






# Düzcce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Derleme Makalesi

## Doku Mühendisliğinde Yeni Tip Grafen Esaslı Kemik İskelesi

 Mine Kırkbınar<sup>a,\*</sup>,  Erhan İbrahimoglu, <sup>a</sup> Fatih Çalışkan<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği, Esentepe Kampüsü, Serdivan, Sakarya, Türkiye

\* Sorumlu yazarın e-posta adresi: [mnekrkbnr@hotmail.com](mailto:mnekrkbnr@hotmail.com)

DOI: 10.29130/dubited.1079780

### Öz

Biyoyimplant mühendisliği hasarlı dokuları ve organları onarmak, tamir etmek ya da korumayı amaçlamaktadır. Her yıl çok sayıda insan kaza ya da çeşitli hastalıklardan kaynaklı olan iskelet kusurlarındaki kemikleri onarmak/tamir etmek istemektedir. Bu nedenle üzerinde yeni kemik büyümesinin oluşabileceği iskeleleri oluşturabilmek çok farklı biyomalzeme türleri kullanılmıştır. Hidroksiapatit, apatit wollostonit ve karbon temelli biyomalzemeler bu amaçla kullanılmıştır. Karbon nanomaterial baskılı iskeleler ticari olarak ulaşılabilirlik, mekanik stabilite, biyolojik uyumluluk özelliklerinden dolayı kullanımı oldukça yaygın biyomalzeme grubudur. Karbon esaslı iskeleler osteojenik farklılaşma, kemik doku yenilenmesi, etkili hücre çoğalması özelliği göstermektedir. Kemik iskeleleri doku mühendisliğinde kemik büyümesi, yenilenmesi, tamiri, kemik dokusu hücrelerinde farklılaşma, adhezyon için temel yapı taşı olarak görülmektedir. Kemik iskeleleri gibi hareket eden çok sayıda karbon nanomateriali mevcuttur. Karbon nanotüpler, grafen ve fulleren kemik iskelesi olarak kullanılabilen karbon esaslı malzemelerin başlıcalarıdır. Grafen ve türevleri dikkat çekici fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip 2D karbon esaslı bir malzemedir. Grafen mükemmel elektriksel iletkenliği, biyoyuymuluğu, yüzey alanı ve termal özellikleri yüzünden bilim dünyası tarafından ilgi görmektedir. Grafenin tabakaları yüksek mekanik dirence ve yüksek spesifik yüzey alanına sahiptir. Dahası grafenin kök hücre farklılaşmasını ve biyomaterial özelliklerini geliştirdiği literatürde raporlanmıştır. Gerçekleştirilen çalışmada grafenin biyoyuymuluk özellikleri, grafenin biyomaterial olarak kullanımına dair son çalışmalar ve karbon temelli maddelerin klinik olarak uygulanabilmesi amacıyla biyogüvenlik tartışmaları incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Biyomalzemeler, Kemik iskeleti, Grafenoksit, Hidroksiapatit*

## A New Type of Graphene Based Bone Scaffold in Tissue Engineering

### ABSTRACT

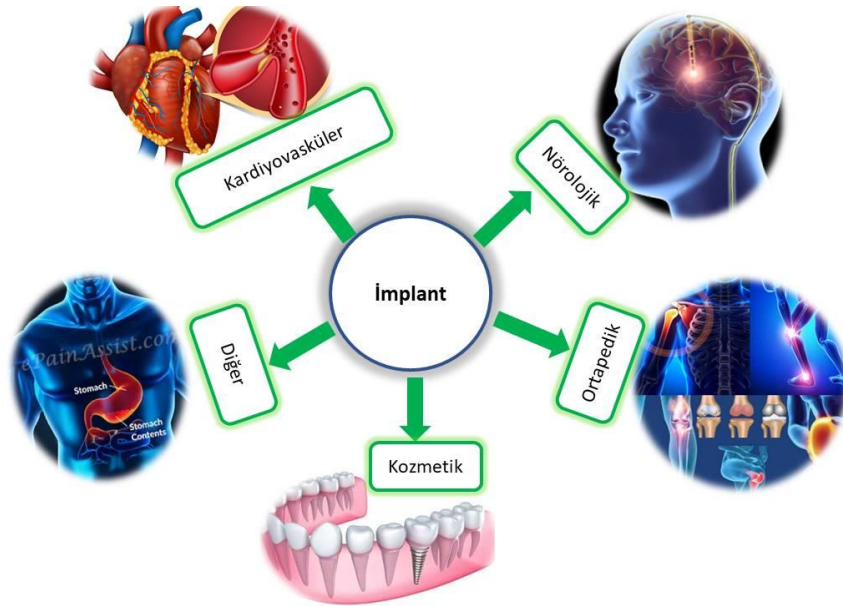
The aim of bioimplant technology is to repair, repair or preserve damaged tissues and organs. Every year, many people want to fix/repair bones in skeletal defects caused by accidents or various diseases. For this reason, many different types of biomaterials have been used to create scaffolds on which new bone growth can take place. Hydroxyapatite, apatite-wollostonite, and carbon-based biomaterials have been used for this purpose. Scaffolds printed with carbon nanomaterials are a widely used group of biomaterials because of their commercial availability, mechanical stability, and biocompatibility. Carbon-based scaffolds demonstrate osteogenic differentiation, bone tissue regeneration, and efficient cell proliferation. Bone scaffolds are considered to be the basic building blocks for bone growth, regeneration, repair, differentiation, and adhesion in bone tissue cells in tissue engineering. Many carbon nanomaterials are available that act as skeletons. Carbon nanotubes, graphene, and fullerene are the main carbon-based materials that can be used as skeletons. Graphene and its derivatives are a 2D carbon-based material with remarkable physical, chemical, and biological properties. Graphene is of interest to the scientific community because of its excellent electrical conductivity, biocompatibility, surface area, and thermal properties. Graphene sheets have high mechanical strength and large specific surface area. In addition, it has been reported in the literature that graphene enhances stem cell differentiation and biomaterial properties. The

conducted study examined the biocompatibility properties of graphene, current studies on the use of graphene as a biomaterial, and biosafety discussions for the clinical application of carbon-based materials.

**Keywords:** Biomaterials, Scaffold, graphenoxide, hydroxyapatite

## I. GİRİŞ

Nanoteknoloji malzemelerin nano ölçeğinde fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak özellik ve yapılarının değiştirilebildiği multi-disiplinli bir alandır. Nanomateryaller temeli makro ölçekte farkedilemeyen ancak nano boyut ölçeğinde farklı özellikler sergileyen malzemelerdir. Bu alandaki yapılan yenilikler de tıp, moleküler biyoloji, biyoteknoloji, çevre bilimi alanlarında sayısız uygulama için fırsat olmuştur. Doku mühendisliğinde iskelet uygulamaları, kanser tedavileri, medikal görüntülemeler gibi birçok alanda tanı ve teşhis amacıyla kullanılmasıyla nanoteknolojinin medikal uygulamalarda önemi farkedilmiştir. Artan nüfus artışı ve hastalıklara bağlı olarak biyoimplant kullanım sayısı artmaktadır. Biyoimplantlar şekil bozuklukları, ortopedik rahatsızlıklar, diş hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik bozukluklar gibi birçok alanda kullanılmaktadır [1, 2]. Şekil 1’de vücutta biyomalzemelerin vücutta kullanıldığı farklı alanlara ait şematik görsel paylaşılmıştır.

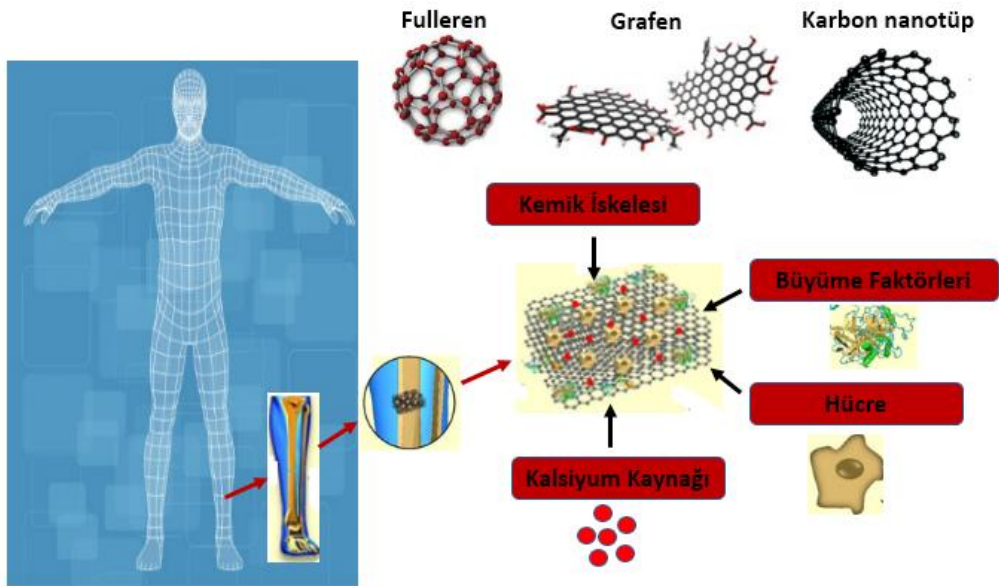


**Şekil 1.** Vücutta biyomalzemelere ait farklı kullanım alanlarına ait örnekler

İki ya da daha fazla malzemenin farklı kompozisyon ve morfolojilerde birleştirilmesiyle fiziksel kimyasal özellikleri değiştirilebilmektedir. Yapılan kompozit malzemeler ile ana malzemenin mekanik ve biyoaktivite özellikleri artırılabilir. Geliştirilen özellikleri sayesinde bu biyokompozitler protez parçalarda, ilaçlarda, kuvvetlendirici materyallerde kullanılmaktadır[3,4]. Kompozit malzemeler tek bileşenli malzemelere oranla daha yüksek özellikler göstermesine rağmen halen farklı özelliklerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Örneğin termoplastik reçine kompozitleri termoplastik olanlardan daha düşük oranda toksik olmasına karşın çatlak ilerlemesine yatkındır [5]. Seramik-polimer esaslı(SP) kompozit malzemeler biyoaktif olmasına rağmen alerjik reaksiyonları tetiklemektedir. Ayrıca SP kompozitleri polimer malzemelerin mekanik özelliklerinin kötü olması nedeniyle kötü seramik özellikler göstermektedir[6]. SP kompozitlerinde mevcut ilerlemeler, geleceğin malzemelerini ve yöntemlerini oluşturmak için araştırmacıların büyük ilgisini çekmektedir. Vücutta kaza vb durumlarda yaralanmalar sonucunda oluşan ve hayatı ciddi durumda etkileyen kemik hastalıklarının onarımı spesifik konuların başında gelmektedir. Elde edilen kompozit malzemeler kemik iskelesi olarak kullanımlarında insan hayatını önemli derecede etkilemektedir.

