
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

KATMANLI İMALAT TEKNOLOJİLERİ İLE AYARLANABİLİR RİJİTLİKTE DOKU İSKELESİ TASARIMI

Beka ÇOTUR

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ENDÜSTRİYEL TASARIM MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MAYIS 2019

Beka ÇOTUR tarafından hazırlanan "KATMANLI İMALAT TEKNOLOJİLERİ İLE AYARLANABİLİR RİJİTLİKTE DOKU İSKELESİ TASARIMI" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Endüstriyel Tasarım Mühendisliği Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. H. Kürşad SEZER

Endüstriyel Tasarım Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum. ..……

Başkan: Prof. Dr. Hüdayim BAŞAK

Endüstriyel Tasarım Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum. ……..

Üye: Doç. Dr. İhsan TOKTAŞ

Makina Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yıldırım Beyazıt Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum. ……..

Tez Savunma Tarihi: 29/05/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

……..……

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Beka ÇOTUR

29/05/2019

KATMANLI İMALAT TEKNOLOJİLERİ İLE AYARLANABİLİR RİJİTLİKTE DOKU İSKELESİ TASARIMI

(Yüksek Lisans Tezi)

Beka ÇOTUR

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2019

ÖZET

3 boyutlu yazdırma teknolojileri doku mühendisliğinde 1980'li yıllardan beri kullanılmaktadır. Doku mühendisliğinde, organın inşası için gerekli olan doku iskeleleri 3 boyutlu biyoyazdırıcılarla hızlı bir şekilde üretilerek bu alanın gelişmesine katkıda bulunmaktadır. Doku iskeleleri hücrelerin yaşayabilmesi ve organın gelişiminde başarılı olabilmesi için biyouyumluluk, biyoçözünürlük, büyüme faktörleri yanında gözeneklilik, mekanik dayanım gibi tasarımsal gereksinimleri de bulunmaktadır. Yazdırılacak organın yapısına göre mekanik rijitlik gereksinimleri de değişmektedir. Bu çalışmada doku iskelelerinin mekanik dayanım ve gözeneklilik tasarım gereksinimlerine uygun olarak, yazdırılacak organa göre mekanik rijitliği değiştirilebilen bir yapı tasarlanmıştır. Yapının mekanik özelliklerinin değerlendirilebilmesi açısından tasarlanan doku iskelesine ait değiştirilebilir parametreler belirlenmiş; Ansys tasarım ve analiz programında parametrik analizler yapılmıştır. Elde edilen elastisite modülü ve gözeneklilik sonuçları daha önceki çalışmalarla kıyaslanmıştır. Araştırma sonucunda elde edilen veriler, bu alanda daha önce yapılan çalışmalarla paralellik göstermiş, gözeneklilik ve katmanlar arası mesafe arttıkça elastisite modülünün arttığı sonuçlarla ve grafiksel olarak sunulmuştur. Bu araştırma sayesinde, tasarlanan doku iskelesindeki parametreleri değiştirerek, organlarda istenen rijitliğin sağlanabileceği gösterilmiştir.

Bilim Kodu	:	91406
Anahtar Kelimeler	:	3 boyutlu yazdırma, doku iskelesi, ayarlanabilir rijitlikte doku iskelesi tasarımı, katmanlı imalat
Sayfa Adedi	:	77
Danışman	:	Doç. Dr. H. Kürşad SEZER

DESIGN OF TISSUE SCAFFOLD WITH TUNABLE STIFFNESS USING 3D ADDITIVE MANUFACTURING TECHNOLOGIES

(M. Sc. Thesis)

Beka ÇOTUR

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

May 2019

ABSTRACT

3D printing technologies have been used in tissue engineering since the 1980s. Tissue scaffolds necessary for the construction of the organ in tissue engineering are rapidly printed by 3D bioprinters and contribute to the development of this area. Tissue scaffolds have requirements such as biocompatibility, biodegradability, growth factors as well as design requirements as porosity and mechanical strength to survive and support organ development. Mechanical stiffness requirements vary according to the structure of the organ to be printed. In this study, a novel structure with tunable mechanical stiffness is designed according to mechanical strength and porosity design requirements of the tissue scaffolds to be printed. In order to evaluate the mechanical properties of the structure, variable parameters of the scaffold model were determined; parametric analyses were performed in Ansys design and analysis program. The resulting elasticity modulus and the porosity results were compared with previous studies. Data obtained in current research work were shown to be in line with the previous studies; the elasticity modulus increased as the porosity and the distance between the layers increased, which are represented by results and graphics. By means of this research, it has been shown that the desired stiffness in the organs can be achieved by changing the parameters in the tissue scaffold prepared in this work.

Science Code	:	91406
Key Words	:	3 dimensional printing, tissue scaffold, tunable tissue scaffold design, additive manufacturing
Page Number	:	77
Supervisor	:	Assoc. Prof. Dr. H. Kürşad SEZER

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansa kabul almamdan mezun olduğum sürece kadar bana destek olan, istekli olup çalıştığımız sürece herşeyin mümkün olduğunu hatırlatan Gazi Üniversitesi"nden Sayın Prof. Dr. Hüseyin R. BÖRKLÜ hocama, tez çalışmalarım sırasında, tez kapsamında yaptığım çalışmalarıma olan yönlendirmeleri ve analiz süresince yardımlarını esirgemeyen, "Gazi Üniversitesi"nden danışman hocam Sayın Doç. Dr. Hüseyin Kürşad SEZER'e, tez kapsamında yapılacak çalışmalar için yorumları ve yönlendirmeleri ile katkıda bulunan "Karabük Üniversitesi"nden Sayın Dr. Hatice Akgül EVLEN'e, tez süresince merak ettiğim her konuda destek olan Mehmet KAYGISIZ'a, laboratuar çalışmaları konusunda yardımlarını esirgemeyen "Gazi Üniversitesi"nden Arş. Gör. Oğulcan EREN'e, tezle ilgili işlerimde desteğini esirgemeyen Onur AKTÜRK'e, eğitimim süresince en büyük destekçim olan ve sürekli yanımda hissettiğim, moral kaynağım olan anneme,

Teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ xi

ŞEKİLLERİN LİSTESİ xii

RESİMLERİN LİSTESİ xiii

SİMGELER VE KISALTMALAR xv

1. GİRİŞ 1

2. DOKU İSKELESİ TASARIMINDA TEKNOLOJİNİN BUGÜNKÜ DURUMU 3

2.1. Doku İskelesi Yazdırmanın Tarihi 3

2.2. Doku Mühendisliği Süreci 4

2.2.1. Yapay organ / parçanın 3D tasarımı 5

2.2.2. ECM için iskele inşa edilmesi 6

2.2.3. ECM'nin hazırlanması 6

3. DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE KULLANILAN BİYOYAZDIRMA TEKNOLOJİLERİ 9

3.1. 3D Katmanlı İmalat Teknolojileri ile Biyoyazdırma Yöntemleri 10

3.1.1. Ekstrüzyon esaslı biyoyazdırma 10

3.1.2. Malzeme püskürtme 10

3.1.3. Lazer ile tetiklenen ileri transfer 12

3.1.4. Toz malzeme yazdırma 13

Sayfa

3.1.5. Sinterleme 13
3.1.6. Eritme 14
3.1.7. Yönlendirilmiş enerji birikimi 15
3.1.8. Işın polimerizasyonu 16
3.1.9. Tabaka laminasyon 17
3.2. Geleneksel Biyoyazdırma Yöntemleri 17
3.2.1. Elektrospinleme 17
3.2.2. Kalıplama 18
3.2.3. Çözücü kalıplama 19
3.2.4. Hücre tabaka istifleme (laminasyon) 19
3.2.5. Faz ayırma 19
3.2.6. Dondurarak kurutma (liyofilizasyon) 20
3.3. Katmanlı İmalat ve Biyoyazdırma Teknolojilerinin Karşılaştırılması 20
3.4. Malzemeler 22
3.4.1. Doğal polimerler 24
3.4.2. Doğal polimerlerin dezavantajları 25
3.4.3. Sentetik polimerler 26
3.4.4. Sentetik polimerlerin dezavantajları 27
3.4.5. Metaller 28
3.4.6. Metallerin dezavantajları 28
3.4.7. Seramikler 28
3.4.8. Seramiklerin dezavantajları 29
4. DOKU İSKELESİ TASARIM GEREKSİNİMLERİ 31
4.1. Biyouyumluluk 31

Sayfa

4.2. Biyoçözünürlük 31
4.3. Gözeneklilik 32
4.4. Mekanik Özellikler 33
4.5. Bileşenlerin Yerleşimi 34
4.6. Biyofiziksel ve Biyokimyasal Faktörler / Büyüme Faktörleri 35
5. DOKU İSKELESİ TASARIMI 37
5.1. Tasarım Kriterleri 37
5.2. Analiz için Malzeme Seçimi 39
5.2.1. PLLA ile yapılan önceki çalışmalar 41
5.3. Önceki Tasarım Çalışmaları 42
5.4. Tasarlanan Doku İskelesinin Tasarım Parametreleri 42
6. ANALİZ 45
6.1. Ansys Parametrik Tasarım 45
6.2. Materyal ve Metod 48
6.2.1. Geometrinin sonlu elemanlara bölünmesi (meshing) 49
6.2.2. Elastisite modülü 52
6.2.3. Gözeneklilik 53
7. ANALİZ SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ 55
7.1. Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması 58
7.1.1. Fiber kalınlığının doku iskelesi rijitliğine etkisi 61
7.1.2. Helis yarıçapının iskelenin gözenekliliği üzerindeki etkisi 63
7.2. Diğer Çalışmalarla Karşılaştırmalar 65
8. SONUÇ 69
KAYNAKLAR 71

Sayfa

ÖZGEÇMİŞ 77

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 3.1. PEGT / PBT iskele mimarisinin yapısal ve mekanik karakterizasyonu 22

Çizelge 3.2. Doku mühendisliğinde kullanılan biyomalzemeler ve üretim metodlarının özeti 23

Çizelge 3.3. Doğal polimerler 26

Çizelge 5.1. İnsan tendonunun mekanik özellikleri 38

Çizelge 5.2. Polymerlerin özellikleri 40

Çizelge 5.3. Saf PLLA ve PLLA polimer karışımlarının çekme özellikleri 40

Çizelge 5.4. Analizde kullanılan PLLA malzeme özellikleri 40

Çizelge 5.5. Tasarım parametreleri ve formülleri 44

Çizelge 6.1. Simülasyon için tasarım parametreleri 46

Çizelge 7.1. Ansys analiz sonuçları 56

Çizelge 7.2. İskeledeki yol boyunca yönsel deformasyon değerleri 60

Çizelge 7.3. Farklı tasarım parametrelerine göre gözeneklilik değerleri 64

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 3.1. 3D yazdırma teknolojilerinin tarihi 9

