. günlerde MTT kiti kullanılarak kantitatif olarak değerlendirildi. Kontrol grubu için hücreler doğrudan doku kültürü plakasına ekildi. Absorbans değerleri bir mikro plaka okuyucu (BioTech, Epoch ABD) ile 570 nm'de ölçüldü ve daha sonra önceden çizilmiş bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak hücre sayısı değerlerine dönüştürüldü[39].

7.7.1.DAPI ile İmmünofloresan Boyama

Hücre kültürünün yedinci gününde, MSC'lerin nanofiberler üzerindeki yerleşimlerini gözlemlemek amacıyla hücre çekirdekleri floresan boyayla işaretlenerek gözlem yapıldı. Bunun için, hücre ekilmiş nanofiberler 30 dakika boyunca %4 paraformaldehit içinde sabitlendi. Hücreli nanofiberler PBS ile yıkandıktan sonra DAPI (Sigma) ile boyandı. Görüntüler EVOS™ M5000 görüntüleme cihazı (Thermo Fisher Scientific, Invitrogen, ABD) kullanılarak analiz edildi [40].

8. Bulgular ve Tartışma

8.1. Morfoloji ve Yüzey Özellikleri

Mevcut çalışmada kullanılan optimize edilmiş elektrospinning koşulları, 28 kV uygulanan voltaj ve 0,4 mL/saat akış hızı olarak belirlenmiştir. Elektrospinning sonucu elde edilen liflerin morfolojilerini belirlemek için SEM kullanıldı. Nanofiber numuneleri isimlendirilerek gruplandırılmıştır (Tablo 1). Şekil 19'da görülen SEM mikrografları, SEM incelemeleri sonucunda hesaplanmış olan fiber çapları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1.Nanofiberlerin malzeme oranlarına göre isimlendirilmesi.

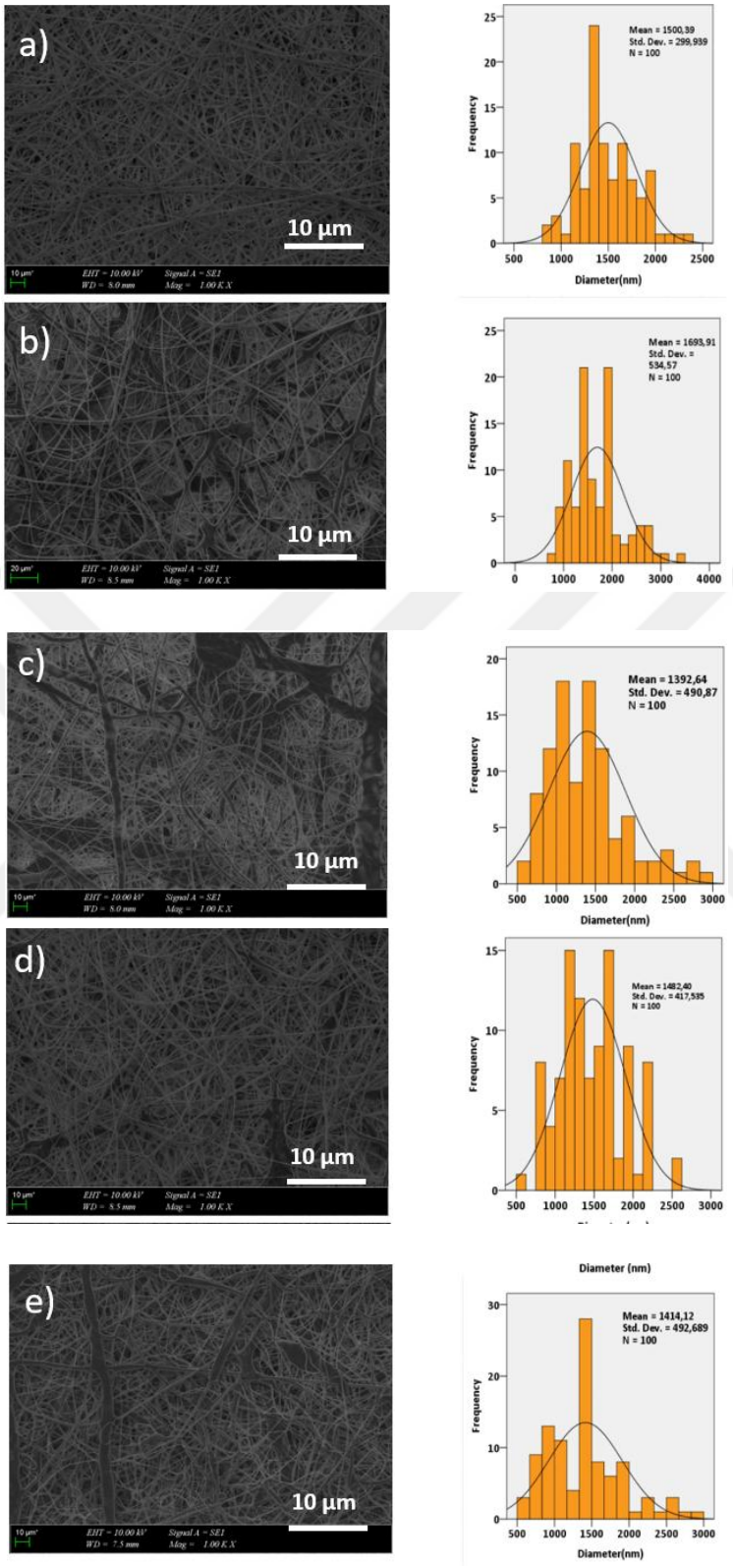
Numune Adı	PLA	PHB	İpek Fibroin (SF)
PLA	%10	-	-
PLA:PHB	%10	%0.5	-
PLA:PHB:SF0.5	%10	%0.5	%0.5
PLA:PHB:SF1	%10	%0.5	%1
PLA:PHB:SF1.5	%10	%0.5	%1.5