İskeleler doku mühendisliğinin kalbi olarak adlandırılmaktadır. Uygun iskeleler olmadan yapay çevrede kemik hücrelerinin büyümesi mümkün değildir. İnsan hücrelerinin içerisinde en kritik türlerinden olan kemik hücreleri canlı kemiğin büyümesine izin vermek için iyi dizayn edilmiş iskelelere ihtiyaç duymaktadır. Zarar görmüş dokuları sağlıklı olanla değiştirmek ya da kemik yenilenmesi insan hayatını olumsuz etkilediği için bu ihtiyacın acilen giderilmesi gereklidir. Son yıllarda bu tür iskeleleri üretmek için araştırmalar yeni yaklaşımlar üzerine yoğunlaştırılmıştır ve nanoteknoloji ile kombine edilen doku mühendisliği uygulamaları geleneksel doku onarım yöntemlerine umut verici bir alternatif olarak görülmektedir[7,8]. Multidisipliner bilimdeki yeni yaklaşımlar; hasarlı dokuları yenilemek ve onarmak üzerine kurgulanmaktadır. Yaklaşımlar doğal dokudan daha iyi davranabilen spesifik ve fonksiyonel dokuları büyütmek üzerine kurgulanmıştır[9]. Temel bilimler(kimya, mühendislik vb.) hasarlı dokuları geliştirmek için yaşam bilimleri (biyoloji, tıp) alanlarıyla birleşerek ortak çalışmalar yapmaktadır[10]. Doku ya da organ nakli bekleyen insanların, bekleme süreci boyunca yaşamlarını kaybetmeleri gibi problemleri ortadan kaldırmak için, ideal biyolojik modellemeler ile yapay organlar üretilebilmektedir [11]. Kemik iskelelerini inşa etmek için yapay ya da doğal materyaller kullanılmaktadır. Kemik iskeleleri alerjik ve toksik etkiye sahip olmamalıdır. Aynı zamanda iskeleler iltahaplanmaya yol açmayarak yüksek biyouyumluluk göstermelidirler. Ayrıca iskeleler dokuya özgü hücre tipleri ve dokuyu alacak bireyin çevre dokularıyla uyumlu olmalıdırlar. Kemik yapısı vücutta bulunan diğer organlara kıyasla yüksek mekanik özelliklere sahip olması nedeniyle biyomedikal uygulamalarda başlıca hedefdir.

Karbon atomu yapısı nedeniyle bileşikleriyle 4 bağ yapabilmektedir, bu nedenle doğada farklı formlarda bulunabilmektedir. Elmas, grafen, fulleren, karbon nanotüpler bu yapılardan bazılarıdır. Literatürde karbon esaslı malzemelerin kemik onarımında ve kemik iskelelerinde kullanımına dair çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Sitharaman ve arkadaşları tavşanlar üzerinde tek duvarlı karbon nanotüpler kullanarak ürettikleri kemik iskelelerinde hücre davranışı ve büyüme oranında belirgin etki gözlemlemişlerdir. Ayrıca çalışmalarında uygun kimyasal kompozisyonun hücre çoğalması ve büyümesinde kritik öneme sahip olduğu raporlamışlardır[12]. Karbon esaslı malzemeler kimyasal dayanım ve mekanik özelliklerinin yüksek olması nedeniyle biyomedikal uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadırlar. Nanomateryallerin pek çoğu yüksek mekanik özellik ve iyi antibakteriyel etki göstermektedir[13]. Benzersiz özelliklerinden dolayı(özellikle mekanik) biyomedikal uygulamalarda karbon esaslı malzemeler ana matris ya da takviye olarak kullanılmaktadır[14]. Şekil 2’de karbon esaslı kemik iskelelerine dair şematik bir görsel paylaşılmıştır. Şekildeki görsel incelendiğinde farklı yapıların kemik iskelet sistemlerinde kullanılabileceği gözlemlenmektedir.



Şekil 2. Vücutta kullanılan karbon temelli kemik iskeleleri şematik gösterimi

Karbon esaslı malzemelerden grafen diğer türevlerine kıyasla biyomedikal uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Son yıllarda gerçekleştirilen araştırmalarda grafen ve türevlerinin, karbon nanotüplere oranla yüksek biyoyumluluk, hücrelerin adhezyon, migrasyon, proliferasyon gibi özellikleri üzerinde daha olumlu etkiler gösterdiği sonuçları raporlanmıştır. Elde edilen veriler ve literatür çalışmaları ışığında araştırmacılar için biyomedikal uygulamalarda kullanılmak için grafen türevleri gözde malzeme olmuştur[15].Yapılan çalışmalarda grafen ve türevlerinin medikal alanda kullanımına dair çalışmalar arttırılmıştır. Tablo 1’de karbon temelli malzemelere ait bazı özellikler paylaşılmıştır. Tablodaki veriler incelendiğinde grafen diğer karbon esaslı malzemelere oranla daha yüksek yüzey alanı ve Young modülüne sahiptir. Young modülünün yüksek olması mekanik özelliklerinin daha iyi olduğunu ispat etmektedir. Yüzey alanının artması ise kemik iskelesi uygulamalarında doku temasının artmasını sağlayarak kemik büyümesini kolaylaştırıcı etki göstermektedir.

*Tablo 1.Karbon türevleri ve fiziksel özellikleri[15].*

Özellik	Grafen	Karbon Nanotüp	Grafit	Fulleren
Yüzey Alanı (m <sup>2</sup> /g)	2630	1315	10	5
Termal İletkenlik(W/mK)	5000	>3000 (MWCNTs) 3	3000	0,4
Mobilite	15000 SiO üzerinde SiO üzerinde 200.000 serbest halde	100000	13000	0,56
Young Modülü(TPa)	1	0,64	1,06	0,01
Optik Geçirgenlik(%)	97,7	-	-	-

Grafenoksit (GO) karbon atomlarının sp<sup>2</sup> hibritleşmesiyle bal peteği şeklinde oluşan yüksek mekanik ve elastikiyet modülü gösteren tek tabakalı bir yapıdır. Dahası GO benzersiz elektronik özelliklere, kimyasal olarak fonksiyonelleştirilebilecek yüzey alanına sahiptir[16].Grafen indirgenmiş grafen oksit(rGO) ve grafen oksit(GO) olmak üzere 2 forma sahiptir. Grafenoksit, grafiti okside ederek elde edilmektedir. GO ile üretilen biyomalzemelerin, GO katkısı ile mekanik ve bioaktivite özellikleri gelişmektedir [17]. İkinci form olan rGO ise, GO içeriğinde bulunan oksijen içeriklerinin yok edilmesi ile elde edilmektedir[18]. GO’in kimyasal yöntemlerle ya da ısıl yöntemlerle indirgenmesiyle rGO yapısı oluşturulmaktadır. Bu işlem sonucunda elde edilen rGO, GO yapısına benzemesine rağmen yüzeyinde kusurlar ve oksijen içeren gruplar barındırabilir[19]. GO bir kaç farklı yöntem ile (CVD, Hummer, modifiye Hummer vb) üretilmektedir. Ayrıca üretilen GO başka materyallerin yüzeyine kaplanabilmektedir[20]. GO ile hazırlanan kaplamalar yüksek elektriksel ve biyoyumluluk özellikleri nedeniyle biyosensörlerde kullanılabilir.

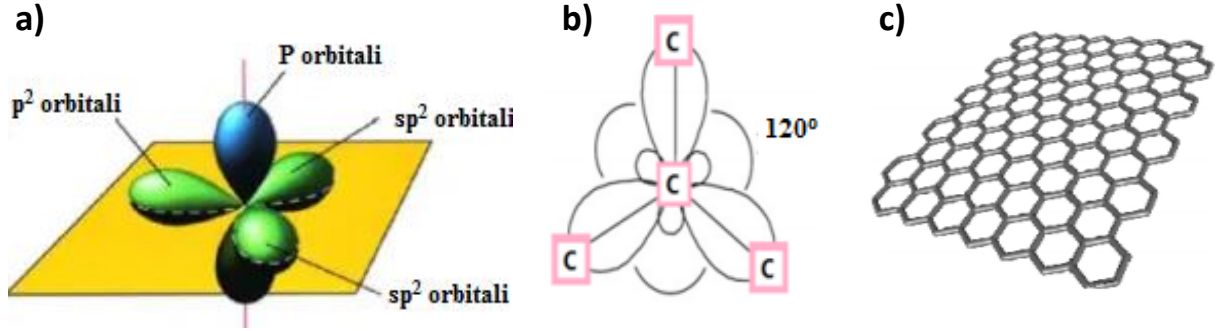
Bu çalışmada GO yapısının oluşumu, üretim yöntemi ele alınmıştır. Literatürde bulunan GO kompozit malzemelerin mekanik ve biyoyumluluk özellikleri incelenmiştir. Son dönemlerde yapılan güncel çalışmalar derlenerek GO biyokompozitleri ve onların kemik iskelesi olarak kullanımına dair çalışmalar paylaşılmıştır.

## **DENEYSEL ÇALIŞMALAR**

### **2.1. Grafen Esaslı Seramik Kompozitler**

Grafen(G) karbon atomlarının sp<sup>2</sup> hibritleşmesiyle halka yapısında oluşan tek atom kalınlığında 2 boyutlu karbon formudur. Grafenler bir ya da çoklu tabakalı olabilmektedir. Katman sayısının artması ile GO fiziksel özellikleri değişmektedir, hatta 10 kat ve üzerinde grafit olarak davranmaktadır[21,22].