Şekil 5.1. CAD ile tasarlanmış (gri) ve μCT ile taranmış yazdırılmış gyroid şekli..... 41

Şekil 5.2. Gradyan gözeneklilik ve gözenek büyüklüğüne sahip gyroid PDLLA iskelesi..... 42

Şekil 6.1. Ansys parametreler ve sonuçlar tablosu ekranı 48

Şekil 7.1. HR ve SP, LP değerlerine göre Fd etkisi..... 58

Şekil 7.2. Fiber kalınlığının elastisite modülü üzerindeki etkisi..... 61

Şekil 7.3. Fiber kalınlığının elastisite modülü üzerindeki etkisi..... 61

Şekil 7.4. Fiber kalınlığının elastisite modülü üzerindeki etkisi..... 62

Şekil 7.5. LP = SP olduğunda Fd'nin E üzerindeki etkisi 62

Şekil 7.6. Değişken HR, SP ve LP değerlerine göre Gözeneklilik ve E hesaplamaları sonucu..... 63

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 2.1. Sanatçı Fra Angelico'nun ünlü resmi, "Justinian'ın iyileşmesi" 3

Resim 2.2. Hücredışı matris ve dermal fibroblastlar 4

Resim 2.3. Doku mühendisliği süreci 5

Resim 2.4. Doku iskelesi ile organ imalatında güncel uygulamalar 7

Resim 3.1. Damlacık esaslı yazdırma teknolojileri 11

Resim 3.2. Seçici lazer sinterleme sistemi 14

Resim 3.3. Elektrospinleme yöntemi 18

Resim 3.4. Faz ayırma süreci 20

Resim 3.5. CM (A) ve 3DF (B) iskelelerinin elektron mikrografileri 22

Resim 4.1. PCL iskelelerin döşeme desenleri ve gözeneklilik seviyeleri 35

Resim 5.1. İskele birim hücresi 43

Resim 5.2. XZ düzleminden iskele görüntüsü 44

Resim 6.1. Ansys tasarım modelleyicisinde kenarların seçimi 49

Resim 6.2. İskelede kenarların boyutlandırılması 50

Resim 6.3. İskelede yüzeylerin boyutlandırılması 50

Resim 6.4. Kesişmeler ve kenar bölümleme sayısından dolayı meshleme hatası 51

Resim 6.5. Nihai mesh yapısı 51

Resim 6.6. Sonlu elemanlar analizinde uygulanan sınır şartları 53

Resim 6.7. Ansys bounding box 54

Resim 7.1. Yönlü deformasyon simülasyon sonucu 55

Resim 7.2. İskele üzerinde path oluşturma 59

Resim 7.3. İskeledeki yol üzerinde yönlü deformasyon 60

Resim 7.4. Nanokafeslerin tasarım ve imalatı 65

Resim **Sayfa**

Resim 7.5. İskele SEM mikfografisinin kesiti, 0 – 90º mimari 66

Resim 7.6. İskelenin çekme dayanımı altındaki yapısal simülasyon sonuçları 66

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklamalar**
º	Derece
δ	Normal gerilme (N/m^2)
υ	Poisson oranı
ȳ	Sehim
µm	Mikrometre
GPa	GigaPascal
MPa	MegaPascal
mm	Milimetre
mm^2	Milimetrekare
N	Newton
ΔL	Toplam uzama miktarı

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
2D	2 Boyutlu (2 Dimensional)
3D	3 Boyutlu (3 Dimensional)
ACAD	Gelişmiş Bilgisayar Destekli Tasarım (Advanced Computer Aided Design)
CAD	Bilgisayar Destekli Tasarım (Computer Aided Design)
CT	Bilgisayarlı tomografi (Computer Tomography)
EBM	Elektron ışını üretimi (Electron Beam Manufacturing)
ECM	Hücre dışı matris **(**Extra Cellular Matrix)
FDM	Eriyik yığma modelleme (Fused Deposition Modeling)
FEA	Sonlu elemanlar analizi (Finite Element Analysis)
HA	Hidroksiapatit

Kısaltmalar	Açıklamalar
MAPLE DW	Matris destekli darbeli lazer buharlaşma doğrudan yazma metodu (Matrix-Assisted Pulsed Laser Evaporation Direct Writing)
MSC	Mezenkimal kök hücreler (Mesenchymal Stem Cells)
MRI	Manyetik rezonans görüntüleme (Magnetic Resonance Imaging)
PCL	Poli (ε-kaprolakton)
PDLLA	Poli (D, L) - laktit
PEG	Polietilen glikol
PHEMA	Polihidroksietilmetakrilat
PLA	Polilaktik asit
PLGA	Poliglikoik asit
PLLA	Poli-L-Laktik asit
PVA	Polivinil alkol
SLA	Stereolitografi
SLS	Seçici lazer sinterleme (Selective Laser Sintering)
SLM	Seçici lazer eritme (Selective Laser Melting)
SPECT	Tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi (Single Photon Emission Computer Tomography)
TIPS	Termal olarak indüklenmiş faz ayırma (Thermally Induced Phase Separation)

1. GİRİŞ

3D katmanlı imalat teknolojileri 1980'lerden bu yana otomotiv, tasarım ve sağlık hizmetleri gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Sağlık alanındaki uygulamaları arasında, doku mühendisliği 3D katmanlı imalat teknolojilerinden çok yararlanmaktadır. Doku mühendisliği, kusurlu veya yaralı olan veya işlev görmeyen organların yenilenmesine, restorasyonuna veya değiştirilmesine odaklanır [1]. 3D katmanlı imalat ile direkt organ üretimi çalışmaları mevcut olsa da genelde bu teknoloji organların ana yapısı olan doku iskelelerinin yazdırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. İskeleler, hücre bağlanması ve daha sonra doku gelişimi için organdaki yapısal desteği sağlar. Bazı iskeleler karmaşık şekillerde olabilir ve bölgesel olarak farklı mekanik dayanım veya malzemeler gerektirebilir. 3D yazdırma, karmaşık iskele mimarilerinin oluşturulmasını mümkün kılmaktadır. Ayrıca, bu teknolojilerle farklı mekanik dayanım gereksinimleri için farklı malzemelerin kullanılması da mümkündür.

Doku iskeleleri, organların mekanik ve biyolojik gereksinimlerine göre üretilir. İskelenin sertliği, büyük ölçüde, kök hücrelerin nöral soy, kas soy veya kemik soyuna farklılaşmasını belirler. Bir malzeme kullanılarak (tipik olarak polimerik biyomalzemeler) basılan ve tekdüze tasarıma sahip doku iskeleleri genellikle her katmanda tekdüze mekanik mukavemete sahiptir. Ancak, kıkırdak, tendon ve osteokondral dokular gibi bazı organların her katmanda değişen sertlik gereksinimleri vardır. Farklı katmanlı doku iskeleleri yazdırmak için birkaç malzeme kullanmak hem teknoloji olarak maliyetlidir hem de daha fazla zaman gerektirir. Ayarlanabilir sertliğe sahip iskeleler üzerinde yapılan önceki çalışmalar çoğunlukla birkaç malzeme kullanılarak ya da kaplama veya yapıştırma teknikleri kullanılarak başarılmıştır. Birkaç malzemenin birlikte kullanılması zaman alır, çünkü farklı malzemeler farklı erime noktalarına sahiptir ve biyomateryaller söz konusu olduğunda, canlı hücrelerin yaşayabilirliği de önemlidir. Kaplama ve yapıştırma teknikleri aynı zamanda iskele üretiminin işlem süresini de oldukça uzatabilir. Bu bağlamda, çok malzemeli ve çok fazlı üretim yöntemleri yerine, üretim süresini kolaylaştıran bir tasarım gerekmektedir.

Bu araştırmada, bu gereksinimlere göre tasarlanmış sadece bir malzeme kullanarak organ tipine bağlı olarak çeşitli mekanik özelliklerini yansıtan gelişmiş bir 3D biyoyazdırılabilir bir iskele tasarlanmış ve çoklu doku tasarım gereksinimlerine karşı incelenmiştir. İskelenin

tasarımı ve analizi sonlu elemanlar yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Tasarlanan 3D doku iskelesinin elastisite modülü değişken porozite değerleriyle analiz edilmiştir. Çalışmada kullanılan biyomalzeme PLLA olarak seçilmiş ve ACAD modeline uygulanmıştır. Tasarım parametreleri değiştirilerek, iskele modelinde 2 mm nodal yer değiştirmesi uygulanarak fiber genişliği, gözeneklilik ve katman sayısının etkisi incelenmiştir. Bu tez kapsamında biyomalzemelerin, hücre kültürü tekniklerinin ve biyolojik testlerin yüksek maliyetli olması nedeniyle deneysel çalışma yapılamamıştır. Bütçe kısıtlamaları nedeniyle, CAD programlarında yapılan mekanik tasarım ve analizler, deneysel analizlere yakın sonuçlar vermektedir.

2. DOKU İSKELESİ TASARIMINDA TEKNOLOJİNİN BUGÜNKÜ DURUMU

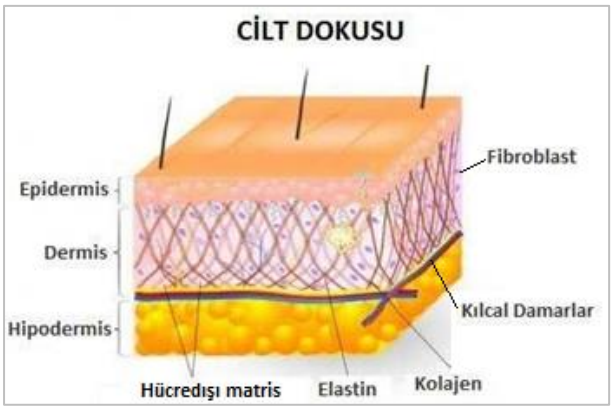
Bu bölümde, doku iskelesi tasarımı ve üretiminin tarihçesini ve günümüzdeki teknolojileri açıklanmaktadır. Tasarım ile ilgili sorunlara ve çeşitli tasarım parametrelerinin iskelelerin kalitesi ve işlevselliği üzerindeki etkilerine özellikle değinilmiştir. Diğer araştırmacılar tarafından bu sorunları çözmek için geliştirilen yöntemler ve teknikler de gözden geçirilmiştir.