Nanofiberlerin morfolojisini belirlemek için SEM kullanılmıştır. Şekil 19'da elektrospinlenmiş nanofiberlerin morfolojik yapılarını gösteren SEM mikrografları görülmektedir. Bunlara göre, homojen bir yapının gözlenmiştir. PLA fiberi için ortalama lif çapı 1500,39±299,93 nm olarak ölçülmüştür. PLA:PHB fiberinin SEM görüntüsünde (Şekil 19b), %1 PHB ilavesiyle lif çapının arttığı gözlenmektedir. PLA:PHB fiber için ortalama lif çapı 1639,91±534,57 nm'dir. Ayrıca PLA:PHB fiber için heterojen lif dağılımı gözlenmiştir. PLA:PHB:SF0.5 fiberinde (Şekil 19c), %0,5 SF ilavesiyle fiberlerin çapı tekrar azalmıştır; ayrıca, heterojen yapılar elde edilmiştir. PLA:PHB:SF0.5 fiberi için ortalama fiber çapı 1392,64±490,87 nm olarak ölçülmüştür. Şekil 19d'de gösterilen PLA:PHB:SF1 fiberinde, SF oranındaki artışla homojen fiber yapıları elde edilmiştir. Homojen fiber dağılımları gözlenmiştir. PLA:PHB:SF1 fiberi için ortalama fiber çapı 1482,40±417,53 nm olarak ölçülmüştür. PLA:PHB:SF1.5 fiberinde (Şekil 19.e) fiber çaplarındaki artış gözlenmiştir ve homojen yapılar devam etmiştir. Ortalama lif çapı 1414.12±497.68 nm olarak ölçülmüştür.

Tablo 2.Nanofiberlerin fiber çapları.

	Numune	**Fiber Çapı(nm)**
a	PLA	1500.39±299.93
b	PLA:PHB	1639.91±534.57
c	PLA:PHB:SF 0.5	1392.64±490.87
d	PLA:PHB:SF 1	1482.40±417.53
e	PLA:PHB:SF 1.5	1414.12±497.68

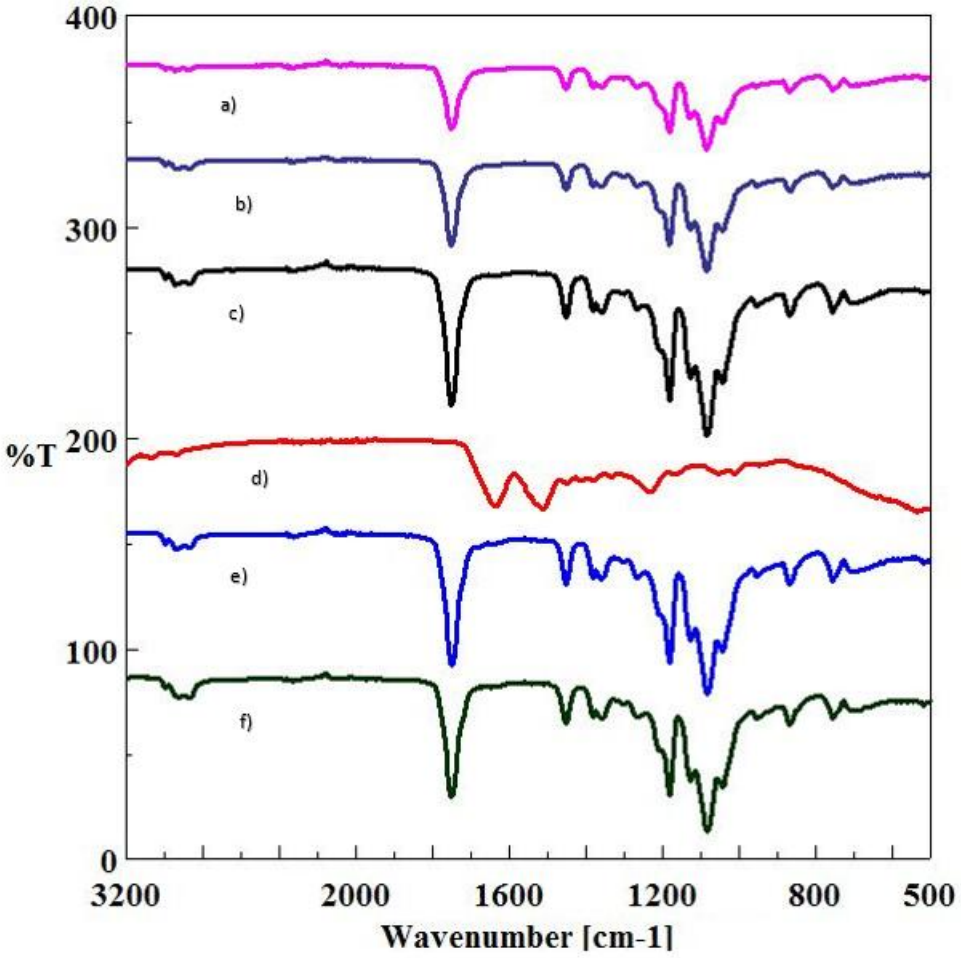
Sonuç olarak, SF konsantrasyonu arttıkça gözenekli lif yapılarının oluştuğu gözlemlenmiştir. En homojen morfoloji PLA:PHB:SF1 lifinde gözlenmiştir. Birçok çalışma, polar bir polimerin polar olmayan bir polimerden daha yüksek iletkenliğe sahip olduğunu bildirmiştir. SF, hidroksil ve karboksil grupları gibi birçok polar grup içeren bir biyopolimerdir. %10 PLA ve %0,5 PHB'nin SF ile karıştırıldığında çözeltinin iletkenliğinin arttığı ve böylece homojen liflerin oluşumuna yol açtığı sonucuna varılmıştır [21]. SF, hidroksil ve karboksil grupları gibi birçok polar grup içeren polar bir biyopolimerdir. PLA ve PHB, SF ile karıştırılıp elektrospinlendiğinde, çözeltinin iletkenliği artmış ve böylece düzgün lif oluşumuna yol açmış olduğu kanaatine varılmıştır [38].