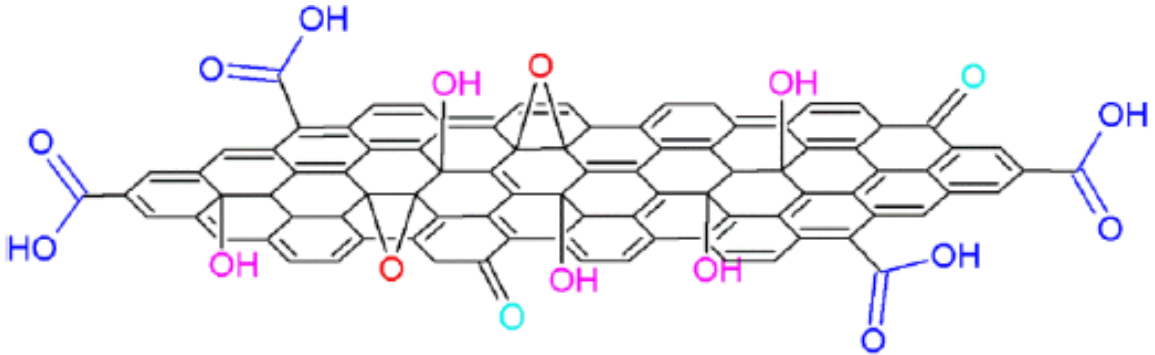
Bu nedenle GO üretilirken tek tabaka üretilmesi, hem özelliklerinin maksimum olması hemde kemik büyümesine daha çok imkan sağlaması nedeniyle önemlidir. Şekil 3’ de karbonun hibritleşmesi ve grafenin moleküler yapısına ait gösterim verilmiştir.



Şekil 3. (a, b) Karbonun  $sp^2$  hibritleşmesi, (c) grafenin moleküler yapısı

Grafen günümüzde keşfedilen malzemeler içerisinde tek atom kalınlığına sahip olması sebebiyle en ince malzeme olarak kabul edilmektedir [23]. 2004 yılında Andre ve arkadaşlarının selo bant vasıtasıyla 3 boyutlu grafitten ayrıştırarak elde ettikleri grafen nano teknolojinin göz bebeği olmuştur.  $Sp^2$  hibritleşmesi ile balpeteği yapısındaki grafen ve türevlerine yüksek biyoyumluluk, yüksek kimyasal dayanım, yüksek elektriksel iletkenlik, esneklik ve yüksek mukavemet gibi olağanüstü özellikler kazandırılmaktadır.

Grafen oksit, karbonil, karboksil (COOH), hidroksil (OH) ve epoksi (>O) gibi farklı oksijen içeren fonksiyonel gruplara sahip olan grafenin yüksek oranda oksitlenmiş bir formudur. Şekil 4’te verilen şematik görselde olduğu gibi tabakaların hem kenar hem bazal düzleminde bulunan fonksiyonel gruplar, D aralığının artmasına yol açar ve oksitlenmiş karbon atomlarının hibridizasyonunu düzlemsel  $sp^2$ ’den tetrahedral  $sp^3$ ’e değiştirir. Yüzeydeki oksijenli kısımlar GO için oldukça hidrofilik avantaj sağlar. Bu sayede vücutta kullanıldığında; vücut sıvısına maruz kalan kemik iskelelerinin bozunmasını önlenmiş olmaktadır. Şekil 4’de grafen oksitin moleküler yapısına ait şematik gösterim paylaşılmıştır.



Şekil 4. GO’ye ait şematik gösterim [24].

GO farklı özellikleri ile geniş kullanım alanına sahiptir. GO esneklik özelliği sayesinde giyilebilir sensör teknolojisinde, elektriksel özellikleri sayesinde enerji depolama cihazlarında, biyoyumluluk özellikleri sayesinde ilaç dağıtımı, sinir ağı rejenerasyonu, doku mühendisliği gibi farklı alanlarda kullanılmaktadır. Tablo 2’de grafenoksidin farklı kullanım alanlarında, önemli olan özelliklerine dair bilgi verilmiştir.

**Tablo2.** Farklı uygulama alanlarında grafenin önemi ve beklenen özellikleri [25].

	Elektrik İletkenliği	Dayanıklılık	Esneklik	Yüzey Alanı	Transparanlık	Termal İletkenlik	Kimyasal Eylemsizlik	Gaz Geçirmezliği
<b>Transistör</b>	+	X	X	X	X	X	+	X
<b>Enerji Depolama</b>	+	X	X	+	X	X	+	X
<b>Polimer Kompozitler</b>	+	+	+	+	⊗	+	+	⊗
<b>Sensörler</b>	+	X	⊗	X	X	X	+	⊗

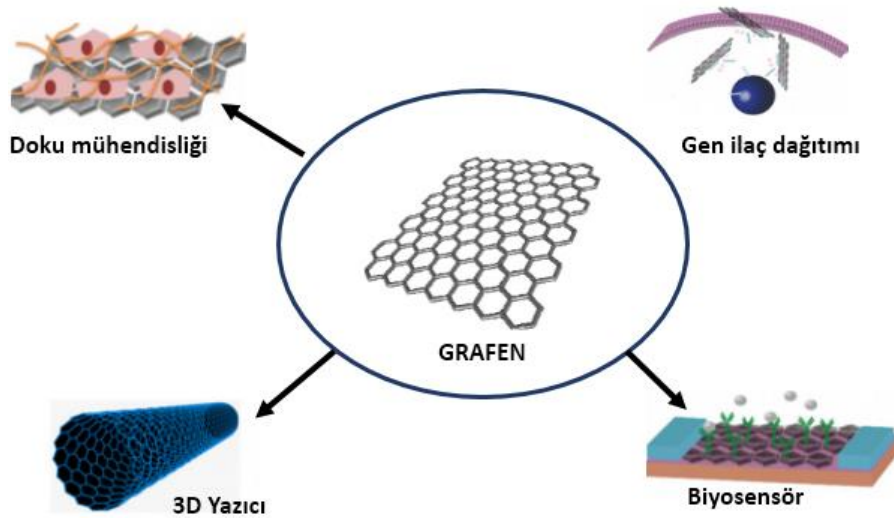
Grafen üretimi aşağıdan yukarıya ve yukarıdan aşağıya olmak üzere 2 temel yaklaşım ile üretilebilmektedir. Yukarıdan aşağıya yönteminde grafit katmanları parçalanarak, yukarıdan aşağıya yöntemindeyse alternatif karbon kaynaklarından üretim yapılmaktadır. Aşağıdan yukarıya yönteminde büyük oranda grafitlenme oluşması gerektiği için yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilmektedir [26]. Bu nedenle maliyet olarak yüksek olmaktadır. Yukarıdan aşağıya yöntemi ise; karbon tabakalarının ayrışması esasına dayandığı için çeşitli kimyasallar ile yapılmaktadır. Diğer yaklaşımın aksine daha düşük maliyetle üretim sağlamaktadır. Ancak GO oluşumu esnasında oluşan kusurlar nedeniyle tek tabakalı üretim neredeyse imkansızdır [27].

Grafitin eksfoliasyonu yoluyla indirgenmiş grafenoksite dönüşmesi çok aşamalı bir üretim yöntemidir. Bu yöntemde sırasıyla; grafit oksitlenerek grafit oksite, grafit oksit eksfoliyeye olarak GO, GO indirgenerek grafene dönüşmektedir. Bu yöntemde oksidasyonda oluşan kusurlar ve kalıntı oksijenin indirgenmesi nedeniyle yapı "grafen" yapısından farklıdır. Eksfoliasyon yöntemi sonucunda oluşan kusurlar ve kalıntı oksijen nedeniyle üretilen malzemeye rGO denir [28].

Grafenin üretimine dair farklı yöntemler olmasına rağmen kaliteli ve tekrarlanabilir bir üretim yöntemi olan kimyasal buhar biriktirme (CVD) yöntemi oldukça sık kullanılmaktadır. CVD yöntemi aşağıdan yukarı bölümünde alt bir yöntem olup, kusursuz ve düşük katmanlı GO üretimine imkan sağlamaktadır. CVD metodunda grafit tabakaları nikel, paladyum gibi farklı geçiş metalleri üzerine biriktirilmektedir [29]. Yöntem temelinde buhar fazında bulunan karbon atomlarının, altlık malzeme olarak kullanılan geçiş metallerinin yüzeyine biriktirilmesi daha sonra ayırıcı bir ajan (örn; demir klorür vb) ile yüzeyden ayrılması esasına dayanmaktadır [30].

Grafenin silisyum karbür (SiC) üzerine büyütülmesi epitaksiyel büyüme yöntemidir. SiC altlığın 1150-2000 °C aralığında ısıtılmasına bağlı olarak silisyum desorpsiyona uğrar ve yapıda kalan karbon atomları epitaksiyel olarak bir araya gelerek grafit yapısını oluşturmaktadır.

Grafen ve türevlerinin biyoyumluluğunu ve toksisitesini belirlemeye dair yapılan çalışmalarda sağlıklı memeli kök hücreleriyle sağlıklı ergin hücrelerde yer değiştirmeyi (migrasyonu) arttırarak hücresel gelişime yol açtığı gözlemlenmiştir [31,32]. Şekil 5'de grafenin farklı kullanım alanlarına dair görsel verilmiştir.



**Şekil 5.** Grafenin farklı biyomalzeme alanında kullanıldığı alanlara ait örnekler

Grafen ve türevleri kemik iskeleti üretiminde, mekanik mukavemet, hücreler arası adhezif yüzey, düşük toksisite özellikleri sebebiyle tercih edilmektedir[33].Grafen oksit yapısında alkol, karboksil asit ve epoksi grubunu yüksek miktarda bulundurması nedeniyle biyomedikal uygulamalarda en çok tercih edilen grafen türevidir[34].Grafenin vücutta yüksek miktarda kullanımı sitoksisiteye neden olduğu için tüm grafen ve türevleri biyomedikal uygulamalarda belli oranlarda kullanılmalıdır.Biyomedikal uygulamalarda kritik oran aşılmamalıdır. Grafenoksit ve diğer grafen türevlerinin biyoyumluluğunu arttırmak için kallojen, kitosan, polietilen, glikol gibi polimer ve çeşitli proteinlerle kaplanarak kullanılmaktadır [34]. Grafenoksit yapısının farklı malzemelerle kompozit haline getirilerek üretilen biyomalzemenin vücutta kullanım ömrünün arttırdığı ve hücrel büyüme pozitif etkilediği raporlanmıştır [35].

Kemik dokularının doğuştan bozukluklarında, sonradan oluşan farklı kemik kusurları ve kırılıklarının onarımları oldukça zor işlemlerdir. Kemığın kendisini yenilenmesinde; kemik kaybı ve enfeksiyon gibi ciddi problemler ortaya çıkmaktadır. Kemik hacmini arttırmanın en yaygın yöntemlerinden birisi aşı(greft) yöntemidir. Aşılamaya alternatif olarak seramik esaslı kemikler iskeleleri klinik uygulamalarda kullanılmaktadır. Biyoseramikler inert ya da biyoaktif olabilmektedir.Daha sonraki süreçlerde fizyolojik özellikleri destekleyen yüksek doku uyumluluğuna sahip kalsine matris oluşturmaktır. Seramik esaslı malzemelerin yüksek biyoyumluluk göstermelerine karşın seramiklerin kırılma tokluklarının düşük olması, yavaş emilim oranları, zor şekillendirilmeleri dezavantajdır[36].Seramik malzemelerin kırılma tokluklarının geliştirilmesi amacıyla yapıya grafen türevleri katılarak oluşturulan kompozit malzemeler biyolojik uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır.Özellikle grafen ve türevleri ile kompozit yapılan seramik matrisli biyomalzemelerin in vitro ve in vivo testlerinde mekanik özelliklerin geliştirildiği gözlemlenmektedir [36].