2.1. Doku İskelesi Yazdırmanın Tarihi

İlk bilinen doku mühendisliği çalışması, sanatçı Fra Angelico'nun ünlü resmi "Justinian'ın İyileşmesi" (Resim 2.1) isimli eserinde resmedilen homograft uzuvunun yaralı bir asker üzerine nakledilmesini gösteren, rejeneratif tıbbın bir örneğidir [2]. 1980'lerin başlarındaki çalışmalar çoğunlukla canlı dokuları manipüle ederek protezlerle birleştirmek üzereydi; ancak, biyolojik olarak gerçek yeni doku üretimi, dermal (cilt) fibroblastların (bağ dokusu) (Resim 2.2) büyümesini desteklemek için kollajen matriksinin bir deri yerine kullanılmasına kadar gerçekleşmemiştir [3].



Resim 2.1. Sanatçı Fra Angelico'nun ünlü resmi, "Justinian'ın iyileşmesi" [4]



Resim 2.2. Hücredışı matris ve dermal fibroblastlar

1980'lerin ortalarında, fiziksel ve kimyasal özellikleri manipüle edilemeyen doğal olarak oluşturulmuş yapı iskeleleri kullanmak yerine, hücrelerin yaşamsal faaliyetlerine uygun sentetik yapı iskeleleri tasarlama ihtiyacı ortaya çıktı [3]. Doku mühendisliği kavramı tarihsel dönüm noktasına ilk kez 1993 yılında Langer ve Vacanti'nin; biyobozunur üç boyutlu (3D) doku iskelelerinin özelliklerinin ve uygulamalarınının detaylandırıldığı makaleyi Science'ta yayınladığı zaman ulaştı [5]. Bu makalenin yayınlanmasının ardından, daha sonraki bölümlerde bir kısmı detaylandırılmış olan fiber bağlama, faz ayırma, çözücü dökümü, partikül filtreleme, membran laminasyonu, kalıplama ve köpükleme gibi gözenekli 3D yapı iskelelerinin imal edilmesine bir dizi geleneksel imalat tekniği uygulanmıştır. Bununla birlikte, tüm bu yöntemlerin ideal 3D iskelelere uzak daha tutarsız sonuçlara yol açtığı, iskele mimarisinin, gözenek ağının ve gözenek boyutunun yeterli kontrolüne izin vermediği görülmüştür. Bu sorunun üstesinden gelmek için araştırmacılar, kontrollü gözenek boyutu ve gözenek yapısına sahip özelleştirilmiş iskeleleri imal etmek için 3D yazdırma yöntemlerinin (ayrıca hızlı prototipleme, katı serbest formlu imalat veya eklemeli imalat olarak da bilinir) kullanılmasını önermiştir [5]. Uygulamalardaki ilerlemeler üzerine, doku mühendisliği gerekli mekanik özelliklere sahip iskelelerin üretilebildiği; doğal veya sentetik polimerlerden yapılmış insan organlarının 3D yazıcıların yardımıyla replike edildiği bir noktaya gelmiştir.

2.2. Doku Mühendisliği Süreci

Doku mühendisliği süreci, sinir, karaciğer, pankreas, kıkırdak ve kemik gibi embriyonik / yetişkin kök veya öncül hücre de dahil olmak üzere hastadan küçük bir biyopsiden hücre toplanması ile başlar [6]. Toplanan hücrelerdaha sonra gelişen biyoyapı içerisinde biyolojik

olarak bozunup yerini doğal yapı iskelerine bırakacak olan geçici üç boyutlu yapı iskelelerine, hücreler ve biyofaktörlerle birlikte tohumlanır (Resim 2.3). İskele çözüldükçe, hücre dışı matris (extracellular matrix (ECM)) iskele üzerinde çoğalır ve boşlukları doldurur, ve en sonunda organ veya doku oluşur [7]. Bu süreç aşağıdaki adımlarla özetlenebilir:

1. Nakledilecek yapay organ / parçanın 3D tasarımı
2. ECM'nin yapışması ve yayılması için iskele inşa edilmesi
3. Yapay organın ana dokusunu oluşturacak ECM'nin hazırlanması



Resim 2.3. Doku mühendisliği süreci 1) X-Ray, MRI gibi görüntüleme teknikleri ile organ görüntüsü alınır. 2) CAD formatında görüntü oluşturulur [8]

2.2.1. Yapay organ / parçanın 3D tasarımı

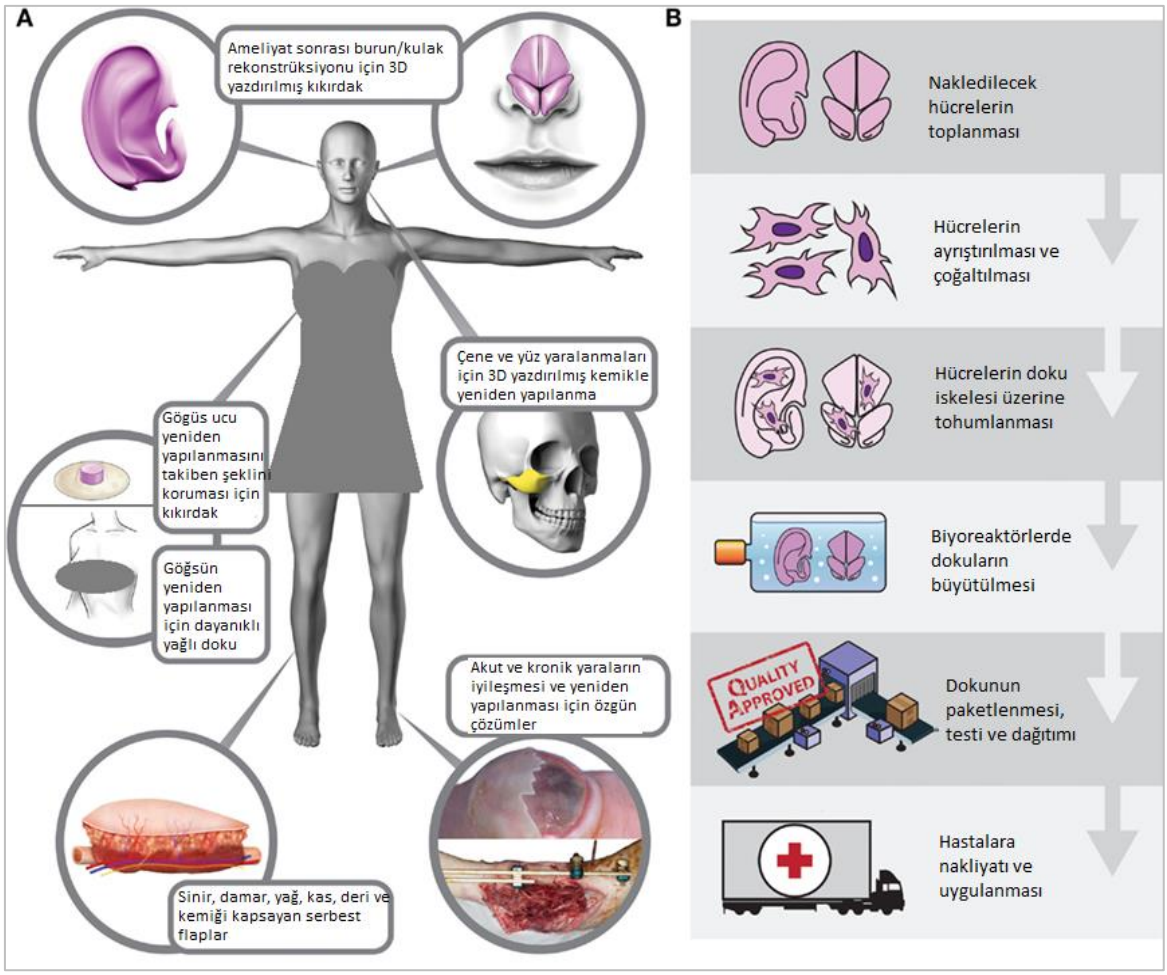
Yapay organın / parçanın tasarımı, kusur veya organın 3D görüntüsünün alınmasını gerektirir. Güncel tıbbi görüntü toplama yöntemleri X-ışını bilgisayarlı tomografi (CT Taraması), manyetik rezonans görüntüleme (MRI), ultrason ekoskopi, tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi (SPECT) ve biyoluminesans görüntülemedir. [9]. Bu teknolojiler, doku mühendislerinin hücresel, doku, organ ve organizma seviyelerinde 3D yapısını ve işlevini anlamalarına yardımcı olur. [10]. Görüntü alındıktan sonra, hastaya özel modifikasyon veya onarımı tasarlamaya uygun hale getirilmek üzere Bilgisayar Destekli Tasarım (Computer Aided Design (CAD)) modeli oluşturulur. CAD formatı doku iskelesinin katman katman yazdırılması açısından önem taşır.

2.2.2. ECM için iskele inşa edilmesi

Doku iskeleleri; hücre biyomateryal etkileşimlerini, hücre adhezyonunu (yapışma) ve ECM birikmesini destekleyerek; hücre yaşaması, çoğalması ve farklılaşması için gereken düzenleyici faktörleri ve gaz, besin maddelerini geçirmek için tasarlanmış üç boyutlu gözenekli katı biyomateryaller olarak tanımlanır. [11]. Eklemeli imalat, kas-iskelet sistemi doku yenilenmesi ihtiyaçlarının daha iyi eşleştirilmesine yardımcı olabilecek özel tasarımlı yapı iskelelerinin geliştirilmesinde etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Bu teknoloji ile üretilen doku iskelelerinde, gözenek konfigürasyonu tamamen kontrol edilebilir ve bu sayede doğal dokularla mekanik olarak eşleşecek şekilde ayarlanabilmektedir [12]. Doku mühendisliğinin başarısı çoğunlukla yeniden yapılanma sürecine bağlıdır, çünkü nakledilen organın yeniden yapılanma süreci bitene kadar doku iskelesi, kusurlu parçanın şeklini korur. [11]. Diğer taraftan, doku iskelesi, doku rejenerasyonu oranında biyolojik olarak çözünebilir olmalı ve hastanın bağışıklık sistemi tarafından reddedilme olasılığını azaltmak için in vivo (hastanın vücudu içinde, yaşayan ortam) ortamda enflamasyon (iltihap) veya toksisiteye sebep olmamalıdır [13]. Verimli ve etkin bir iskele tasarımı, biyouyumluluk, biyoçözünürlük, mekanik özellikler, gözeneklilik, iskele mimarisi ve üretim teknolojisine dayanır [14]. Bu özelliklerin her biri doku iskelesi tasarım gereklilikleri başlığı altında detaylandırılmıştır.