Şekil 19.Nanofiberlerin SEM görüntüleri ve kalınlık diyagramları. (a-PLA ,b-PLA:PHB, c- PLA:PHB:SF0.5, d-PLA:PHB:SF1, e-PLA:PHB:SF1.5)

8.2.FTIR ile Nanofiberlerin Kimyasal Analizi

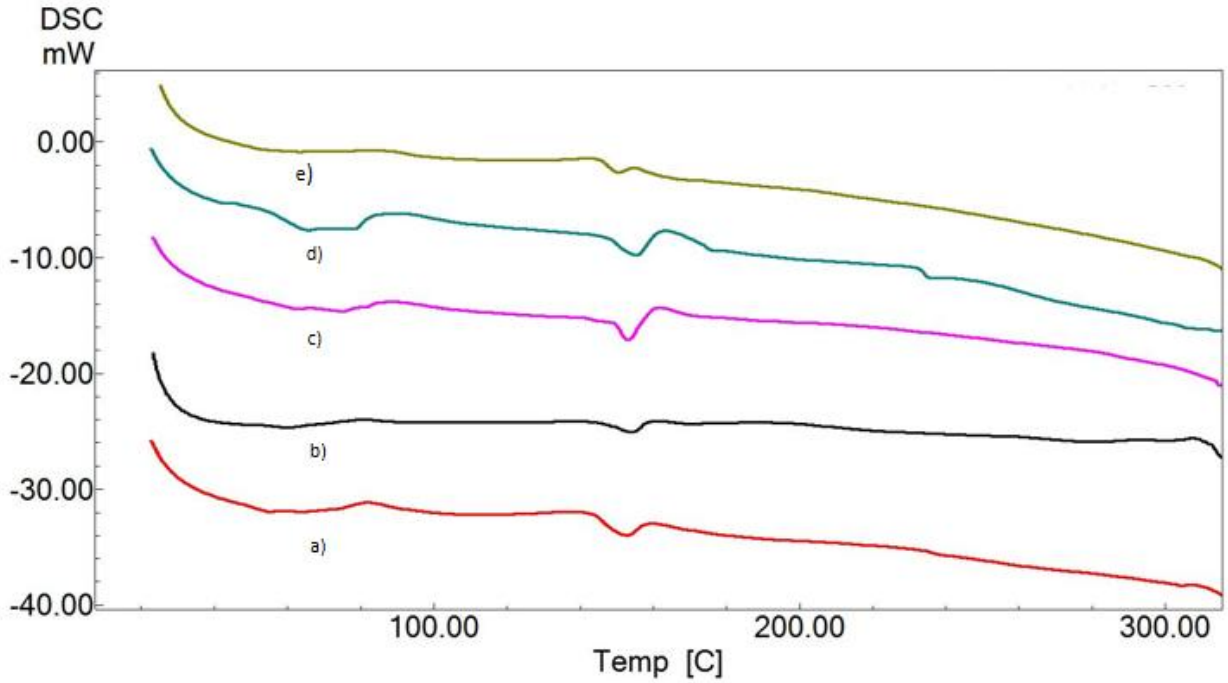
PHB ve SF ve PLA'nın çözeltileri, nanofibröz iskelelere elektrospinlendi ve iskelelerde PHB, SF ve PLA'nın varlığını doğrulamak için FT-IR kullanılarak analiz edilmiştir. Şekil 20'de verilen nanofiberlerin FT-IR spektrumları PHB, PLA ve SF bileşenlerine atanan tepeleri göstermektedir. Şekil 20a, PLA nanofiberinin FTIR spektrumlarını göstermektedir ve ~1700 cm-1'de (karbonilin gerilme titreşimi), ~1400 cm-1'de (bir karbon-hidrojen bağının deformasyon titreşimi), ~1300 cm-1'de, ~1260 cm-1'de (karbonilin antisimetrik gerilme titreşimi), ~1100 cm-1'de (karbonilin gerilme titreşimi), ~1000 cm-1'de (bir karbon-oksijen bağının antisimetrik gerilme titreşimi), ~800 cm-1'de, ~750 cm-1'de ve ~690 cm-1'de (karbon-hidrojen bağının bükülme titreşimi) ana tepeler gözlenmiştir[38]. Şekil 20b'de, PLA:PHB nanofiberi, PLA spektrumunun aksine, ~1750 cm-1'de (karbonilin gerilme titreşimi), ~1300 cm-1'de (bir karbon-oksijen bağının deformasyon titreşimi) baskın tepe noktaları gözlemlenmiştir. Ayrıca daha düşük frekanslı bir karbonil tepe noktası ve farklı ester titreşimleri gözlenmiştir. Şekil 20c'de, SF'nin karakteristik kızılötesi bantları ~1620-1650 cm^{-1} (Amid I, C=O gerilmesi), ~1515-1580 cm^{-1} (Amid II, N-H bağı) ve ~1200-1300 cm^{-1}'de (Amid III, C-N ve N-H bağı) gözlenmiştir. Şekil 20d, 20e ve 20f'de, SF'nin PLA ve PHB'ye ek olarak sırasıyla %0,5, %1 ve %1,5 konsantrasyonlarında mevcut olduğu durumlarda, ~1700-1750 cm^{-1}'de baskın tepeler tespit edilmiştir. Bu tepeler, PLA ve PHB'nin karbonil tepelerine karşılık gelmektedir. Yoğunlukları bileşim oranlarına göre değişmiştir, ~1620-1650 cm^{-1}'de gözlemlenen tepeler, fibroin içeriği arttıkça daha belirgin hale gelmesi beklenen SF Amid I tepesine işaret etmektedir. Ayrıca, ~1515-1580 cm^{-1}'deki Amid II titreşimleri, SF oranına bağlı olarak değişmektedir[41].



Şekil 20.Nanofiberlerin FTIR diyagram sonuçları. a)PLA:PHB:SF1.5 , b)PLA:PHB:SF1, c) PLA:PHB:SF0.5 , d) İpek Fibroin, e) PLA:PHB f)PLA

8.3.DSC ile Nanofiberlerin Termal Analizi

Nanofiberlerin termal özellikleri, DSC yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. PLA, ergime sıcaklığı 150-170 °C arasında olan bir polimerdir [42]. Şekil 21a'da görüldüğü gibi, PLA'nın ergime sıcaklığı 165 °C'de görülmüştür. PLA, oran açısından en baskın örnek olduğundan, bu tepe tüm nanofiberlerde gözlenmiştir. PHB, ergime sıcaklığı (Tm) 160,98 °C ve camsı geçiş sıcaklığı (Tg) 8,69 °C olan yarı kristalin bir polimerdir [43]. Sonuçlarda %0,5 PHB ilavesinin, PLA'nın ergime sıcaklığını hafifçe düşürdüğü görülmüştür (Şekil 21b). Ayrıca, çeşitli konsantrasyonlarda SF ilavesiyle, PLA'nın ergime sıcaklığının neredeyse düştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 21 c, d, e).