Seramik esaslı grafen kompozitlerin özellikleri; yapıdaki grafenin homojen dağılımına ve sinterleme sıcaklığına bağlı olarak grafen yapısında oluşan bozunmaya bağlıdır. Pek çok bilim adamı seramik matris içerisinde homojen dağılmış grafen katkılı kompozit malzemeler üretmek için çabalamaktadır [37]. Literatür çalışmalarında akermanit-grafen [38], Silisyumdioksit( $\text{SiO}_2$ )-GO [39], Alümina( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )-GO [40], Silisyumkarbür ( $\text{SiC}$ )-GO [41], titanyumkarbür-grafen [42] çalışmaları raporlanmıştır Şekil 6' da grafenin farklı seramik malzemelere olan katkısı ile kırılma tokluğunun değişimine ait görsel verilmiştir.



*Şekil 6. Seramik esaslı kompozit malzemelerde grafen katkısının etkileri*

Alüminyum, silisyum, nitrür kullanılan seramik esaslı kompozitler için toz hazırlama işlemleri ortak yöntemler kullanılarak hazırlanmaktadır [38]. Seramik esaslı tozların çoğunluğu ultrasonik ya da mekanik öğütme yöntemleri ile elde edilmektedir. Seramik esaslı tozların eldesinde kullanılan diğer bir yöntem sol jel yöntemidir. Sol jel metodunda solüsyon içerisinde kullanılan hammaddelerin çözünmesi ve homojen dağıtılması en önemli aşamadır. Sol jel prosesinde homojen dağılmış süspansiyon hazırlamak yoğunlaşmaya dayanmaktadır.

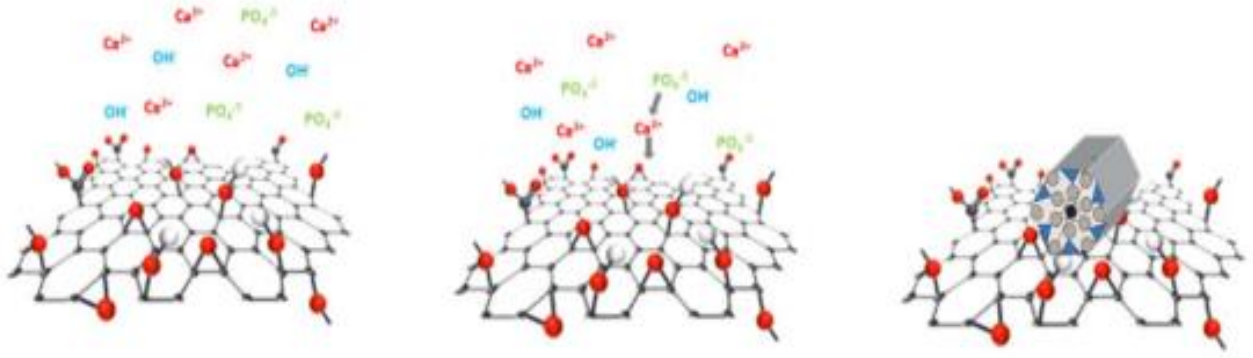
Literatür çalışmalarında; iyi çözülmüş bir tetrametil ortasilikat grafen solüsyonu ultrasonik yöntemi ile elde edilmiştir. Daha sonra hidrolizi sağlamak için asidik su gibi bir katalitik eklenmiş ve sonra oda sıcaklığında yoğunlaşma ile kompozit jeller elde edilmiştir [43]. Zıt yükleri olan kolloidal partiküller birbirini çektiği için homojen dağılmış tozlar elde edilmektedir. Yapılan çalışmada bu yöntem ile homojen çözelti elde edilmiştir. Sol jel prosesinde homojen tozun elde edilmesi için anahtar faktör homojen dispersiyon elde edilmesinden geçmektedir [44].

Sinterleme aşamasında yüksek sıcaklık ile çalışılması seramik matrisli kompozit malzemeler için önemli ve zorunlu bir aşamadır. Grafen katkılı seramik kompozitlerin Grafen seramik kompozitlerin %90'ı sıcak izostatik presleme ve mikrodalga yöntemi ile sinterlenmektedir. İki yöntem arasında en etkili ve en çok tercih edilen sıcak izostatik presleme yöntemidir [45,46]. Sıcak izostatik yönteminde hızlı ısıtma nedeniyle sinterleme verimliliği artar ve bu sayede grafen yapısında bozunmalar, tane büyümeleri önlenmektedir. Diğer bir avantajı kullanılan basıncın etkisiyle kompozit malzemelerde yoğunlaşma oranı arttığı için sinterleme sıcaklığı düşürülebilmektedir [47]. Ayrıca yüksek sıcaklıklarda sinterleme esnasında GO indirgenmeside gerçekleşmektedir [48].

Ancak SPS yöntemi ile grafenle güçlendirilmiş seramik kompozit kemik iskeletlerinin üretilmesi mümkün değildir. Ancak DIW (direct ink) yöntemi ile iç bağlantılı 3D poroz kemik iskeletlerinin üretimi mümkündür. Üretilen kemik iskeletlerinde porozite boyutu, miktarı ve iç bağlantıları kullanılan yöntem sayesinde kontrol edilebilmektedir. Tüm bu avantajlara rağmen kemik iskeletlerinin DIW yöntemi ile üretiminde yüksek hassasiyet gerekmektedir [49].

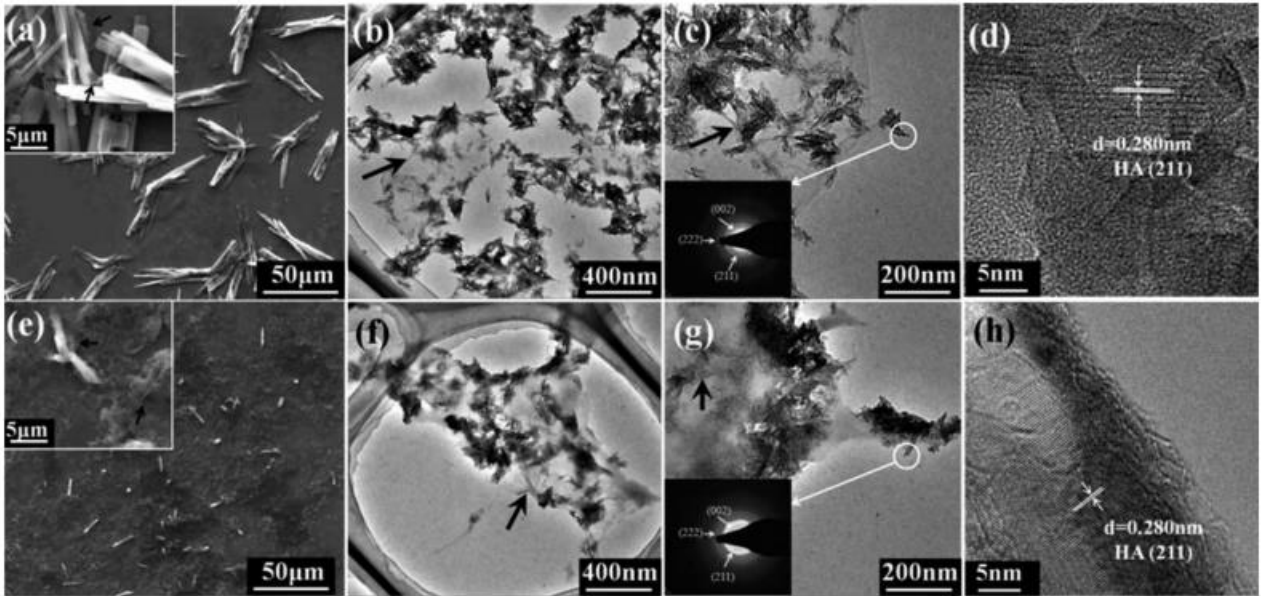
Cam seramik olan hidroksiapatitin üstün özellikleri doku mühendisliği uygulamaları için yeterli değildir [50]. Bu nedenle vücutta kullanım ömrü uzun, kolay üretilir ve yüksek mekanik özelliklere sahip kompozit yapılar dizayn edilmektedir [51]. Kemik doku yapılarında en çok tercih edilen HA cam seramiğinin düşük mekanik özellikleri, kendisinden çok daha mukavemetli GO ile katkılıandığında elde edilen biyokompozit insan vücudu için kullanılabilir hale gelmektedir. Şekil 7'de GO-HA kompozit malzemelerinin moleküler etkileşim görseli verilmiştir.





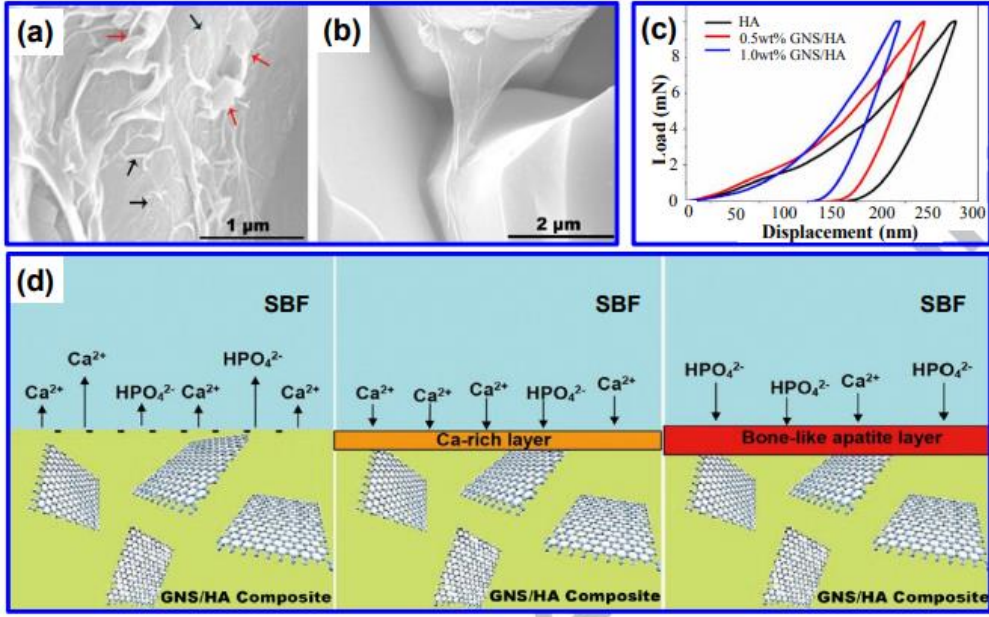
**Şekil 7.** GO-HA biyoseramik kompozit malzemeye ait şematik görsel[52].