2.2.3. ECM'nin hazırlanması

Organların doğal doku iskelesi olan ECM iskelesinin malzemeleri çeşitli türlerden (insanlar, hayvanlar, kabuklular), dokulardan ve organlardan elde edilir ve iki boyutlu tabakalar, boru şeklinde veya oyuk yapılar, üç boyutlu tam organ şekilleri ve genişletilmiş klinik uygulamalar için hidrojeller olarak yapılandırılabilir [15]. ECM tipik olarak, kaynak dokunun hücresel bileşenlerini mümkün olduğunca çıkardıktan sonra dokuların ve organların hücresizleştirilmesi (organın hücrelerinden temizlenmesi üzerine sadece doku iskelesinin kalması) yoluyla toplanır [15]. 3D katmanlı imalat teknolojileri ile üretilen doku iskelelerinde ECM oluşturmak için büyüme ve çoğalmayı destekleyecek enzimler iskele üzerine yerleştirilir. Organdan toplanan hücreler ise hücre kültürü teknikleri ile çoğaltılır [11]. Çoğaltılan hücreler ECM haline getirilmiş doku iskelesi üzerinde tohumlanarak (Resim 2.4) biyoreaktörlerde dokuların büyütülmesi sağlanır.



Resim 2.4. Doku iskelesi ile organ imalatında güncel uygulamalar [16]

3. DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE KULLANILAN BİYOYAZDIRMA TEKNOLOJİLERİ

Hücreler, peptidler (bir veya daha fazla amino asitten oluşan moleküller) ve biyomalzemeler dahil yapay dokuların üretimi, yarım asır öncesine kadar uzanmaktadır. Ancak canlı hücreler de dahil olmak üzere biyolojik yapıların imalatı (Şekil 3.1) 1990'lı yıllara dayanmaktadır [9]. 2000 yılında, biyomühendis Thomas Boland, gen fonksiyonlarını incelemek üzere DNA parçalarını basmak için mürekkep püskürtmeli yazıcıları geliştiren bilimadamlarından ilham almıştır. Boland, kabaca standart mürekkep damlacıkları boyutunda insan hücrelerinin (10 µm) aynı donanım ile yazdırılabileceğini keşfetmiştir,. Böylece, Lexmark'ın mürekkep kartuşuyla proteinleri basmış ve diğer malzemelerle %90 başarılı denemeler yaptıktan sonra, Boland 2003'te testler için kullanılan biyoyazdırma cihazının patenti almıştır [17]. Bu büyük buluştan sonra, çeşitli desenler, canlı hücreler ve biyomalzemeler geliştirilmiş ve yapılar 3D formatına dönüştürülmüştür. Biyoyazdırma, stereolitografi ve robotik dağıtım (eriyik biriktirme modellemesi (FDM - Fused Deposition Modelling), biyodamlatma (bioplotting)) gibi baskı teknolojileri, üretim işleminde hücreleri içerecek şekilde geliştirilmiş veya adapte edilmiştir [9].



Şekil 3.1. 3D yazdırma teknolojilerinin tarihi [9]

Doku iskelesi imalatı için kullanılan yöntemler arasında katmanlı imalat teknolojileri ile biyoyazdırma yöntemleri (ekstrüzyon esaslı yazdırma, malzeme püskürtme, toz malzeme yazdırma, sinterleme, eritme, yönlendirilmiş enerji birikimi, ışın polimerizasyonu, tabaka laminasyon, lazer kaynaklı ileri transfer) ve daha geleneksel yazdırma yöntemleri

(elektrospinleme, çözücü kalıplama, hücre tabaka istifleme (laminasyon), faz ayırma, dondurarak kurutma) bulunmaktadır.

3.1. 3D Katmanlı İmalat Teknolojileri ile Biyoyazdırma Yöntemleri

3.1.1. Ekstrüzyon esaslı biyoyazdırma

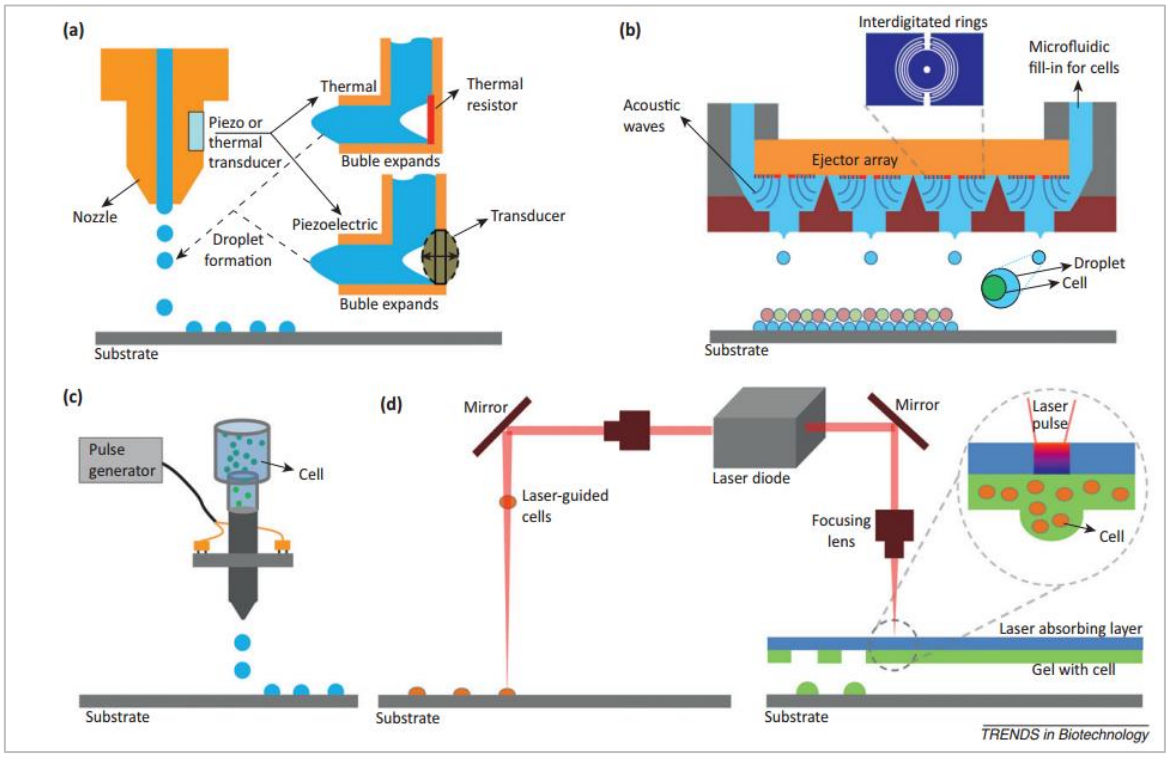
Eriyik Yığma Modelleme (Fused Deposition Modeling - FDM), Eriyik Filament İmalatı (Fused Filament Fabrication - FFF) ve Çubuk Yığma Kalıplaması (Stick Deposition Molding - SDM) olarak da bilinen bu yöntem en yaygın ve en basit 3D baskı teknolojisidir [1]. Ekstrüzyon esaslı yazdırmada yöntem; filament biçiminde malzemenin kontrollü bir düzenekte bir nozülden basınç yoluyla çıkarılarak tabakalar halinde basılmasıdır. Ekstrüzyon işlemi çıktıları, gözeneklerin boyutu, nozül başlığı çapı ve kullanılabilen malzemeler yönüyle sınırlıdır. Yapım süreci sırasında kullanılan destek malzemesinin çıkarılması zor olduğundan, bazı karmaşık geometrilerin veya daha küçük gözeneklerin oluşturulmasını zorlaştırır [18].

FDM makinelerinde yüksek sıcaklığın filamentleri ısıtmak için kullanılması, biyolojik faktörlerin veya hücrelerin sürece dahil edilmesini engeller [19]. Bu yüzden bu süreçler yazdırma sonrası gerçekleştirilir.

3.1.2. Malzeme püskürtme

Çoklu Püskürtmeli Baskı (MJP) / Multijet Modelleme (MJM), Polyjet Baskı ve Kontur Hazırlama (CC), Hassas Ekstrüzyon Üretimi (PEM) olarak da geçmektedir. Püskürtmeli yazdırmada ısıtılmış bir kartuşta depolanan biyomalzeme (sıvılar, reaktif oligomerler veya dispersiyonlar), 10-20 μm civarında dış çapında bir mikronozülden [20] piezoelektrik, termal ya da akustik olarak harekete geçirilerek (Resim 3.1) kontrollü bir düzenekte tabakalar halinde basılır. Katılaşma, malzemenin soğutma, ısıtma veya kimyasal reaksiyon yoluyla gerçekleşir [21]. Bazı çalışmalar, bu lokalize ısıtmanın (200 ° C ile 300 ° C'ye kadar) biyolojik moleküllerin stabilitesi üzerinde veya memeli hücrelerinin canlılığı veya yazdırma sonrası işlevi üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığını göstermiştir [10]. Çözelti viskozitesi, şırınga ucu çapı, şırınga basıncı ve kademe motor hızı değiştirilerek

biyomalzeme akışkanlığı değiştirilebilir, böylece 5 µm ila 600 µm arasında değişen yapıların oluşturulması mümkündür [20].



Resim 3.1. Damlacık esaslı yazdırma teknolojileri a) Termal ve piezoelektrik yöntem, b) akustik yöntem, c) darbe yöntemi, d) lazer ile tetikleme yöntemi [22]

Damlacık bazlı yazdırma büyük yapıları üretmek için hızlı ve düşük maliyetli bir yöntem sunsa da, polimerler arasında jelleşmeyi sağlamak için hızlı polimerizasyon kinetiği gerektirmesi, kullanılabilecek polimerlerin sayısını sınırlamakta [23]; malzemelerin ısıl ve mekanik strese maruz kalma riski, düşük damlacık yönlülüğü, üniform olmayan damlacık büyüklüğü, nozülün sık sık tıkanması ve güvenilir olmayan hücre kapsülleme riski, bu yazıcıların 3D biyoyazdırmada kullanımı açısından dezavantajlara sebep olmaktadır [10].

Bu teknoloji Mulhaupt ve arkadaşları tarafından, 90^0 C'ye kadar ısıtılmış agar ve jelatin çözeltilerini soğutulmuş damlatma aracı haline getirilerek 3 boyutlu bir hidrojel iskelesi elde etmek için kullanılmıştır [20]. Hee ve ark. elastisite modülünü artırmak için salınımlı bir nozül sistemi kullanmışlardır [24]. Daoud ve arkadaşları tarafından kontrollü gözenek yapıları olan poliglikoik asit (PLGA) iskelesi dahil çeşitli malzemeler çalışılmıştır, Ye ve diğerleri tarafından birbirine bağlanmış 400-500 µm gözenekler ile stoikiometrik olmayan apatit (ns-AP) ve poli (ε-kaprolakton) (PCL) iskeleler de çalışılmıştır [24].