Şekil 21.Nanofiberlerin DSC diyagram sonuçları. a- PLA, b- PLA:PHB, c- PLA:PHB:SF0.5 ,d- PLA:PHB:SF1,e-PLA:PHB:SF1.5

8.4.Nanofiberlerin Mekanik Özellikleri

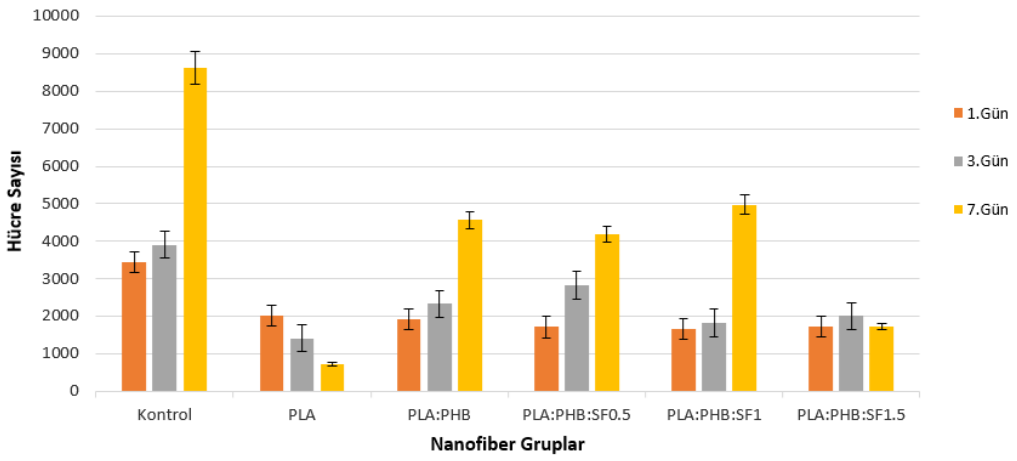
Nanofiber iskelelerin mekanik özellikleri çekme dayanımı testi ile ölçülmüştür. Tablo 3 çekme dayanımı ve kopma uzaması dâhil olmak üzere mekanik sonuçları göstermektedir. PLA için ölçülen çekme dayanımı 1,320 ± 0,119 MPa, PLA:PHB: numuneleri için ise 0,939 ± 0,100 MPa olarak bulunmuştur. PLA:PHB:SF0.5 numunesinin çekme dayanımı değeri 0,953 ± 0,325 MPa olarak bulunmuştur. Bununla birlikte, PLA:PHB:SF1 nanofiberlerinin çekme dayanımının 1,933 ± 0,241 MPa olacak şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Daha sonra PLA:PHB:SF1.5 nanofiber numunesinin çekme dayanımı 0,842 ± 0,116 MPa değerine düşmüştür. PLA nanofiber numunesinin uzama kopma değeri %21,569 ± 2,381, PLA:PHB nanofiber numunesinin uzama kopma değeri %8,694 ± 4,993, PLA:PHB:SF0.5 nanofiber numunesinin uzama kopma değeri 3,494 ± 1,825, PLA:PHB:SF1 nanofiber numunesinin uzama kopma değeri ise 14,702 ± 0,841 değerine yükselmiştir. SF'nin PHB ile daha fazla etkileşimi, PHB/SF kompoziti için uzama kırılması değerinde %10,164 ± 2,088'lik bir azalmaya yol açmıştır. Bu sonuçlar, PLA:PHB:SF1numunesinin en yüksek mekanik mukavemete sahip olduğunu ve doku mühendisliği için ideal bir yapı oluşturabileceğini göstermiştir [38].

Tablo 3. Nanofiberlerin mekanik özellikleri.

Nanofiberler	Çekme Gerilmesi (MPa)	Kopma Uzaması(%)
PLA	1.320±0.119	21.569±2.381
PLA:PHB	0.939±0.100	8.694±4.993
PLA:PHB:SF0.5	0.953±0.325	3.494±1.825
PLA:PHB:SF1	1.933±0.241	14.702±0.841
PLA:PHB:SF1.5	0.842±0.116	10.164±2.088