2013 yılında Li ve arkadaşları önceden hazırlamış oldukları hidroksiapatit (HA) nanopartiküllerine 200 ml GO solüsyonu ekleyerek 37°C’de homojen olarak karışım elde edilene kadar karıştırmışlardır. Daha sonra amonyum solüsyonu ile pH sabitleyerek 37°’de 60dakika karıştırmışlardır. Hazırlanan solüsyona damla damla diamonyum fosfat eklenerek karıştırma işlemine devam edilmişlerdir. Nihai solüsyonu filtrelemişlerdir. Filtrelenmiş solüsyonu oda sıcaklığında 6 saat, 60°C’de 24 saat bekletilerek kurutarak biyokompozit malzemeyi üretmişlerdir. Elde ettikleri seramik esaslı kompozit yapıların sertlik ve elastikiyet modülünün arttığını raporlamışlardır [53]. Li ve arkadaşlarının elde ettikleri TEM görüntüleri Şekil 8’de verilmiştir.

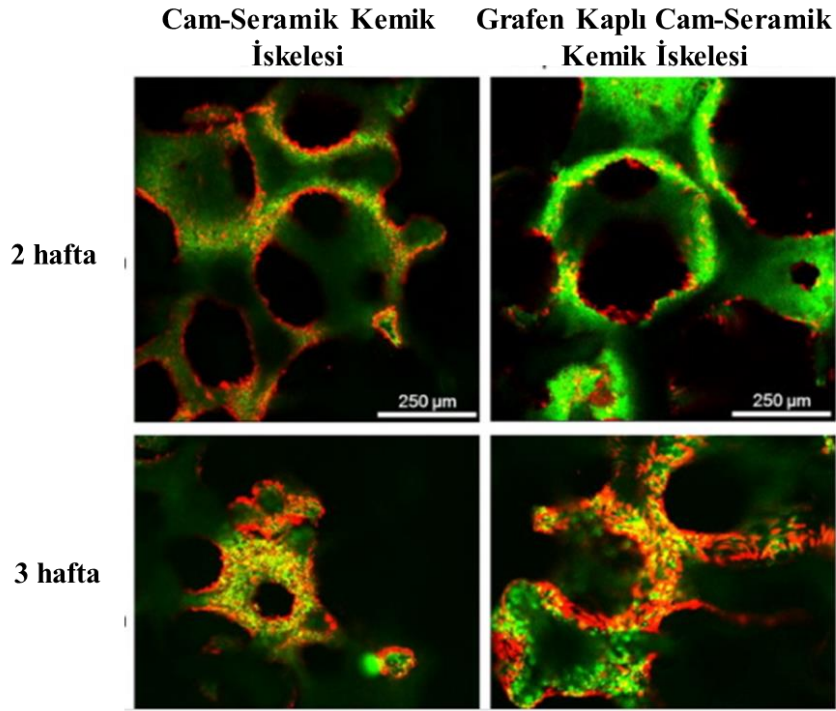


**Şekil 8.** Li ve arkadaşlarının elde ettikleri sonuçlar (a,c) GO-HA kaplı num materyallerin SEM ve TEM görüntüleri, (e,g)kitosan-GO-HA kompozitleri (c,g) seçili alan taraması (d)GO-HA kompozitinde HA ait kristal tatis (h)kompozit[53].

Şekil 9’da Zhang ve arkadaşlarının deneysel sonuçları verilmiştir. L Zhang ve arkadaşları GO-HA nano tozlar sodyum çözeltisi ise disperse etmiş ve elde ettikleri seramik esaslı kompozitlerin yapıda oluşan çatlakları azalttığı, yapıyı güçlendirdiğini raporlamışlardır. Ayrıca GO katkısının biyoyumuluk etkisini geliştirdiğini raporlamışlardır[54,56].



Şekil 9. Zhang ve arkadaşlarının elde ettikleri sonuçlar[55].

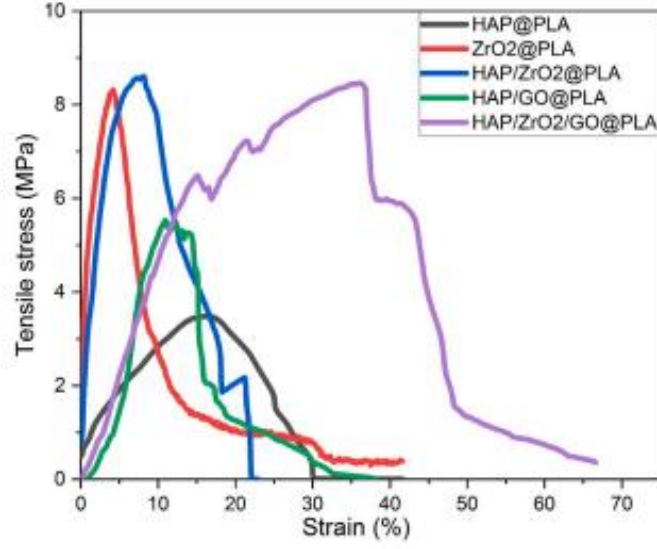


Şekil 10. Grafen kaplı kemik iskelesi uygulaması[56].

Şekil 10'da Fabri ve arkadaşlarının üretmiş oldukları kemik iskelesinin biyolojik testi sonuç görselleri paylaşılmıştır. Fabri ve arkadaşları 2013 yılında yaptıkları çalışmada grafen kaplanmış cam seramik kemik iskelesi uygulamasında yaptıkları hücre kültürü testi sonucunda hücre kültür aktivitesinin destelendiğini ve biyouyumlu olduğunu raporlamışlardır. Ayrıca hücre kültürüne elektrik alan uygulandığında grafenin elektriksel özellikleri nedeniyle doku büyümesini desteklediğini raporlamışlardır.

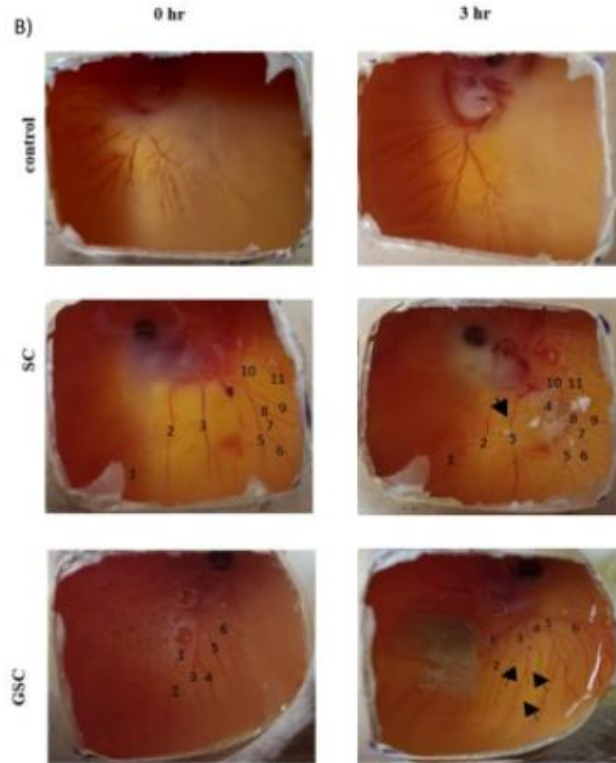
2021 yılında Wafi ve arkadaşları Zirkonyumdioksit(ZrO<sub>2</sub>)–Hidroksiapatit(HA)-grafenoksit(GO)-polilaktikasit(PLA) kompozitlerinin yara iyileştirme uygulamaları için kullanımını incelemişlerdir.

HAP/ZrO<sub>2</sub>/GO@PLA yapısının antibakteriyel özelliklerinin ve mekanik özelliklerinin (örn; çekme dayanımı) yüksek olduğunu ve kemik doku uygulamaları için uygun olduğunu raporlamışlardır. Şekil 11'de Wafi ve arkadaşlarının elde etmiş oldukları çekme dayanımı diyagramı paylaşılmıştır[57].



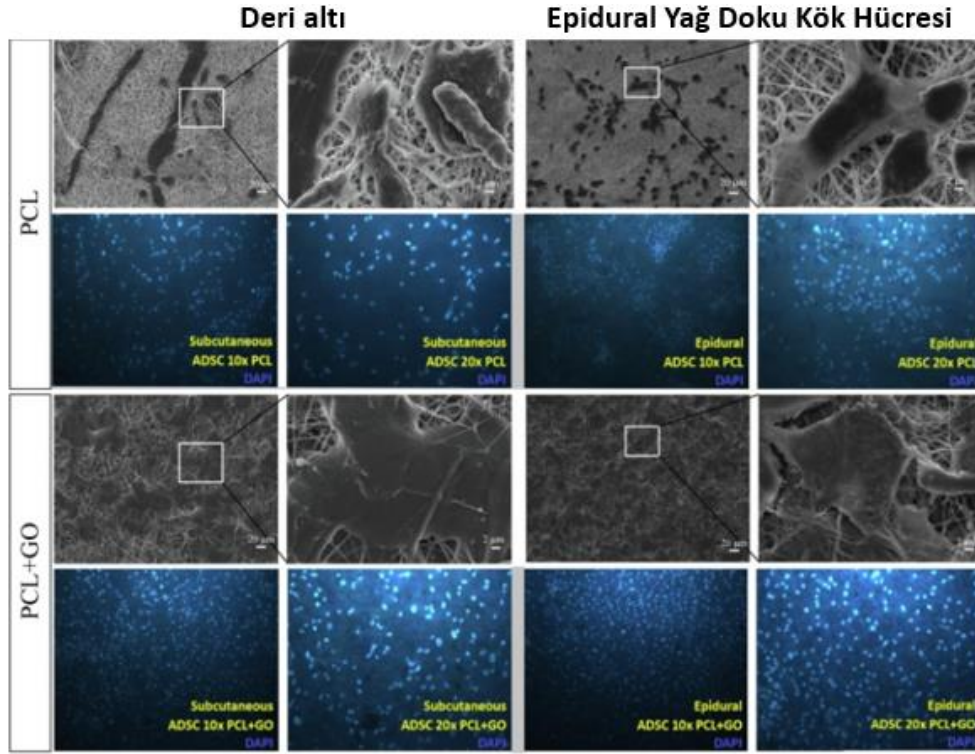
Şekil 11. Wafi ve arkadaşlarının çalışmalarında elde ettikleri çekme dayanımı diyagramı[57].