3.1.3. Lazer ile tetiklenen ileri transfer

Lazer ile tetiklenen ileri transfer (Laser induced forward transfer - LIFT) metodunda, cam, optik olarak saydam kuvars desteği [25] veya lazer-enerji emici katmandan (örneğin, altın veya titanyum) geçen lazer darbeleri ile, camın altına eklenmiş olan biyolojik malzeme filminin (örneğin, hücreler ve / veya hidrojel) alt tabaka üzerinde bulunan sıvı çözelti üzerine atılmasını sağlar [10] (Resim 3.1). Lazer darbeleri, biyomateryal üzerindeki cam veya altın katman üzerine odaklanır, buhar oluşması üzerine altın katman tarafından üretilen gaz basıncı bir damlacık oluşturarak biyomalzemeyi aşağıdaki alt tabakaya karşı iter [26].

LIFT'de kullanılan 2 farklı lazer vardır, ilki kızılötesi dalga boyuna yakın bir katı hal lazeri olan Nd: YAG (Neodim katkılı Yttrium Aluminyum Garnet) [27]. İkincisi, ultraviyole dalga boyu üreten argon flörür (ArF) veya kripton flörür (KrF) lazer olan eksimer lazerdir [28]. Çalışmalar, UV absorpsiyon dalgalarının nüfuz etme derinliğinden daha yüksek emilime ve yeterli kalınlığa sahip şeffaf bir tutucu üzerinde ince tabakalar kullanarak, biyolojik numunenin zararının en aza indirilebileceğini göstermiştir [29].

Kabarcık tahrikli (blister-actuated LIFT (BA-LIFT)) LIFT metodunda sıvı tabakası kalın bir emici polimerden buharlaşma ve ayrılma olmadan geçebilmektedir; bu metod kullanılarak fare embriyonik kök hücreleri kültürleri termal ve mekanik şoklardan izole ederek çalışılmıştır [30].

LIFT biyoyazdırma, peptitler, DNA ve hücreler gibi biyolojik materyallerle uygulanır [10]. Lothar ve ark. LIFT kullanarak deri hücre dizisi (fibroblastlar / keratinositler) ve insan mezenkimal kök hücreleri (hMSC) yazdırmış ve LIFT'in hücreler üzerindeki etkisini değerlendirmiştir. hMSC için deri hücreleri % 98 ± % 1 ve % 90 ± % 10 oranında sağ kalmıştır [31]. Duocastella ve arkadaşları, tıbbi tanı veya hastalık tedavisi için kullanılan IgG (immünoglobin G) çözeltisinin mikrodizilerini yazdırmış ve LIFT yönteminin iyi tanımlanmış konturlar ve uygulanabilir sonuçlar yarattığı sonucuna varmıştır [32].

Matris destekli darbeli lazer buharlaşma doğrudan yazma metodu (Matrix-assisted pulsed laser evaporation direct writing (MAPLE DW)), enerji emici ortam olarak hidrojel matris katmanı (~ 100 μm) kullanır. Düşük güçteki UV lazerinin düşük enerjili uyarmaya ve ejeksiyona sahip olması, hücreleri ısı ve sitotoksik kontaminasyondan korur [33]. Nathan ve

arkadaşları tarafından incelendiği üzere; MAPLE DW, dermal fibroblastlar, miyoblastlar, nöral kök hücreler, sığır pulmoner arter endotel hücreleri ve meme kanseri hücreleri gibi hücresel bileşiklerde kullanılabilecek etkili bir yöntemdir [31].

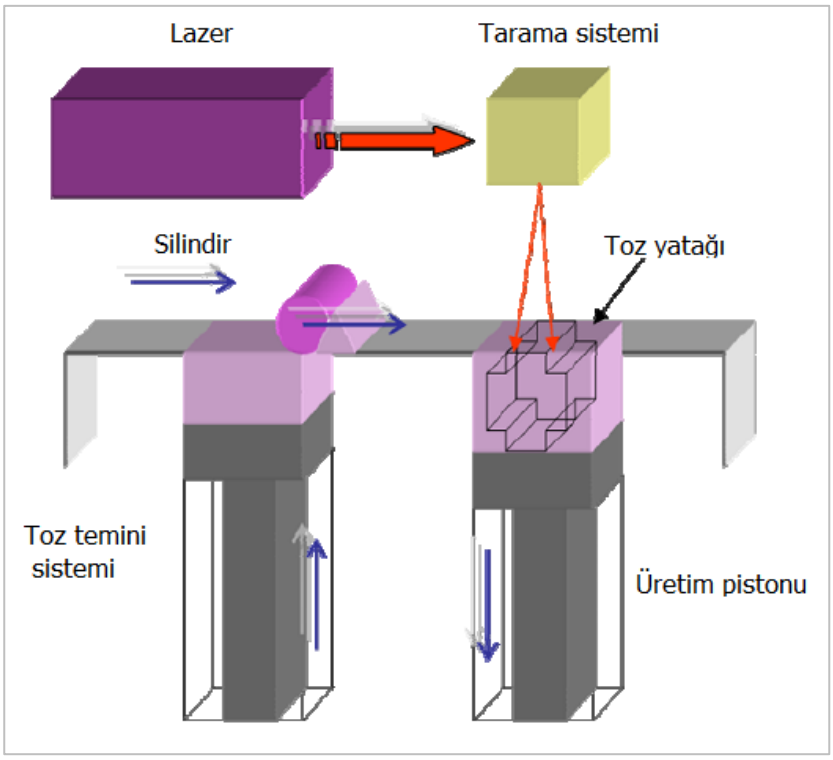
3.1.4. Toz malzeme yazdırma

Yapıştırıcı aracılı imalat olarak da bilinen bu yazdırma yönteminde, toz haline getirilmiş biyomalzemelerle prototipleme, başka bir mürekkep püskürtmeli üretim yöntemidir. Burada bir bağlayıcı (bir polimer çözeltisi gibi), yazdırma nozülü aracılığıyla bir toz yatağına atılır ve karmaşık üç boyutlu iskeleler toz tabakaları tarafından oluşturulur [34]. Polimer parçacık büyüklüğü ölçeğinde (yaklaşık 200 - 300 μm) çoklu katmanlar üretilebilir.

Genel olarak kullanılan 3D yazdırma makinelerinde kullanılan bağlayıcılar toksik olduğundan, CaCl2 gibi sitotoksik olmayan çapraz bağlayıcılar bağlayıcı olarak kullanılır ve yazıcı kartuşlarına yüklenir [6]. Substrat üzerinde hidrojel baskısından sonra, örneğin sodyum aljinat, çapraz bağlayıcılar çıkarılır ve çapraz bağlı olmayan hidrojel ile temas eder, hızlı polimerizasyon meydana gelir ve sert jelleşmeye neden olur [6]. Nişasta, dekstran ve jelatin gibi doğal biyopolimerlerden oluşan iskeleler sulu çözücüler kullanılarak oluşturulabilir ve mikroporlar partikül çözümü yoluyla oluşturulabilir. Griffith ve ark. karaciğer doku mühendisliği için PLGA kullanmıştır [20]

3.1.5. Sinterleme

Seçici lazer sinterleme (SLS), ve seçici ısı sinterleme (SHS) olarak bilinen toz yazdırma işlemleridir. Bu işlemlerden SLS, toz yataklı füzyon işleminde en yaygın kullanılan teknolojidir [1]. SLS, silindirik bir rulo kullanarak bir yüzeye ince bir katmanın (~ 100 - 200 μm) bir toz haline getirilmiş polimerik malzeme yayıldığı ısı bazlı bir tekniktir (Resim 3.2). Bir lazer daha sonra toz yatağı üzerine taranır, bu tozu yerel olarak ısıtır ve bitişik parçacıkları sinter-bağlayarak desenli yapılar tabakası oluşturur.



Resim 3.2. Seçici lazer sinterleme sistemi [35]

Mekanik bütünlük kaybı olmadan parçadan salınan sinterlenmemiş parçacıkların uzaklaştırılmasıyla elde edilen yüksek gözeneklilik ve yüzey alanı, bu teknolojiyi özellikle iskele imalatına uygun hale getirir [20]. SLS parametreleri, özellikle tarama yönü ve aralığı, iskelelerin boyutsal doğruluğunu ve mekanik özelliklerini önemli ölçüde etkileyebilir. . Etki HA (hidroksiapatit) ve PCL (poli (ε-kaprolakton)) iskeleleri için gösterilmiştir. Nişasta selülozu ve selüloz asetat gibi selüloz bazlı iskeleler, lazer gücünü ve tarama hızını optimize ederek doku mühendisliği ve ilaç dağıtımında potansiyel kullanımı olan iskelelerin tasarımı ve üretimi için tatmin edici gözeneklilik düzeyinde ve mekanik özelliklerde üretilebilir. SLS ayrıca, Kalsiyum Fosfat (Ca-P) / poli (hidroksibütiratcohidroksivalerat) (PHBV) ve karbonatlı hidroksiapatit (CHAp) / poli (L-laktik asit) (PLLA) nano kompozitleri kullanarak kemik dokusu mühendisliği için nanokompozit yapı iskelelerinin imalinde de başarılı bir yöntemdir [24].

3.1.6. Eritme

Seçici lazer eritme (SLM) SLS'ye benzer bir prensibi içerir, ancak soy gaz doldurulmuş bir odada çok ince metal tozları eritmek için lif lazer kaynağı kullanarak, ortamdaki oksijeni

azaltır ve hidrojen toplanmasını engelleyerek daha yüksek saflık sağlar [36]. Bir parça oluşturmak için, 200 ˚C'ye kadar ısıtılabilen 20 - 100 µm kalınlığında bir toz tabakası masaya yayılır. Toz, kaplayıcı tarafından masanın üzerine taşınır ve yayılır [36]. Tam erimenin avantajı, SLS'de yapılan işlem sonrası fırın işlemlerine duyulan ihtiyacı ortadan kaldırması ve herhangi bir bağlayıcı veya laminasyon işlemi gerektirmemesidir [24]. SLM'de çoğunlukla özel fitting implantları ve protezleri üretmek için farklı metal türleri (paslanmaz çelik, kobalt-krom ve titanyum) kullanılır. Lindner ve arkadaşları tarafından β-trikalsiyum fosfat (β-TCP) ve poli (D, L) - laktit (PDLLA) kullanılarak yapı iskelelerinin SLM üretimini değerlendirmek için araştırma yapılmıştır [24]. Sonuçlar, biyoçözünür kompozit malzemelerin, tamamen birbirine bağlı gözenekli bir yapıya sahip olduğunu ve gözeneklerin düzenli ve tekrar üretilebilir bir morfolojisi olabileceğini göstermiştir [24].