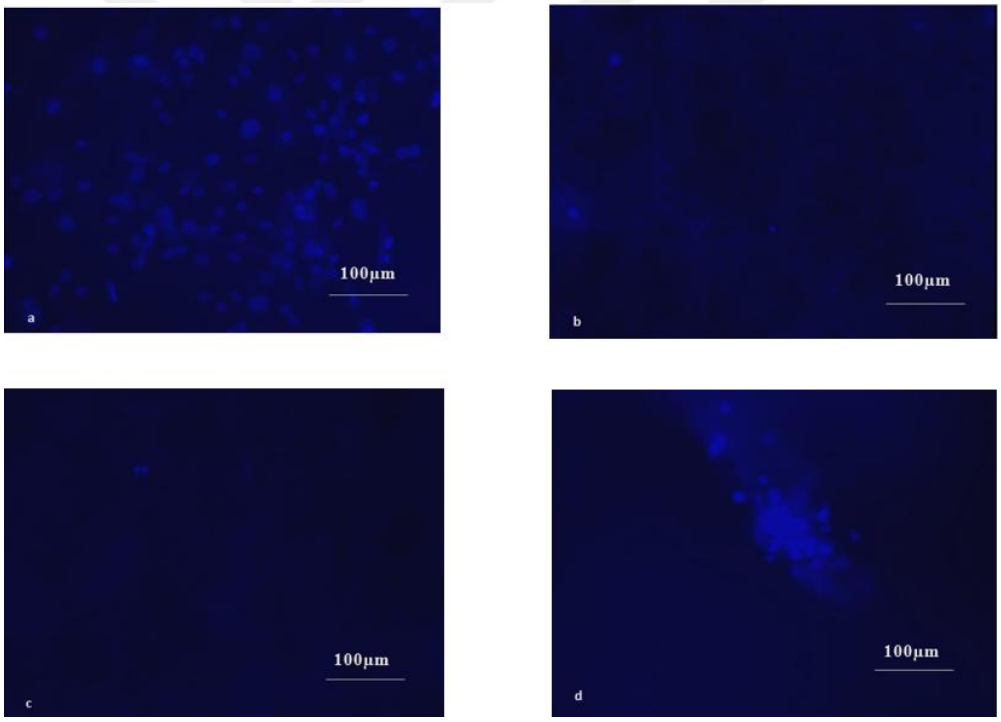
8.5. Hücre Canlılık Analizi

Nanofiberler üzerindeki hücre canlılığı sonuçları 1, 3 ve 7 günlük inkübasyondan sonra Şekil 22'de gösterilmiştir. Hücre yapışması 1. günde tüm nanofiberlerde gözlemlenmiştir. Üçüncü günde, hücre büyümesi PLA hariç tüm nanofiberlerde belirgindi. Bu, biyomalzemelerin bozunma yan ürünlerinden kaynaklanan hafif bir toksisite veya üretim sürecinden kalan kalıntılarla ilişkili olabileceği görülmüştür [44]. Sonuç olarak, SF ve PHB'nin eklenmesinin PLA bazlı nanofiberlerin biyouyumluluğunu artırdığı gözlemlenmektedir. En yüksek hücre sayısı 7. günde PLA:PHB:SF0.5 nanofiberinde kaydedilirken, en yüksek hücre canlılığı PLA:PHB:SF1'de gözlemlenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla PLA ve PLA:PHB:SF1.5 nanofiberlerinde hücre sayısında önemli bir azalma tespit edilmiştir; bu, SF ekstraksiyonundan elde edilen serisin kalıntılarının potansiyel sitotoksik etkilerine atfedilebilmektedir [45]. Genel olarak, PLA:PHB:SF nanofiberlerinin biyouyumlu olduğu, özellikle PLA:PHB:SF1 bileşiminin hücre canlılığını desteklediği gözlemlenmiştir.



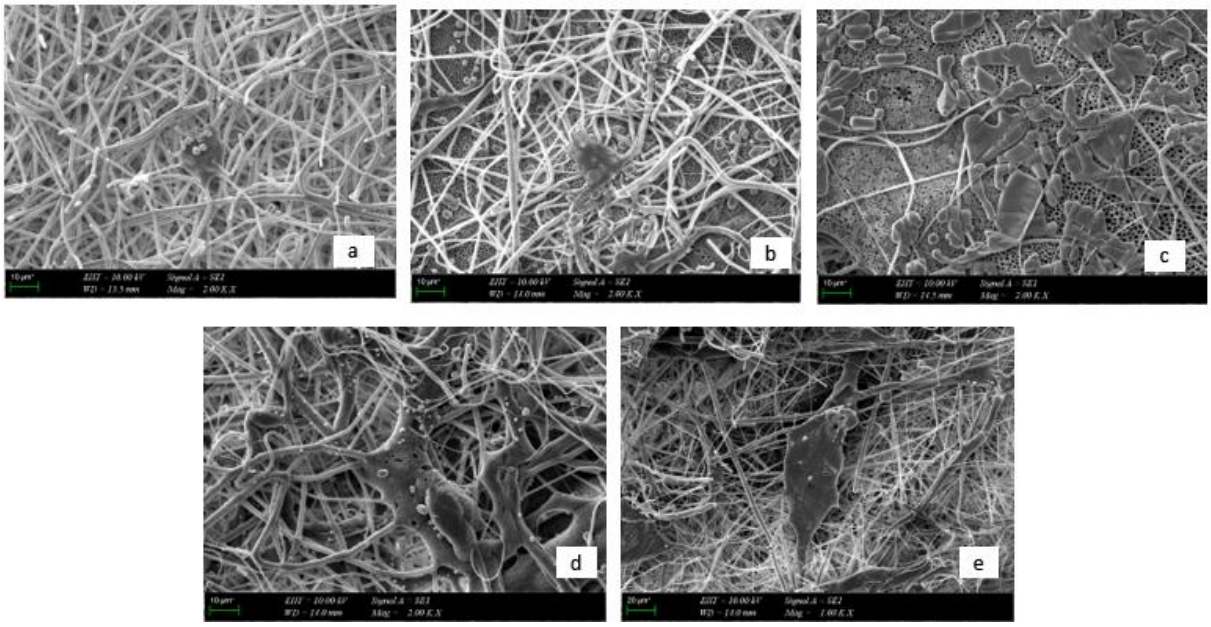
Şekil 22. Nanofiberler üzerindeki hücrelerin canlılık grafiği.

Nanofiberlerin 7 günlük inkübasyondan sonraki immünofloresan DAPI boyama görüntüleri Şekil 23'de gösterilmiştir. Görüntülere göre PLA:PHB nanofiberlerinde hücre çekirdeklerinin, yani hücrelerin, homojen dağılım gösterdiği söylenebilir. PLA:PHB:SF1.5 örneğinde hücrelerin nanofiberin belirli bölgelerinde kümeler oluşturduğu gözlemlenmiştir. Bu, MTT analizi sonucunda gözlemlenen hücre sayısındaki düşüşü doğrular niteliktedir. Diğer nanofiberlerde (23b,23c) hücre dağılımının homojen olmadığı gözlemlenmiştir, ancak hücre sayısında azalma görülmemiştir. Hücrelerin kültür sırasında yeterince çoğalmamış olması ve malzeme üretiminde kullanılan toksik bileşenler, hücre sayısının az olmasına sebep olabilmektedir [46]. Bunun yanı sıra, fiksasyon sürecinde hücrelerin zarar görmesi, yanlış fiksatif kullanımı, aşırı yıkama ya da mekanik hasar hücre sayısında azalma gösterebilmektedir. Hücrelerin yüzeye iyi yapışamaması, yıkama adımları sırasında hücre kaybına neden olabilmektedir [47].



Şekil 23. **Hücreli nanofiberlerin 7.gün sonunda floresan mikroskop görüntüleri, a-PLA:PHB, b-PLA:PHB:SF 0.5, c-PLA:PHB:SF 1, d-PLA:PHB:SF 1.5**

Elektrospinning yöntemiyle elde edilen nanofiberlerin hücreli SEM görüntüleri, Şekil 24'de gösterilmiştir. Nanofiber matrislerin hücre tutunması ve yayılımı üzerindeki etkisinin nanofiber içeriğine bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Saf PLA numunesinde lifler oldukça düzgün ve homojen dağılmış olsa da hücre yapışmasının sınırlı olduğu, hücre uzantılarının belirgin şekilde gözlenmediği anlaşılmaktadır. PLA:PHB numunesinde ise lif yoğunluğu artmış ve kalınlık farklılıkları oluşmuştur; bu durum hücrelerin yüzeye daha iyi tutunmasını sağlamış, bazı hücre uzantılarının liflere bağlandığı görülmüştür. SF katkısının başladığı PLA:PHB:SF 0.5 numunesinde yüzeyin daha pürüzlü bir hal aldığı gözlemlenmiştir. Bu yapı, hücrelerin yüzeye daha fazla tutunmasına olanak sağlamış ve hücrelerin yüzeyde daha fazla yayıldığı görülmüştür. Bu yayılma, PLA:PHB:SF 1 numunesinde daha belirgin olarak gözlenmekte ve hücreler arasında bağlantıların da oluştuğu görülmektedir. SF oranının arttığı PLA:PHB:SF 1.5 numunesinde de hücreler yüzeye tutunma yayılma göstermişlerdir. Genel olarak, SF oranının artması ile birlikte nanofiber yüzeylerin biyouyumluluğunun belirgin şekilde arttığı ve hücre davranışlarında olumlu yönde etki yarattığı söylenebilir.