Jayavardhini ve arkadaşları 2022 yılında grafensoksit-kolojen/serisin kompozit kemik iskeleleri üretmiş ve civciv embriyosunda testleri yapılmıştır. Yapılan test sonucunda civciv embriyolarında yeni kan damar oluşumunun gözlemlendiğini ve anjiyogenez ile ilişkili hastalıkların tedavisini olumlu etkilediğini bildirmişlerdir. Şekil 12'de Jayavardhini ve arkadaşlarının yapmış olduğu anjiyogeneze dair test görüntüleri verilmiştir [58].



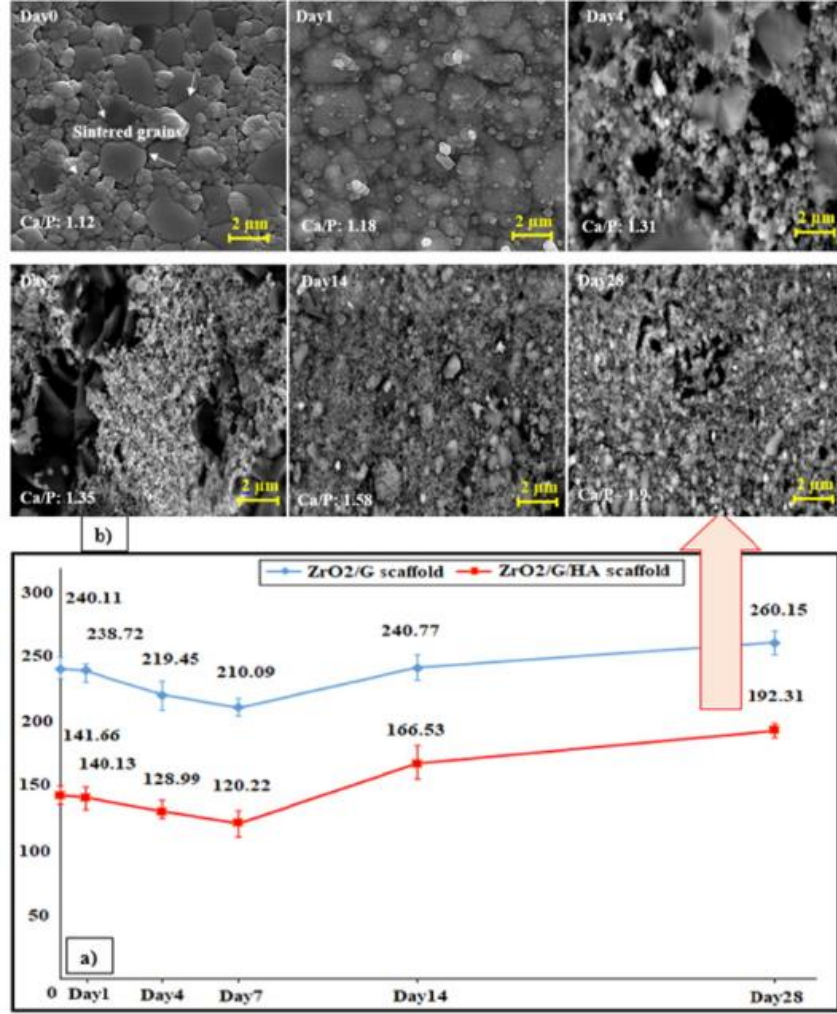
Şekil 12. Jayavardhini ve arkadaşlarının yapmış oldukları anjiyogenez ile ilişkili testlere ait görseller[58].

Pınar ve arkadaşları 2022 yılında Polikaprolakton(PCL)-grafenoksit kemik iskeleleri üretmiştir. Pınar ve arkadaşları PCL içerisine grafenoksit içeriği arttıkça nöronal farklılaşmanın etkilerinin arttığını raporlamışlardır. Pınar çalışmaları kapsamında deri altından ve epidural alandan alınan yağ doku kök hücrelerinin nöronal farklılaşmasını incelemişlerdir. Deri altından alınan örneğe göre epidural bölgeden alınan numunenin nöronal farklılaşma potansiyelinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Üretilen PCL-GO kemik iskelelerinin gelecekte omurilik yaralanmaları için uygun bir iskele olduğunu bildirmişlerdir. Şekil 13’de Pınar ve arkadaşlarının yapmış oldukları iskelelere ait SEM görüntüleri verilmiştir[59]. Şekil 13’de Pınar ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalara ait SEM görüntüleri verilmiştir.



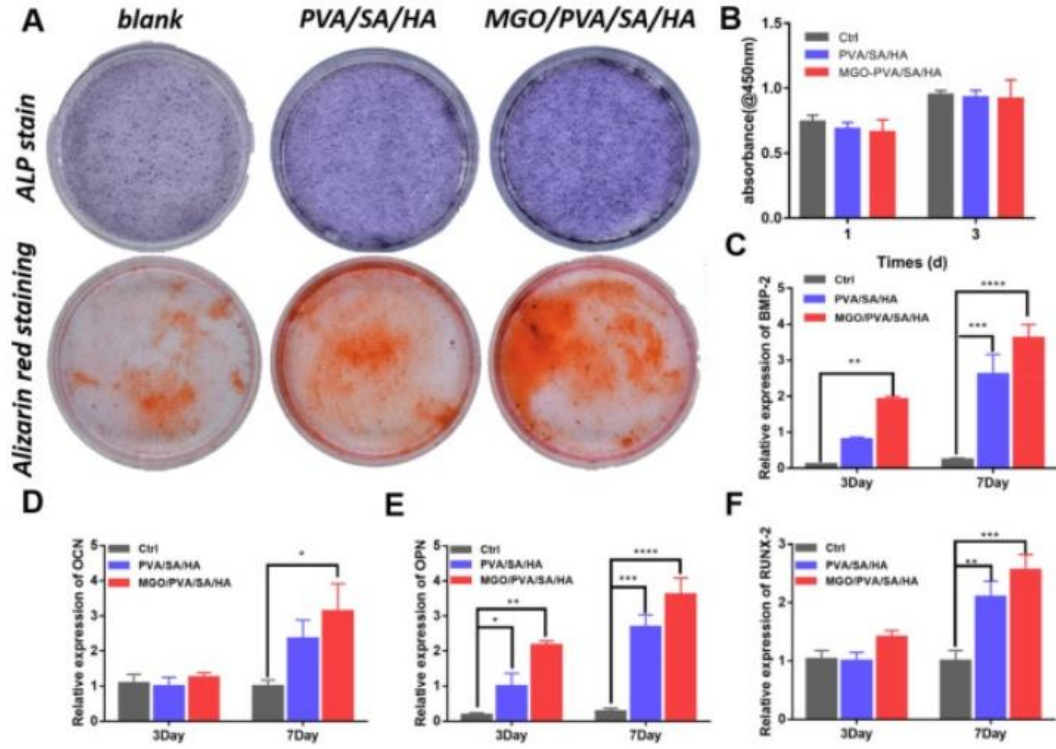
Şekil 13. Pınar ve arkadaşlarının yapmış oldukları kemik iskelelerine ait SEM görüntüleri[59].

Shadinanlou ve arkadaşları 2022 yılında yaptıkları çalışmada ZrO<sub>2</sub>/RGO/HA kompozit kemik iskeleleri hidrotermal yöntemle üretmiş ve mekanik dayanımları üzerine çalışma yapmışlardır. Kompozit kemik iskelesi 28 gün SBF testinden sonra 240.11 Mpa elde etmişlerdir. Şekil 14’de Shadinanlou ve arkadaşlarının yaptıkları mekanik testlere ait görsel verilmiştir. Hidrotermal yöntemin düşük maliyetli ve toksik olmadığını raporlamışlardır[60]. Şekil 14’de Shadinanlou ve arkadaşlarının yaptıkları mekanik test sonuçları ve SEM görselleri verilmiştir.



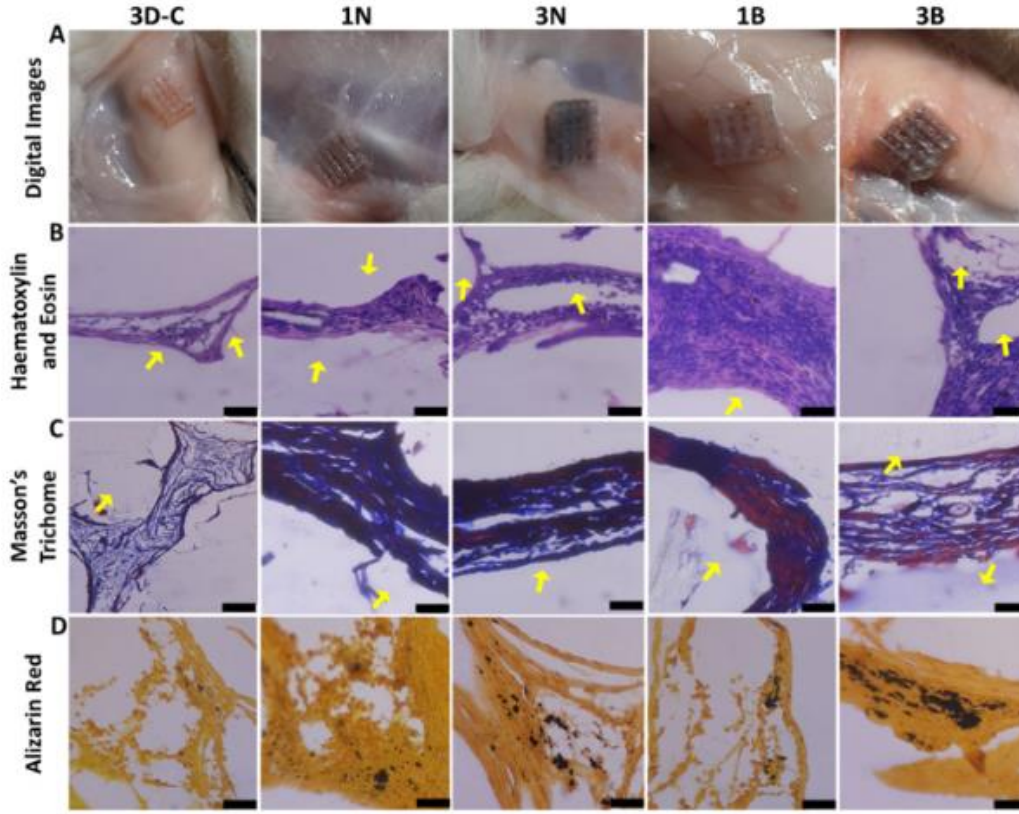
Şekil 14. Shadinanlou ve arkadaşlarının yapmış oldukları kemik iskelelerine ait SEM görüntüleri ve basma dayanımı sonuçları[60].