3.1.7. Yönlendirilmiş enerji birikimi

Bu işlem, biriken malzemeleri birleştirmek veya eritmek için odaklanmış termal enerji (örneğin, lazer, ultraviyole (UV), elektron ışını ve plazma arkı) kullanır. Elektron ışını üretimi (Electron beam manufacturing - EBM) ve lazer tozu oluşturma (laser powder forming - LPF), bu teknolojiyi kullanan iyi bilinen bazı işlemlerdir.

EBM, yoğunluğu 100 kW / cm2'nin üzerinde odaklanmış bir enerji ışını üretmek üzere 60 kW gücünde çalışan bir elektron tabancasından (taramalı elektron mikroskobundakine benzer) oluşur. Işın odağı elektromanyetik lensler tarafından kontrol edilir ve ışık hareketi sapma bobinleri tarafından kontrol edilir. Bir parçayı oluşturmak için, masaya ~ 100 µ kalınlığında bir toz tabakası yayılır. Toz, yapım bölmesinde tutulan iki hazneden (kaset) beslenir. Hareketli bir tırmık tozu masanın üzerine yayar. Elektron ışını ilk önce toz katmanını daha yüksek bir tarama hızında ısıtır, ardından CAD dosyasında belirlenen geometriye dayanarak toz katmanını eritir. EBM'de, bir parçanın her katmanı iki adımda inşa edilir. İlk önce kontur parçası üretilir, ardından kontur içindeki toz erir ve birlikte ilk tabakayı oluşturur [36]. EBM, diz, kalça protezi ve çene yüz plakları gibi ortopedik bileşenlerin üretiminde kullanılır [36].

3.1.8. Işın polimerizasyonu

Stereolitografi (SLA veya SL), Dijital Işık İşleme (Digital Light Processing - DLP), Scan-LED Teknolojisi (SLT), Multiphoton Litografi olarak bilinen 3D yazdırma yöntemleri, bir tanktaki sıvı fotopolimerin ışıkla aktive olan polimerizasyon ile seçici olarak kürlendiği polimerizasyon işlemidir. SLA, UV (ultraviyole) ya da görünür spektrumda yayılan bir lazer ışını kullanarak ince sıvı fotopolimer katmanlarının kürlenmesidir. İki ışınlama yöntemi vardır; birincisi, bir görüntünün desenli bir maskeden ışınlanarak sıvı polimere aktarıldığı maske-bazlı bir yöntemdir; ve ikinci yöntem odaklanmış bir UV ışını kullanarak doğrudan yazdırma ile polimer yapılar üretir [9]. Tasarlanmış modele göre ışık, fotopolimer reçinesi üzerinde ince tabaka formlarında taranır. Ardışık olarak basılan 2D katmanları daha sonra 3D yapı oluşturur [10]. Stereolitografi, lazer ışını çapı çözünürlüğü yaklaşık 250 μm olarak sınırlandırılmıştır, bununla birlikte küçük noktalı lazer sistemleri daha küçük (70 μm veya daha az) özellikte üretebilir [20]. Daha küçük özellikler mikro-stereolitografi (μSL) adı verilen yöntemle, lazer çapı birkaç mikrometreye düşürerek, spot büyüklüğü 1-10 μm kalınlığındaki ince bir tabakayı katılaştırmak için üretilebilir. Daha önce yapılan çalışmalarda μSL iskelesinde hücre çoğalmasının diğerlerine göre üstün olduğu görülmüştür [24].

Biyoçözünür 3D polimer iskeleler, dietil fumarat, poli (propilen fumarat) ve fotobaşlatıcı bisasilfosfin oksitten oluşan kemik dokusu için üretildi. Ayrıca kritik boyutta (4 mm kalınlıkta, 50 mm çaplı) kemik kusurlarını iyileştirmek için uygun boyutlara sahip, fotokürlenebilir seramik akrilat süspansiyonu ile süngerimsi kemik ve hidroksiapatit kemik dokusu iskeleleri oluşturulmuştur [20].

Multifoton litografi iki fotonlu absorpsiyon metodu ile çalışır; lazer ışını, saydam ışığa duyarlı materyale üç boyutlu olarak odaklanır, böylece 3D yapılar üretilebilir. SLA'dan farklı olarak, materyal olarak kullanılan monomer / oligomerlerin lazerin hacim içinde odaklanmasını sağlayacak kadar şeffaf olması ve şeffaflığın absorpsiyon dalga boyunda olması gerekir. Akrilat ve epoksi gibi malzemeler ve fotonik kristal şablonları gibi çeşitli bileşenler üretilmiştir [37].

Işın yazdırma tekniklerinin dezavantajları, uzun imalat süreleri ve iskelenin kütle eğim meyilinin nozül yönüne doğru olmasıdır. Hız sınırlamasının üstesinden gelmek için, aynı anda tam katmanı üretmek üzere tek lazer ucu bir ayna cihazı değiştirilmiştir [9].

3.1.9. Tabaka laminasyon

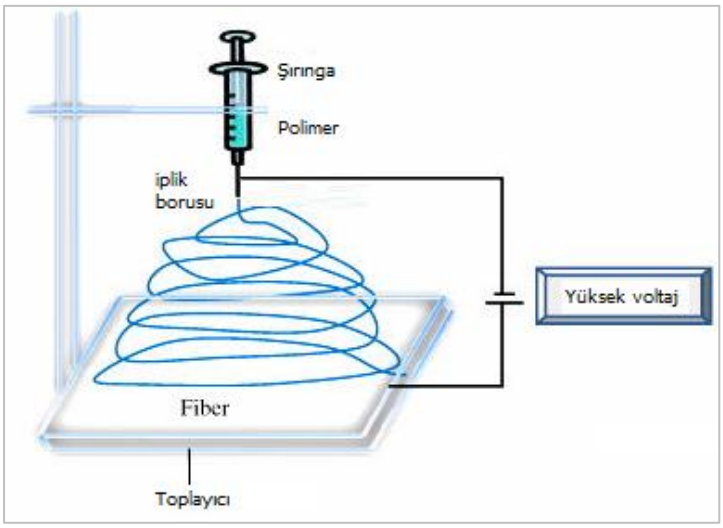
Malzeme tabakalarının bir nesneyi oluşturmak üzere bağlandığı tabaka laminasyon işlemleri arasında, Lamine Nesne Modelleme (Laminated Object Modeling - LOM), Film Transfer Görüntüleme (Film Transfer Imaging - FTI) veya Seçici Biriktirme Laminasyonu (Selective Deposition Lamination - SDL) bulunur. Aynı zamanda, önceden imal edilmiş polimer tabakalarının, polimerin cam geçiş sıcaklığının üzerine yükseltilmesi ve yumuşatılmış tabakaların uygulanan basınç ile birleştirilmesi ısı aracılı 3D üretimi olarak da bilinir. Bu yöntemin dezavantajı, yüksek hücreselliğe yer vermeyecek şekilde düşük hücresel hacime ve yüksek yoğunluğa sahip olmasıdır [20].

Chen ve meslektaşları, mikrodesenleme gibi çeşitli teknikler kullanılarak ile poli (DL-laktik-ko-glikolik) asit (PLGA) gibi biyoçözünür polyester polimerler ile daha karmaşık yapı iskelelerinin laminasyon teknikleri ile üretilebileceğini bulmuşlardır. Borenstein ve meslektaşları (2002), PLGA'yı mikrofabrik silikon kalıplarına dökerek, küçük çukurlar içeren ince biyoçözünür filmleri lamine ederek katmanlar arasında 20 μm çaplı kanallarla bir vasküler doku iskelesi oluşturdular [20].

3.2. Geleneksel Biyoyazdırma Yöntemleri

3.2.1. Elektrospinleme

Elektro lif çekme yöntemi olarak bilinen elektrospinleme, polimer çözeltilerinden veya eriyiklerden ince lifler üretmek için elektrostatik kuvvetler kullanarak çalışır. Elektrospinleme işlemi, sıvı yüzeyinde elektrik yükünü indüklemek için yüzey gerilimi tarafından tutulan bir sıvı polimer çözeltisine bir elektrik alanı (yüksek gerilim) uygular (Resim 3.3). Elektrostatik itmenin neden olduğu dengesiz ve hızlı çırpma, daha sonra topraklanmış bir toplayıcı tarafından toplanan lifleri uzatır. Çözelti jeti sürekli olarak uzama ve çözücü buharlaşmasından geçer, bu da sonunda rastgele yönlendirilmiş nano elyaf yapıların üretilmesine yol açar. Elektrospinleme, çapları 5 nm'den 1 μm'e kadar olan birbirine bağlı nanofiberler üretme yeteneğine sahiptir [38].



Resim 3.3. Elektrospinleme yöntemi [39]

Cilt ve kemik dokularında, hücre transferini ve dokuların içindeki besin maddelerinin taşınmasını kolaylaştırmak için yüksek hacimli birbirine bağlı gözenekler gereklidir. Fakat, konvansiyonel elektrospinlenmiş fiberli iskeleler yüzeysel bir gözenekli yapı sağlayan tamamen kapalı paketlenmiş liflerden oluşur ve bu fiber çapı mikro ölçekten nano ölçeğe düşürüldüğünde gözenekli yapılar küçülür [40]. Sisson ve arkadaşları elektrospinlenmiş fiberli iskelelerin küçük gözenek boyutlarının, gözenekli iskeledeki hücresel taşınmayı engelleyerek doku büyümesini kısıtlayacağını göstermiştir [40].

3.2.2. Kalıplama

Hassas biyomateryaller için tersine üretim, kalıplama ile yapılır. Kalıp, üretim işlemine tabi tutulur, böylece iskele, işlem ortamı tarafından etkilenmez [20].

Kalıplama yönteminin bir parçası olarak, polimer organik bir çözücü içinde (örneğin polilaktik asit için diklorometan gibi) eritilir ve çözelti, bir kalıp içine doldurulur ve gözenek oluşturucu maddeler (tuzlar, sakaroz, buz, jelatin veya parafin) ile gözenek ebadı, dağılımı ve gözenekliliği eklenir. Döküm işleminden sonra, gözenekli bir iskeleye sahip olmak üzere, çözücü süzülür veya süzülmek veya buharlaştırılmak üzere bir banyoya konur. Bu işlemin dezavantajı, iskele imalatından sonra çıkarılması kolay olmayan organik ve bozuk çözücülerinin kullanılması [11] ve iskelenin solvent içermemesi ve hücre ölümünü en aza indirmek için iskelenin tekrar tekrar yıkanmasını gerektiren sitotoksik organik çözücüler kullanılmasıdır [23].