Şekil 24. Hücreli nanofiberlerin 7.gün sonunda hücreli SEM görüntüleri, a-PLA,b-PLA:PHB, c-PLA:PHB:SF 0.5, d-PLA:PHB:SF 1, e-PLA:PHB:SF 1.5

Elektrospinning yöntemiyle elde edilen nanofiberlerin SEM görüntülerinin, SF içeriğinin artışıyla birlikte fiber morfolojisinin daha homojen hale geldiğini ve gözenekli yapıların oluştuğunu göstermiştir. Özellikle PLA:PHB:SF1 numunesi, homojen fiber dağılımı ve uygun

çap aralığı ile en ideal morfolojik yapıya sahip numune olarak belirlenmiştir. FTIR analizleri, kullanılan her bir bileşenin karakteristik piklerini doğrulamış ve SF konsantrasyonunun artışıyla amid gruplarına ait tepelerin belirginleştiği görülmüştür. DSC sonuçları, PHB ve SF ilavesiyle PLA'nın ergime sıcaklığında düşüş olduğunu ortaya koymuş, bu durum bileşenler arası etkileşimle açıklanmıştır. Mekanik testlerde ise, PLA:PHB:SF1 numunesi hem çekme dayanımı hem de kopma uzaması açısından en yüksek performansı göstererek yapısal dayanıklılık bakımından öne çıkmıştır. Hücre canlılık analizleri, DAPI boyaması ve hücreli SEM görüntüleri, SF ve PHB katkısının PLA bazlı nanofiberlerin biyouyumluluğunu artırdığını ve hücre yapışması ile proliferasyonunu desteklediğini göstermiştir. Özellikle PLA:PHB:SF1 numunesi, en yüksek hücre canlılığına ve dengeli hücre dağılımına sahip olması ile doku mühendisliği uygulamaları için en umut verici aday olarak öne çıkmıştır. Bu kapsamda, çalışmada optimize edilen PLA:PHB:SF1 kompozisyonu, hem yapısal hem biyolojik açıdan üstün özellikler göstermiştir ve biyomalzeme tabanlı doku mühendisliği uygulamaları için potansiyel bir aday olarak değerlendirilmektedir.

9.Sonuç ve Beklentiler

Bu çalışmada, elektrospinning yöntemi ile üretilen PLA/PHB/SF bazlı nanofiberlerinin doku mühendisliği için uygunluğunu araştırılmıştır. Bunun için PLA/PHB/SF iskelelerinin mekanik, termal, kimyasal, morfolojik ve biyolojik özellikleri incelenmiştir. Biyouyumluluk sonuçları iskelelerin sitotoksik olmadığını ve mezenkimal kök hücrelerle biyouyumlu olduğunu kanıtlamıştır; özellikle PLA:PHB:SF1 numunesi, hücre canlılığı ve yayılması açısından en olumlu sonuçları vermiştir. SEM analizleri, homojen lif dağılımına sahip üç boyutlu iskele yapılarının elde edildiğini gösterirken; çekme testleri ise PLA:PHB:SF1 örneğinin mekanik dayanıklılığının yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen bulgular, tüm formülasyonların doku mühendisliği uygulamaları için uygun potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, bu tür nanofiber yapıların yara örtüsü malzemesi olarak kullanımı da oldukça umut vericidir. SF'nin içerdiği biyolojik olarak aktif gruplar ve gözenekli yapıların gaz alışverişine olanak sağlaması, yara bölgesinde hücre proliferasyonunu teşvik ederek iyileşme sürecini destekleyebilir. Özellikle PLA:PHB:SF1 kompozisyonunun hem biyouyumlu hem de mekanik açıdan dengeli yapısı sayesinde, yara örtüsü olarak uzun süreli koruma ve doku rejenerasyonuna katkı sağlayabileceği değerlendirilmektedir.

Kaynaklar

[1] S. Kaya and S. Derman, "Properties of Ideal Wound Dressing," *Ankara Univ. Eczac. Fak. Derg.*, vol. 47, no. 3, pp. 1119–1131, 2023, doi: 10.33483/jfpau.1253376.

[2] S. TORT and F. ACARTÜRK, "Wound Healing and Electrospun Wound Dressings: Review," *Turkiye Klin. J. Pharm. Sci.*, vol. 4, no. 2, pp. 68–78, 2015, doi: 10.5336/pharmsci.2015-45768.

[3] Z. Obagi, G. Damiani, A. Grada, and V. Falanga, "Principles of wound dressings: A review," *Surg. Technol. Int.*, vol. 35, no. September, pp. 1–8, 2019.

[4] B. Guo, R. Dong, Y. Liang, and M. Li, "Haemostatic materials for wound healing applications," *Nat. Rev. Chem.*, vol. 5, no. 11, pp. 773–791, 2021, doi: 10.1038/s41570-021-00323-z.

[5] N. N. Potekaev *et al.*, "The role of extracellular matrix in skin wound healing," *J. Clin. Med.*, vol. 10, no. 24, 2021, doi: 10.3390/jcm10245947.

[6] P. ÖZTAŞ, "Yaİyileşmesi, Bakimi VTedavisi," *Ankara Eğitim ve Araştırma Hastan. Tıp Derg.*, vol. 54, no. 2, pp. 341–351, 2021, doi: 10.20492/aeahtd.931499.

[7] S. Guo and L. A. DiPietro, "Critical review in oral biology & medicine: Factors affecting wound healing," *J. Dent. Res.*, vol. 89, no. 3, pp. 219–229, 2010, doi: 10.1177/0022034509359125.

[8] P. Aramwit, *Introduction to biomaterials for wound healing*, vol. 2, no. December. Elsevier Ltd, 2016.

[9] Y. S. E. Tan, P. J. Shi, C. J. Choo, A. Laude, and W. Y. Yeong, "Tissue engineering of retina and Bruch's membrane: A review of cells, materials and processes," *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 102, no. 9, pp. 1182–1187, 2018, doi: 10.1136/bjophthalmol-2017-311390.