2022 yılında Li ve arkadaşları 3D hidrojel form içerisine manyetik parça yüklenmiş grafenoksit kemik iskeleleri üretmiş ve tümör tedavisi, kemik rejenerasyonu için uygunluğu üzerine çalışma yapmışlardır. Yaptıkları çalışmada manerik parçacık yüklenmiş GO(MGO) konsantrasyonu arttıkça matris dışı minerilazasyonda artış gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Ayrıca MGO katkısı ile alkain fosfat aktivitesinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir. In vivo testleri sonucunda anti tümör etkisi yarattığını raporlamışlardır [61]. Li ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalara ait görseller Şekil 15’de verilmiştir.



**Şekil 15.** Li ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalara ait sonuçlar[61].

2021 yılında Sharma ve arkadaşları go-polydopamin katkılı PLA kemik iskeleleri üretmiş ve ürettikleri iskelelerin biyolojik testlerini yapmıştır. Ürettikleri iskelelerin antioksidant, antibiyofilm, damar oluşumunu destekleyen, kemik doku oluşum olan (osteoindüktör) olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca ürettikleri iskelelerin azalan oksijen nedeniyle enfeksiyona bağlı biyofilm oluşumunun engellediğini ve kemik oluşumunu desteklediğini bildirmişlerdir. Şekil 16’da 21 günlük osteogenik farklılaşmadan 28 gün boyunca deri altından sıçanlara enjekte edilmiştir[62]. Alirazin kırmızı boyamasında osteositlerin in vivo teslerinde kalsiyum fosfat kristallerine bağlı olarak aktivitelerini koruduğunu göstermektedir.



Şekil 16. Sharma ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarına ait sonuçlar[62].

## IV. SONUÇ

İnsanlık tarihinin en başından itibaren biyokompozit malzemeler kullanmışlardır. Ancak kullanılan materyallerden metal esaslı olan malzemelerin kullanım ömürlerinin kısa olması, korozyon dayanımlarının düşük olması gibi sebeplerden dolayı farklı alternatiflere yönelinmiştir. Malzeme grupları arasında bulunan seramiklerin vücutla uyumluluğu oldukça yüksektir. Biyoseramik malzemeler vücudun zarar görmüş organ ya da dokuların işlevlerini yerine getirmek ve onarmak amacıyla kullanılmaktadır. Biyoseramik malzemelerin içeriğinde bulunan apatit fazından dolayı kemik ile neredeyse birebir uyumluluk göstermektedir. Dolayısıyla bu yapılar vücutta kemik iskeleti olarak kullanılmaktadır. Ancak tüm seramiklerde olduğu gibi biyoseramik malzemeler düşük kırılma tokluğuna sahiptirler. Vücudun her organının belli bir işleve (yük taşıma- çiğneme-yütüme vb) sahip olması nedeniyle belli taşıma kapasiteleri vardır. Vücutta kullanımının artırılması için mekanik özellikleri( kırılma tokluğu) ve biyouyumluluklarının geliştirilmesi gerekmektedir. Grafen elektriksel ve biyolojik olarak üstün özelliklere sahip bir materyaldir. Araştırmacılar grafenin yıllardır elektriksel, optik biyolojik vb gibi geniş bir kullanım alanına sahip olduğunu raporlamışlardır. Literatürde; seramik malzemelerin içerisine grafen takviyesi ile matris fazı olan seramiklerin; kırılma tokluğu ve biyouyumluluk özelliklerinin geliştiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Yapılan çalışmalarda; GO katkılı seramik kompozitlerin sertlik ve kırılma tokluklarının arttığı raporlanmıştır. Kemik ile yapısı en çok benzeyen biyoseramik malzeme HA 'dır. Yapılan literatür çalışmalarında grafen katkılı Ha materyallerin kırılma tokluğu, sertlik ve biyoaktivite özelliklerinin geliştiği gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalarda hala üretim yöntemi, sinterleme sıcaklığı gibi araştırılabilecek farklı başlıklar mevcuttur.

Kemik doku uygulamaları son zamanlarda ulaşılabilirliği ve etkisi artmış bir metod haline almıştır. Gelecek yıllarda kemik iskelesi uygulamaları araştırmacıların odak noktası haline gelecektir. İnsan hayat standartlarını arttıracak olan bu uygulamalar için hala belli sınırlamalar mevcuttur. Bu nedenle

öncelikle biyolojik uyumluluk, standartlaşma ve ekonomik ulaşılabilirlik kısmı detaylı olarak incelenmelidir. Grafen esaslı kemik iskelelerinin kemik iskelesinin temas ettiği dokuda büyümeyi desteklediği literatür çalışmalarında mevcuttur. Ancak yapılan çalışmalarda çalışmalar HA gibi bilinen biyoseramik malzemeler kullanılmıştır. HA yapısına çok benzeyen ve kemik ile uyumluluğu çok iyi olan AW(apatit-wollostanit) cam seramiği ile benzer çalışmalar yapılarak doku büyümesi geliştirilebilir. Üretilen grafen esaslı kemik iskeleleri kaplama olarak çalışıldığında grafenin elektriksel özellikleri sayesinde doku büyümesini desteklediği bilinmektedir. Bu nedenle yapıya dku büyümesini geliştirebilecek ve tamamen biyoyumlu malzemeler katkılanarak yeni tip kemik iskeleleri üretilebilir.

## **V. KAYNAKLAR**

- [1] Y. Liu, L. Shi, L. Su, H.C. van der Mei, P.C. Jutte, Y. Ren, H.J. Busscher, “Nanotechnology-based antimicrobials and delivery systems for biofilm-infection control,” *Chem. Soc. Rev.*, vol.48, no.2, pp. 428–446, 2019.
- [2] G. Kaur, S.K. Mehta, S. Kumar, G. Bhanjana, N. Dilbaghi, “Coencapsulation of hydrophobic and hydrophilic antituberculosis drugs in synergistic Brij 96 microemulsions: a biophysical characterization,” *J. Pharm. Sci.*, vol.104, no.7, pp.2203–2212, 2015.
- [3] PA. Gunatillake, R. Adhikari, “Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering,” *Eur Cell Mater*, vol. 20, no.5, pp. 1–16, 2003.
- [4] V. Rosa, B. Della, BN. Cavalcanti, JE. Nör, “Tissue engineering: from research to dental clinics,” *Dent Mater*, vol. 28, no.4, pp. 341–8, 2012.
- [5] KB. Armstrong, LG. Bevan, WF. Cole, “Care and repair of advanced composites,” SAE International; 2005.
- [6] R.Y. Basha, K.Sampath, M. Doble, “Design of biocomposite materials for bone tissue regeneration,” *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, vol. 57, pp.452–63, 2015.
- [7] A. Khademhosseini, R. Langer, “A decade of progress in tissue engineering,” *Nat Protocol*, vol. 11, no. 10, pp. 1775–81, 2016.
- [8] S. V. Vlierberghe, P. Dubruel, E. Schacht, “Biopolymer-based hydrogels as scaffolds for tissue engineering applications: a review,” *Biomacromolecules*, vol.12, no. 5, pp.1387–408, 2011.
- [9] A. H. Pearce, Y. S. Kim, L.D.Gomez, A. G.Mikos, “Tissue engineering scaffolds,” , pp 1317-1334, 2020.
- [10] N. Krishnamoorthy, YT. Tseng, P. Gajendrarao, P. Sarathchandra, A. McCormack , I. Carubelli, “A novel strategy to enhance secretion of ECM components by stem cells: relevance to tissue engineering,” *Tissue Eng*, vol. 24, no. 1-2, pp. 145–56, 2017.
- [11] ME. Gome, MT. Rodrigues, RMA. Domingues, RL. Reis. “Tissue engineering and regenerative medicine: new trends and directions-a year in review,” *Tissue Eng Part B Rev* vol. 23, no. 3, pp. 211–24, 2017.
- [12] B. Sitharaman, X. Shi, XF. Walboomers, H. Liao, V. Cuijpers, LJ. Wilson, A. G. Mikos, J.A. Jansen “In vivo biocompatibility of ultra-short single-walled carbon nanotube/ biodegradable polymer nanocomposites for bone tissue engineering,” *Bone*, vol. 43, no.2, pp. 362–70, 2008.