3.2.3. Çözücü kalıplama

Solvent dökümü veya partikül filtrelemesi, sonuçlar üzerinde en az etkiye sahip olan başka bir tekniktir. Polimer çözeltisi, eşit şekilde dağıtılmış tuz parçacıkları içeren bir çözücü içinde çözülür, çözücü buharlaştırıldıktan sonra bileşik, eşit biçimde dağılmış tuz parçacıkları ile bırakılır. Matris suya batırıldıktan sonra, polimerde aynı boyutta gözenekler (500 μm'ye kadar) ve % 90 gözeneklilik bırakarak tuz parçacıkları süzülür [23].

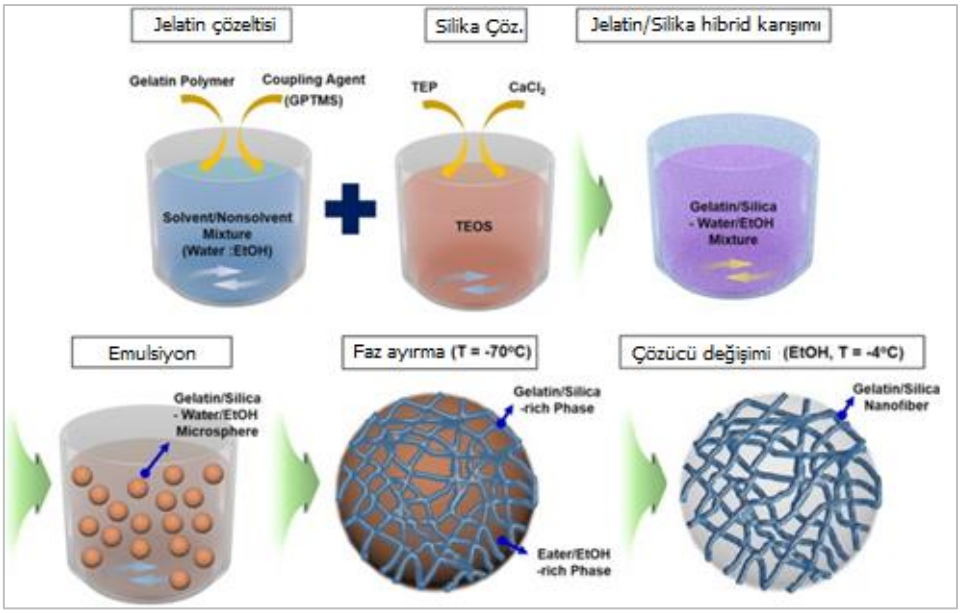
Bu tekniğin en büyük avantajlarından biri, kontrol edilebilen gözenek boyutunun ve dolayısıyla, porojen boyut ve geometrisini kontrol etmenin iskele mekanik özelliklerinin kontrolünü sağlamasıdır [23]. Bununla birlikte, tekniğin ana dezavantajı, kalıplama tekniğinde olduğu gibi sitotoksik organik çözücülerin tamamen uzaklaştırılmasını sağlamak ve hücre ölümünü en aza indirmek için tekrar tekrar yıkanması gerekmesidir [23].

3.2.4. Hücre tabaka istifleme (laminasyon)

Hücre tabaka istifleme yöntemi, çözücü dökümü ve tuz filtrelemesi ile hazırlanan yüksek gözenekli PLLA ve PLGA membranlarının laminasyonu ile uygulanır. Membranlara çözücüler emdirilir, ardından sürekli gözenek yapısına sahip üç boyutlu bir düzende istiflenir. Karaciğer rejenerasyonu için yeterli miktarda hepatosit enjeksiyonu ile in vivo damar oluşumu gösterilmiştir [34].

3.2.5. Faz ayırma

Termal olarak tetiklenen faz ayırma (Thermally Induced Phase Separation - TIPS) sürecinde, birbiri içerisinde çözünmeyen 2 çözelti karıştırılarak bir emülsiyon yaratılır (Resim 3.4). Bu süreçte parçalanabilir homojen bir polimerde faz ayrılmasını sağlamak için sıcaklık düşüşü kullanılarak iskele olarak kullanılmak üzere gözenekli membranlar oluşturulur. TIPS'de, sıcaklık ve su içeriğine göre değişen farklı yapılar 1 ila 250 μm arasında değişen farklı gözenek boyutları ile sonuçlanır. Örneğin, sıcaklık ne kadar düşük ve su içeriği ne kadar yüksek olursa, gözenek boyutu o kadar küçük olur [41].



Resim 3.4. Faz ayırma süreci [42]

3.2.6. Dondurarak kurutma (liyofilizasyon)

Dondurarak kurutma, aynı zamanda liyofilizasyon olarak da bilinir, bir polimer çözeltisinin donma noktasının altına soğutulduğu bir işlemdir, böylece çözücü moleküller katılaşır ve polimer iskelenin çatlaklarında birikir. Çözücü daha sonra süblimasyon yoluyla buharlaştırılarak, hücrelerin tohumlanmasında kullanılabilecek, birbirine bağlı gözeneklere sahip oldukça gözenekli bir polimerik yapı elde edilir [23].

3.3. Katmanlı İmalat ve Biyoyazdırma Teknolojilerinin Karşılaştırılması

Çözücü dökümü, dondurarak kurutma ve faz ayırma gibi iskele işleme tekniklerinin, hassas gözenek büyüklüğü, gözenek geometrisi, yüksek mekanik dayanım [38], iç yapı ve gözenek yapısının birbirine bağlanabilirliği [19] üzerindeki kontrolü sınırlıdır. Bu geleneksel tekniklerin diğer bi kısıtı ise hücrelerin manüel tohumlanması sürecinde yaşanan hatalardır. Damarları oluşturmak için hizalanan endotel hücreler veya mineralize kümeler oluşturan osteoblastlar gibi, dokuların ihtiyacına ve işlevine göre hücrelerin hassas bir şekilde düzenlenmesi gerektiği zaman manüel işlemler sorun olabilir [38]. Bu iskelelerdeki iç yapı ve ara bağlantısallık üzerinde kesin bir kontrol sağlamak için, iskele tasarımında ilk tasarımın ve 3D biyoyazdırma yönteminin önemini bize göstermektedir [19].

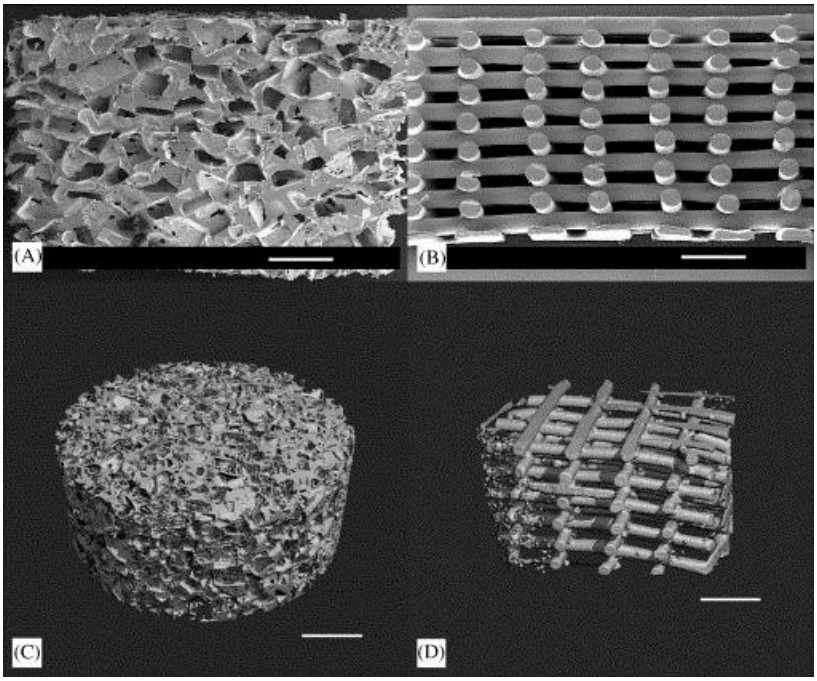
3D yazdırma, homojen hücre dağılımını sağlayan ve hücre dışı matrisi (ECM) taklit edebilen çok yönlü karmaşık iskeleleri üretmeyi mümkün kılar. Bununla birlikte, iskele yapılarının arzulanan özelliklerine ve kararlılığına sahip biyomalzemelerin mevcudiyeti, kullanılan baskı teknolojisi ile sınırlıdır [38].

Optik kullanan 3D yazdırma teknikleri en yüksek çözünürlükleri sağlayabilmektedir. En iyi optik üretim yöntemlerinin örnekleri stereolitografi, doğrudan lazer yazma ve biyolazer yazdırmadır. Seçici lazer sinterleme veya eriyik yığma modellemesi gibi termal teknikler, sıcaklığa duyarlı hücrelerle uyumlu değildir, ancak termosensitif hidrojellerin işlenmesi için uyarlanabilirler [9].

Bununla birlikte, daha önce bahsedilen iskele tasarım gereklilikleri bakımından, iskelenin biyouyumluluk, biyobozunurluk ve mekanik özellikleri malzemeye, gözeneklilik ve mekanik özellikler ise iskele mimarisinin tasarımına bağlıdır.

SLS'in sayısal modellemesinin ve iskele gözenek ağının iyi bir şekilde tasarlanabilmesine rağmen, biyomalzemelerin sınırlı kullanılabilirliği, SLS'i ekstrüzyona dayalı tekniklerden daha az uygun bir seçenek haline getirmektedir. Ekstrüzyona dayalı tekniklerle, gözenek konfigürasyonu oldukça kontrol edilebilir ve yapı iskeleleri yüksek oranda tekrar üretilebilirdir. Ek olarak, uygun biyomalzemelerin seçimi diğer eklemeli imalat tekniklerinden daha geniştir. Bu nedenle, ekstrüzyona dayalı eklemeli imalat teknolojileri, FEA tasarımıyla birleştirilecek en iyi iskele imalat platformu olarak görülmektedir [12].

Geleneksel ve 3D yazdırma teknolojilerini karşılaştırmak amacıyla, Malda ve arkadaşları PEGT / PBT kıkırdak iskelelerini incelemiştir. Biri sıkıştırma kalıplama / partikül filtreleme (CM) tekniği ile diğeri 3D elyaf biriktirme (3DF) tekniği ile üretilmiştir (Resim 3.5). 3DF iskelesi 4 x 4 mm boyutunda, ~ 200 μm fiber genişliğine, 1 mm fiber aralığına ve 525 μm gözenek boyutuna sahiptir, 0,1Hz'de dinamik sertliği test edilmiştir [43]. Sonuçlar, eklem kıkırdak kusurlarının tedavisi için 3DF baskılı kıkırdak iskelesi (Çizelge 3.1) için daha umut verici olmuştur.