[10] R. Guillamat-Prats, "The role of MSC in wound healing, scarring and regeneration," *Cells*, vol. 10, no. 7, 2021, doi: 10.3390/cells10071729.

[11] A. Mukhopadhyay, "Regenerative medicine: Laboratory to clinic," *Regen. Med. Lab. to Clin.*, pp. 1–537, 2017, doi: 10.1007/978-981-10-3701-6.

[12] Y. Lyu, Y. Liu, H. He, and H. Wang, “Application of Silk-Fibroin-Based Hydrogels in Tissue Engineering,” *Gels*, vol. 9, no. 5, 2023, doi: 10.3390/gels9050431.

[13] P. T. Brown, A. M. Handorf, W. Bae Jeon, and W.-J. Li, “Stem Cell-based Tissue Engineering Approaches for Musculoskeletal Regeneration,” *Curr. Pharm. Des.*, vol. 19, no. 19, pp. 3429–3445, 2013, doi: 10.2174/1381612811319999035O.

[14] B. Lo and L. Parham, “Ethical issues in stem cell research,” *Endocr. Rev.*, vol. 30, no. 3, pp. 204–213, 2009, doi: 10.1210/er.2008-0031.

[15] C. G. Song *et al.*, “Stem cells: A promising candidate to treat neurological disorders,” *Neural Regen. Res.*, vol. 13, no. 7, pp. 1294–1304, 2018, doi: 10.4103/1673-5374.235085.

[16] S. Salemi, J. A. Prange, V. Baumgartner, D. Mohr-Haralampieva, and D. Eberli, “Adult stem cell sources for skeletal and smooth muscle tissue engineering,” *Stem Cell Res. Ther.*, vol. 13, no. 1, pp. 1–12, 2022, doi: 10.1186/s13287-022-02835-x.

[17] L. Edgar *et al.*, “Regenerative medicine, organ bioengineering and transplantation,” *Br. J. Surg.*, vol. 107, no. 7, pp. 793–800, 2020, doi: 10.1002/bjs.11686.

[18] A. Moslehyani, J. Jaafar, A. F. Ismail, and T. Matsuura, *Electrospun Polymeric Nanofibers*. 2019.

[19] I. Donderwinkel, J. C. M. Van Hest, and N. R. Cameron, “Bio-inks for 3D bioprinting: Recent advances and future prospects,” *Polym. Chem.*, vol. 8, no. 31, pp. 4451–4471, 2017, doi: 10.1039/c7py00826k.

[20] Z. Shariatinia and K. Fasihozaman-Langroodi, *Biodegradable Polymer Nanobiocomposite Packaging Materials*. Elsevier Inc., 2019.

[21] M. Trese, C. V. Regatieri, and M. J. Young, “Advances in retinal tissue engineering,” *Materials (Basel).*, vol. 5, no. 1, pp. 108–120, 2012, doi: 10.3390/ma5010108.

[22] B. McAdam, M. B. Fournet, P. McDonald, and M. Mojicevic, “Production of polyhydroxybutyrate (PHB) and factors impacting its chemical and mechanical characteristics,” *Polymers (Basel).*, vol. 12, no. 12, pp. 1–20, 2020, doi: 10.3390/polym12122908.

[23] S. Gupta, H. Alrabaiah, M. Christophe, M. R. S. Nadeem, and A. Bit, “Evaluation of

silk-based bioink during pre and post 3D bioprinting : A review," no. July, pp. 1–15, 2020, doi: 10.1002/jbm.b.34699.

[24] B. Sabbatini, A. Cambriani, M. Cespi, G. F. Palmieri, D. R. Perinelli, and G. Bonacucina, "An overview of natural polymers as reinforcing agents for 3D printing," *ChemEngineering*, vol. 5, no. 4, 2021, doi: 10.3390/chemengineering5040078.

[25] D. Gholobova *et al.*, "Human tissue-engineered skeletal muscle: a novel 3D in vitro model for drug disposition and toxicity after intramuscular injection," *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–14, 2018, doi: 10.1038/s41598-018-30123-3.

[26] D. Chester, E. A. Marrow, M. A. Daniele, and A. C. Brown, *Wound healing and the host response in regenerative engineering*, vol. 1–3. Elsevier, 2019.

[27] L. Wei *et al.*, "3D printing of silk fibroin-based hybrid scaffold treated with platelet rich plasma for bone tissue engineering," *Bioact. Mater.*, vol. 4, no. September, pp. 256–260, 2019, doi: 10.1016/j.bioactmat.2019.09.001.

[28] F. Han, C. Zhu, L. Chen, J. Wicks, and B. Li, "Bio-Instructive Scaffolds for Bone Regeneration," *Bio-Instructive Scaffolds Musculoskelet. Tissue Eng. Regen. Med.*, pp. 55–84, 2017, doi: 10.1016/B978-0-12-803394-4.00003-3.

[29] S. Das *et al.*, "Bioprintable, cell-laden silk fibroin-gelatin hydrogel supporting multilineage differentiation of stem cells for fabrication of three-dimensional tissue constructs," *Acta Biomater.*, vol. 11, no. 1, pp. 233–246, 2015, doi: 10.1016/j.actbio.2014.09.023.

[30] M. Sasaki, "Silk protein, sericin, suppresses colon carcinogenesis induced by 1,2-dimethylhydrazine in mice," *Oncol. Rep.*, vol. 7, no. 5, pp. 1049–1052, 2000, doi: 10.3892/or.7.5.1049.

[31] Z. GÜN GÖK, M. Yiğitoğlu, and İ. Vargel, "İpek Serisin ve Potansiyel Uygulama Alanları," *Eur. J. Sci. Technol.*, no. 15, pp. 450–459, 2019, doi: 10.31590/ejosat.517226.

[32] M. A. Tomeh, R. Hadianamrei, and X. Zhao, "Silk fibroin as a functional biomaterial for drug and gene delivery," *Pharmaceutics*, vol. 11, no. 10, pp. 1–22, 2019, doi: 10.3390/pharmaceutics11100494.

[33] G. Li and S. Sun, “Silk Fibroin-Based Biomaterials for Tissue Engineering Applications,” *Molecules*, vol. 27, no. 9, 2022, doi: 10.3390/molecules27092757.