- [13] T. Umeyama, H. Imahor, "Photofunctional hybrid nanocarbon materials," *J Phys Chem C*, vol. 117, no.7, pp.3195–209, 2012.
- [14] X. Yu, X. Tang, SV. Gohil, CT. Laurencin, "Biomaterials for bone regenerative engineering", *Adv Health Mater*, vol.4, no.9, pp.1268–85, 2015.
- [15] S. W. Hong, J. H. Lee, S. H. Kang, E. Y. Hwang, Y. S. Hwang, M. H. Lee, J. C. Park, "Enhanced neural cell adhesion and neurite outgrowth on graphene-based biomimetic substrates," *Biomed Res Int*, vol. 212149, no. 16, 2014.
- [16] C. Lee, X. Wei, JW. Kysar, J. Hone, "Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer graphene," *Science*, vol. 321, no.5887, pp.385–8, 2008.
- [17] V. Rosa, H. Xie, N. Dubey, TT. Madanagopal, SS. Rajan, JL. Morin, "Graphene oxide-based substrate: physical and surface characterization, cytocompatibility and differentiation potential of dental pulp stem cells," *Dent Mater*, vol.32, no.8, pp.1019–1025, 2016.
- [18] S. Pei, H-M. Cheng, "The reduction of graphene oxide," *Carbon*, vol.50, no.9, pp. 3210–3228, 2012.
- [19] DR. Dreyer, S. Park, CW. Bielawski, RS. Ruoff, "The chemistry of graphene oxide," *Chem Soc Rev*, vol. 39, no.1, pp. 228–40, 2010.
- [20] J. Morin, N. Dubey, F. Decroix, E. Luong-Van, AH. Castro Neto, V. Rosa, "Graphene transfer to 3-dimensional surfaces: a vacuum-assisted dry transfer method," *2D Mater*, vol.4, no.2, pp.025060, 2017.
- [21] A.K. Geim, K.S. Novoselov, "The rise of graphene", *Nat. Mater.* vol.6, pp.183–191, 2007.
- [22] L. Brown, R. Hovden, P. Huang, M. Wojcik, D.A. Muller, J. Park, "Twinning and twisting of tri- and bilayer graphene," *Nano Lett.*, vol. 12, no.3, pp.1609–1615, 2012.
- [23] C. Gardin, A. Piattelli, B. Zavan, "Graphene in regenerative medicine: focus on stem cells and neuronal differentiation," *Trends in biotechnology*, vol.34, no.6, pp.435-437, 2016.
- [24] D. Galpaya, "Synthesis, Characterization and Application of Graphene Oxide-Polymer Nanocomposites," *Master of Polymer Engineering*, Queensland University of Technology, 2015.
- [25] E. R. Susan, "Synthesis of graphene platelets," Durham Thesis, Department of Chemistry, Durham University, 2015.
- [26] S. Bae, H. Kim, Y. Lee, X. Xu, J.-S. Park, Y. Zheng, S. Iijima, "Roll-to-roll production of 30-inch graphene films for transparent electrodes," *Nature Nanotechnology*, vol.5, no.8, pp.574–578, 2010.
- [27] R. O. Brennan, "The Interlayer Binding in Graphite," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 20, no.1, pp. 40–48, 1952.
- [28] A. Dimiev, D.V. Kosynkin, L.B. Alemany, P. Chaguine, J.M. Tour, "Pristine Graphite Oxide," *Journal of the American Chemical Society*, vol.134, no.5, pp. 2815–2822, 2012.
- [29] C. Mattevi, H. Kim, M. Chhowalla, "A review of chemical vapour deposition of graphene on copper," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 21, no. 10, pp. 3324-3334, 2011.
- [30] A.N. Obraztsov, "Chemical vapour deposition making graphene on a large scale," *Nature Nanotechnology*, vol. 4, no. 4, pp. 212-213, 2009.

- [31] E. Bressan, L. Ferroni, C. Gardin, L. Sbricoli, L. Gobbato, F.S. Ludovichetti, B. Zavan, "Graphene based scaffolds effects on stem cells commitment," *Journal of translational medicine*, vol. 12, pp.296, 2014.
- [32] F. Mena, A. Abdelghani, ve B. Mena, "Graphene nanomaterials as biocompatible and conductive scaffolds for stem cells: impact for tissue engineering and regenerative medicine," *J Tissue Eng Regen Med*, vol. 9, no. 12, pp. 1321-1338, 2014.
- [33] L. Cao, F. Zhang, Q. Wang, X. Wu, "Fabrication of chitosan/graphene oxide polymer nanofiber and its biocompatibility for cartilage tissue engineering," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 79, pp. 697-701, 2017.
- [34] K. Hu, D.D. Kulkarni, I. Choi, V.V. Tsukruk, "Graphene-polymer nanocomposites for structural and functional applications," *Progress in Polymer Science*, vol. 39, no. 11, pp.1934-1972, 2014.
- [35] E. Murray, S. Sayyar, B.C. Thompson, R. Gorkin, D.L. Officer, ve G.G. Wallace, "A bio-friendly, green route to processable, biocompatible graphene/polymer composites," *RSC Advances*, vol. 5, no. 56, pp. 45284-45290, 2015.
- [36] A. Tonetto, P.W. Lago, M. Borba, V. Rosa, "Effects of chondro-osseous regenerative compound associated with local treatments in the regeneration of bone defects around implants: an in vivo study," *Clin Oral Investig*, vol. 20, no.1-8, 2016.
- [37] H. Porwal, R. Saggar, "Ceramic matrix nanocomposites. In: Beaumont PWR, Zweben CH, editors," *Compr Compos Mater II. Oxford: Elsevier*, pp.138-61, 2018.
- [38] C. Shuai, P. Feng, P. Wu, Y. Liu, X. Liu, D. Lai, "A combined nanostructure constructed by graphene and boron nitride nanotubes reinforces ceramic scaffolds," *Chem Eng J*, v.313, pp.487-497, 2017.
- [39] Y. Fan, L.Wang, J. Li, S. Sun, F. Chen, "Preparation and electrical properties of graphene nanosheet/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> composites," *Carbon*, vol.48, no.6, pp.1743-1749, 2010.
- [40] H. Porwal, P. Tatarko, S. Grasso, C. Hu, AR. Boccaccini, I. Dlouhý, "Toughened and machinable glass matrix composites reinforced with graphene and grapheneoxide nano platelets," *Sci Technol Adv Mater*, vol.14, no. 5, pp. 055007, 2013.
- [41] A. Rahman, S. Singh, S. Karumuri, S.P. Harimkar, K.A. Kalkan, R.P. Singh, "Graphene reinforced silicon carbide nanocomposites: processing and properties," *Spr Inte Publing*, vol.4, pp. 165-176,2015.
- [42] X. Wang, M. Lu, L. Qiu, H. Huang, D.Li, H. Wang, "Graphene/titanium carbide composites prepared by sol-gel infiltration and spark plasma sintering," *Ceramic International*, vol. 42, no.1, pp.122-31, 2016.
- [43] H. Porwal, S. Grasso, M.J. Reece, "Review of graphene-ceramic matrix composites," *Adv Appl Ceram*, vol. 112, no.8, pp.443-54, 2014.
- [44] Z. Zeng, Y. Liu, W. Chen, X.Li, Q. Zheng, K.Li, "Fabrication and properties of in situ reduced graphene oxide-toughened zirconia composite ceramics," *American Ceramic Society*, vol. 101, no. 8, pp.3498-3507, 2018.
- [45] F. Inam, T. Vo, BR. Bhar, "Structural stability studies of graphene in sintered ceramic nanocomposites," *Ceramic International*, vol. 40, no.10, pp.16227-16233, 2014.

- [46] H. Yan, M.J. Reece, T. Peijs, “Structural and chemical stability of multiwall carbon nanotubes in sintered ceramic nanocomposite,” *Advances in Applied Ceramics*, vol. 109, no. 4, pp. 240–247, 2010.
- [47] M.A. Mazo, C. Palencia, A. Nistal, F. Rubio, J. Rubio, J.L. Oteo, “Dense bulk silicon oxycarbide glasses obtained by spark plasma sintering,” *Journal of the European Ceramic Society*, vol. 32, no. 12, pp. 3369–3378, 2012.
- [48] H. Porwal, S. Grasso, M.K. Mani, M.J. Reece, “In situ reduction of graphene oxide nanoplatelet during spark plasma sintering of a silica matrix composite,” *Journal of the European Ceramic Society*, vol. 34, no. 14, pp.3357–3364, 2014.
- [49] C. Shuai, C. Gao, P. Feng, S.Peng, “Graphene-reinforced mechanical properties of calcium silicate scaffolds by laser sintering,” *RSC Advances*, vol.4, no. 25, pp. 12782–12788, 2014.
- [50] D.A. Wahl, J.T. Czernuszka, “Collagen-Hydroxyapatite composite for hard tissue repair,” *Eur. Cells Mater.*, vol.28, no.11, pp.44-55, 2006.
- [51] Y.P. Lu, M.S. Li, S.T. Li, Z.G. Wang and R.F. Zhu, “Plasma sprayed hydroxyapatite - titania composite bond coat for hydroxyapatite coating on titanium substrate,” *Biomaterial*, vol. 25, no.18, pp. 4393-4403, 2004.
- [52] M. N. Özder, “Graphene Oxide/Hydroxyapatite Nanocomposite,” Thesis, İstanbul, 2018.
- [53] M. Li, Y. Wang, Q. Liu, Y. Cheng, Y. Zheng, S. Wei, “In situ synthesis and biocompatibility of nano hydroxyapatite on pristine and chitosan functionalized graphene oxide,” *Materials Chemistry B*, vol.1, no.4, pp. 478-484, 2013.
- [54] L. Zhang, W. Liu, C. Yue, T. Zhang, P. Li, Z. Xing, Y. Chen, “A tough graphene nanosheet/hydroxyapatite composite with improved in vitro biocompatibility,” *Carbon*, vol. 61, no. 11, pp. 105-115, 2013.
- [55] K. Yang, S. Zhang, G. Zhang, X. Sun, S.T. Lee, Z. Liu, Graphene in mice: ultrahigh in vivo tumor uptake and efficient photothermal therapy,” *Nano Letters* , vol.10, no. 9, pp. 3318-3323,2010.
- [56] P. Fabbri, L. Valentini, J. Hum, R. Detsch, AR. Boccaccini, “45S5 Bioglass®-derived scaffolds coated with organic–inorganic hybrids containing graphene,” *Mater Sci Eng C*, vol. 33, no.7, pp.3592–3600, 2013.
- [57] R. Wafi, S.F. Mansour, M.S. AlHammad, M.K. Ahmed, “Biological response, antibacterial properties of ZrO<sub>2</sub>/hydroxyapatite/ graphene oxide encapsulated into nanofibrous scaffolds of polylactic acid for wound healing applications,” *International Journal of Pharmaceutics*, vol.601, pp.. 120517, 2021.
- [58] B.Jayavardhinia, Y. R. Pravin, C.Kumar, R.Murugesana, S. WeslenVedakumari, “Graphene oxide impregnated sericin/collagen scaffolds – Fabrication and characterization,” *Materials Letters*, vol.307, pp.131060, 2022.
- [59] E. Pinar, A. Sahin, S. Unal, O. Gunduz, F. Harman, E. Kaptanoglu, “The effect of polycaprolactone/graphene oxide electrospun scaffolds on the neurogenic behavior of adipose stem cells,” *European Polymer Journal*, vol.165, pp.111000, 2022.
- [60] F. Shadianlou, A. Foorginejad, Y. Yaghoubinezhad, “Hydrothermal synthesis of zirconia-based nanocomposite powder reinforced by graphene and its application for bone scaffold with 3D printing,” *Advanced Powder Technology*, vol. 33,no. 2, pp.103406, 2022.

- [61] Y. Lia, L. Huangb, G. Tai, F. Yan, L. Caid, C. Xin, S.Al Islam, “Graphene Oxide-loaded magnetic nanoparticles within 3D hydrogel form High-performance scaffolds for bone regeneration and tumour treatment,” *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, vol.152, pp.106672, 2022.
- [62] A. Sharma, S. Gupta, T.S.Sampathkumar, R. S.Verma, “Modified graphene oxide nanoplates reinforced 3D printed multifunctional scaffold for bone tissue engineering,” *Materials Science and Engineering: C*, vol.134, pp. 112587, 2021.