[34] M. T. Abu-Rub *et al.*, “Nano-textured self-assembled aligned collagen hydrogels promote directional neurite guidance and overcome inhibition by myelin associated glycoprotein,” *Soft Matter*, vol. 7, no. 6, pp. 2770–2781, 2011, doi: 10.1039/c0sm01062f.

[35] Y. H. Zhao, C. M. Niu, J. Q. Shi, Y. Y. Wang, Y. M. Yang, and H. B. Wang, “Novel conductive polypyrrole/silk fibroin scaffold for neural tissue repair,” *Neural Regen. Res.*, vol. 13, no. 8, pp. 1455–1464, 2018, doi: 10.4103/1673-5374.235303.

[36] M. Z. A. Zulkifli, D. Nordin, N. Shaari, and S. K. Kamarudin, “Overview of Electrospinning for Tissue Engineering Applications,” *Polymers (Basel).*, vol. 15, no. 11, pp. 1–27, 2023, doi: 10.3390/polym15112418.

[37] A. Rodriguez-Contreras, “Recent advances in the use of polyhydroyalkanoates in biomedicine,” *Bioengineering*, vol. 6, no. 3, pp. 1–14, 2019, doi: 10.3390/bioengineering6030082.

[38] Z. Karahaliloğlu, “Cell-compatible PHB/silk fibroin composite nanofiber mat for tissue engineering applications,” *Turkish J. Biol.*, vol. 41, no. 3, pp. 503–513, 2017, doi: 10.3906/biy-1610-46.

[39] A. C. Calikoglu Koyuncu, A. H. Nayman, D. Telci, and G. Torun Kose, “Tissue transglutaminase_variant 2-transduced mesenchymal stem cells and their chondrogenic potential,” *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 117, no. 6, pp. 1839–1852, 2020, doi: 10.1002/bit.27311.

[40] N. Zhong, T. Dong, Z. Chen, Y. Guo, Z. Shao, and X. Zhao, “A novel 3D-printed silk fibroin-based scaffold facilitates tracheal epithelium proliferation in vitro,” *J. Biomater. Appl.*, vol. 34, no. 1, pp. 3–11, 2019, doi: 10.1177/0885328219845092.

[41] S. Promnil, C. Ruksakulpiwat, P. O. Numpaisal, and Y. Ruksakulpiwat, “Electrospun Poly(lactic acid) and Silk Fibroin Based Nanofibrous Scaffold for Meniscus Tissue Engineering,” *Polymers (Basel).*, vol. 14, no. 12, 2022, doi: 10.3390/polym14122435.

[42] H. Kaczmarek, M. Nowicki, I. Vuković-Kwiatkowska, and S. Nowakowska,

"Crosslinked blends of poly(lactic acid) and polyacrylates: AFM, DSC and XRD studies," *J. Polym. Res.*, vol. 20, no. 3, 2013, doi: 10.1007/s10965-013-0091-y.

[43] S. Y. Chan *et al.*, "Electrospun pectin-polyhydroxybutyrate nanofibers for retinal tissue engineering," *ACS Omega*, vol. 2, no. 12, pp. 8959–8968, 2017, doi: 10.1021/acsomega.7b01604.

[44] M. Hussain, S. M. Khan, M. Shafiq, and N. Abbas, "A review on PLA-based biodegradable materials for biomedical applications," *Giant*, vol. 18, 2024, doi: 10.1016/j.giant.2024.100261.

[45] P. Aramwit, P. Towiwat, and T. Srichana, "Anti-inflammatory potential of silk sericin," *Nat. Prod. Commun.*, vol. 8, no. 4, pp. 501–504, 2013, doi: 10.1177/1934578x1300800424.

[46] T. Mahmood and P. C. Yang, "Western blot: Technique, theory, and trouble shooting," *N. Am. J. Med. Sci.*, vol. 4, no. 9, pp. 429–434, 2012, doi: 10.4103/1947-2714.100998.

[47] J. van der Valk *et al.*, "Optimization of chemically defined cell culture media - Replacing fetal bovine serum in mammalian in vitro methods," *Toxicol. Vitr.*, vol. 24, no. 4, pp. 1053–1063, 2010, doi: 10.1016/j.tiv.2010.03.016.

[46] Yara Grefti

https://www.3bscientific.com/tr/deri-grefti-yara-paneli-acik-ten-1022887-vata-3300,p_171_32071.html

Erişim tarihi:8.04.25

[47] Deri Vücut Parçaları

https://www.istockphoto.com/tr/foto%C4%9Fraflar/deri-v%C3%BCcut-par%C3%A7alar%C4%B1

Erişim tarihi:8.04.25

[48] Polilactic Acid

https://www.swicofil.com/commerce/products/pla/594/introduction

Erişim tarihi: 27.02.25

[49] Polyhydroxybutyrate

https://www.polysciences.com/german/catalog-products/polymers/biodegradable-polymers/polyhydroxybutyrate

Erişim Tarihi:27.02.25

[50]Liyofilizatörler

https://www.sem.com.tr/temel-laboratuar-sistemleri/liyofilizatorler/

Erişim tarihi:17.02.25

[51]What is 3D bioprinting?

https://all3dp.com/2/what-is-3d-bioprinting-simply-explained/

Erişim tarihi:23.02.25

[52]Nanolif Üretimi ve Uygulamaları

https://www.teknikteks til.org.tr/wp-content/uploads/2022/12/22.Nanolif-Uretimi-ve-Uygulamalari.pdf

Erişim tarihi:17.02.25

Özgeçmiş

Adı-Soyad :Süreyya Elif Çelik

Yabancı dil : İngilizce

Öğrenim bilgileri : Lisans Metalurji ve Malzeme Mühendisliği (2018-2022)

Yüksek Lisans-Marmara Üniversitesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği (2023-2025)

Deneyimler : Demetal Metalurji ve Malzeme Müh. (Stajyer)

NBUAM (Araştırmacı)

NanoBioMat 2022-Summer Edition (En iyi sunum ödülü)

NanoBioMat 2024 – Winter Edition

Akademik Yayın: :

- Fabrication of Amphotericin B Loaded Sodium Alginate Nanoparticles for Biomedical Applications BioNanoScience · Aug 5, 2022 DOI:https://doi.org/10.1007/s12668022-01018-5
- Kongre sunumu: NanoBioMat 2024 – Winter Edition
  Fabrication of Electrospun Polylactic acid/Polyhydroxybutyrate/Silk Fibroin Nanofibers to Obtain Retinal Nerve Fiber Layer and Its Application for Retinal Disease