Resim 3.5. CM (A) ve 3DF (B) iskelelerinin elektron mikrografileri [43]

Çizelge 3.1. PEGT / PBT iskele mimarisinin yapısal ve mekanik karakterizasyonu [43]

Numune	Ölçülen gözeneklilik hacim %		Yüzey alanı/ birim hacmi	Ort.gözenek boyutu (Bgözenek)	0.1 Hz'deki dinamik rijitlik (MPa)
	m/v (%)	μCT (mm^{-1})	μCT (mm^{-1})	μCT (μm)	
CM	75.6±1.9	81.8	55.6	182	1.72±0.33
3DF	70.2±1.8	77.6	16.5	525	4.33±0.52
Büyükbaş AC					4.10±1.57
İnsan AC (0.1 Hz)					4.50
* AC = eklem kıkırdağı					
CM = kalıplama / partikül filtreleme tekniği					
3DF = 3D elyaf biriktirme tekniği					

3.4. Malzemeler

Malzeme seçimi, sert (örn. kemik) doku iskelesi ve yumuşak (örn. karaciğer) doku iskelesine göre organ yapısının gereksinimlerine bağlıdır. Çizelge 3.2'de görüleceği üzere, organın yapısına bağlı olarak malzeme türü ve işleme metodu değişmektedir.

Çizelge 3.2. Doku mühendisliğinde kullanılan biyomalzemeler ve üretim metodlarının özeti [11]

Biyomalzeme	Uygulama formu	Uygulama metodu	Tasarlanmış doku türü
Doğal Polimerler	Hidrojel veya doku iskelesi	Çözücü kalıplama	Kartilaj (greft)
Kolajen ağları, aljinat, kitosan, fibrin ve hyaluronik asit		Elektrospinleme	Kalp kası
		Mineralizasyon	
Sentetik polimerler	Hidrojel veya doku iskelesi	Katmanlı imalat	Tendon
PGA, PLA, PLGA, PHEMA, kitosan		Çözücü kalıplama	Omurlararası disk
		Elektrospinleme	
Seramikler	Doku iskelesi, taşıyıcı, kaplama	Doğal kemikten sinterleme	Kemik için doku iskelesi veya kaplama
Kalsiyum fosfat, biyocam		Çözücü - jel süreci	Kartilaj için taşıyıcı
Metaller	Doku iskelesi	Toz metalurjisi	Kemik veya kartilaj kontağı
Tatalum, magnezyum		Kalıplama	

Doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılan biyomalzemeler, polimerler, seramikler ve metallerdir. Hidroksiapatit, biyoaktif cam veya kompozitler gibi seramikler genellikle kemik ikameleri olarak kullanılır [11]. Polimerler 2 türe ayrılır; insan ve hayvansal dokulardan elde edilen doğal polimerler ve sentetik olarak üretilen polimerler [13]. Kıkırdak dokusu genellikle kollajen ağları, aljinat, kitosan, fibrin, hiyalüronik asitler [11] gibi doğal polimerler veya poliglikolik asit (PGA), polilaktik asit (PLA), polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA), polivinil alkol (PVA), polihidroksietilmetakrilat (PHEMA) ve kitosan gibi sentetik polimerler ile desteklenir [11]. Bu nedenle doğru materyali seçmek için doğal, sentetik ve hibrid biyomalzemelerin uygulama alanları dikkate alınmalıdır.

Biyomalzemeler ayrıca, hücrelerin doğal ortamlarının dışında in vivo olarak aynılaşma (birbirine benzeme) eğiliminde olmaları nedeniyle farklılaşmayı da desteklemelidir. Hücreler biyopsilerden toplandıktan ve çoğaltıldıktan sonra, bir organ sisteminin ayrılmaz bir parçası olarak işlev görmelerine izin veren birçok biyokimyasal, fiziksel ve morfolojik özelliklerini kaybederler. Örneğin, aynılaşan kondrositler, şekillerini yuvarlak bir morfolojiden fibroblastlara değiştirirler ve olgun kıkırdakların ayrılmaz bir hücre dışı matris bileşeni olan kollajen Tip II üretme potansiyelini kaybederler [11].

Biyomedikal uygulamalarda, biyomateryal seçme kriterleri; materyal kimyası, moleküler ağırlık, çözünürlük, şekil ve yapı, hidrofilisite / hidrofobisite, kayganlık, yüzey enerjisi, su emiciliği bozulması ve erozyon mekanizmalarına dayanır [13].

3.4.1. Doğal polimerler

Doğal olarak türetilmiş malzemeler arasında aljinat, proteinler, kollajenler (jelatin), fibrinler, albümin, glüten, elastin, fibroin, hyarulonik asit, selüloz, nişasta, kitosan (kitin), skleroglukan, lordin, pektin (pektinik asit), galaktan, kurdlan, gellan, levan, emulsan, dekstran, pullulan, heparin, ipek, kondroitin 6-sülfat, polihidroksialkanatlar, vb. bulunur [6]. Bu malzemeler, normalde ECM'yi oluşturdukları veya ECM içinde bulundukları için ECM'yi daha iyi taklit ederler, bu nedenle hücre bağlanma ve çoğalmasını sentetik polimerlerden daha verimli bir şekilde arttırdıklarından avantajlıdır [38]. Ek olarak, hücresel yapışmaya izin veren doğal ligandları içerirler; dolayısıyla, hücre büyümesini ve yayılmasını desteklemek için sıklıkla ek değişiklikler gerektirmezler [23].

Diğer doğal olarak türetilmiş moleküller, kabuklu deniz canlısı kabukları, ipekböceği kozası, alg ve deniz yosunu gibi memeli olmayan kaynaklardan türetilmiş olan kitosan, ipek fibroin, aljinat ve agarozdur, in vivo ortamda iyi tolere edilebilir ve peptitler, fonksiyonel gruplar ve / veya çapraz bağlayıcılar ilave etmek için kolayca kimyasal olarak modifiye edilebilirler. Örneğin, aljinat iskeleleri, hem hücre hem de ilaç dağıtım aracı olarak kullanılabilir ve / veya hücre bağlanmasını ve hayatta kalmayı geliştirmek için Arg-GlyAsp (RGD) gibi hücre yapışma peptitlerinin dahil edilmesiyle modifiye edilebilir [15].

Kolajen, 20'den fazla genetik olarak farklı türün tanımlandığı, omurgalılarda en bol ve yaygın proteindir. Tip I kollajen, dermis, fasya ve tendonlardaki ana kollajendir. Tip II

kollajen, kıkırdakta, gelişen korneada ve gözün vitreus gövdesinde bulunur. Tip III kollajen, kan damarlarının ve bağırsak organlarının duvarlarında hakimdir ve tip I kollajen ile kopolimerize olur [44].

Kitosan, yapısal özellikleri glikozaminoglikanlara benzer doğal bir polisakarittir. Bazı spesifik amino asit sekanslarına sahip polipeptitler, hücre yapışmasını ve fonksiyonunu kolaylaştırır ve hücre bağlanması ve nakline yardımcı olur [44].

Hidrojeller genellikle karmaşık 3D hücresel mikro ortamları üretmek için tercih edilen malzemelerdir, çünkü ideal bozunabilirlik ve mekanik özellikler için ayarlanabilirler ve biyomoleküllere entegre edilebilirler. Yüksek biyouyumlulukları, immünojenik olmamaları ve yüksek su içeriğine sahip olmaları, hücrelerin kapsüllenmesine elverişli bir ortam yaratır [23]. Hidrojel olarak kullanılan malzemeler arasında kitosan, iyonik çapraz bağlı aljinatlar ve fibrin yapıştırıcısı bulunur [11]. Canlı hücreler doğrudan basılabilir ve hidrojeller ile birleştirildiğinde karmaşık 3D doku benzeri yapılar imal etmek mümkün hale gelir [6].

3.4.2. Doğal polimerlerin dezavantajları

Doğal polimerler tedarik açısından zor bulunur ve bu nedenle pahalıdır, özellikleri partiden partiye değişir ve hastalıklar veya bilinmeyen virüslerden dolayı çapraz kontaminasyona karşı hassastır [6]. Doğal polimerlerin kullanılması birçok biyolojik aktivitenin yapılmasını sağlar, ancak bu etkileşimlerin kontrolü zordur ve sıklıkla bu protein bazlı malzemelerin mekanik özellikleri yetersizdir (Çizelge 3.3'e bakınız). Bu nedenle, peptidler, proteinler veya polisakaritler gibi biyoaktif kısımlarla değiştirilen sentetik polimerler gibi biyo-hibrid materyallerin kullanılması daha yararlı olacaktır. Böylece gerekli mekanik destek karşılanabilir ve doku oluşumunu ve farklılaşmasını kontrol etmek için sinyaller sağlanabilir [45].

Çizelge 3.3. Doğal polimerler [23]

Polimer	Polimerizasyon metodu	Çözünebilir mi?	Hücre yapışmasını destekliyor mu?
Agaroz	Termal	Hayır	Hayır
Aljinat	İyonik, Ca^{2+}	Hayır	Hayır
Kolajen	Termal, pH	Enzimatik	Evet
Fibrin	Enzimatik	Enzimatik	Evet
Jelatin	Termal, pH, foto	Enzimatik	Evet
Hiyalüronik asit	Kimyasal, çapraz bağlayıcı, foto	Enzimatik	Hayır
Martijel	Termal	Enzimatik	Evet

Bajaj ve arkadaşlarının çalışması, agaroz, aljinat gibi doğal polimerlerin biyobozunur olmadığını, ancak diğer doğal polimerlerin kollajen, fibrin, jelatin, hyaluronik asit, matrigel'in bazı enzimlerle kullanıldığında biyobozunur olduğunu göstermektedir [23].

Peptitler, proteinler gibi denatürasyona maruz kalmadıkları ve proteolize (proteinlerin ana bileşenlerine, peptitlerine ve amino asitlerine parçalanması) karşı daha az duyarlı olmaları nedeniyle, proteinlere tercih edilirler [46]. Bu nedenle, doğal polimerlerin kullanılması için, biyomateryallerle birlikte hücre yapışma ligandları kullanılmalıdır. Hücre yapışkanlı ECM proteinlerinden türetilen kısa peptitler, proteinlere benzer şekilde sağlam, biyospesifik hücre yapışmasına aracılık eder [45].

3.4.3. Sentetik polimerler

Sentetik polimerik biyomalzemeler kolayca kontrol edilen fizikokimyasal özellikler ve kalite, ayarlanabilir ağırlık, şekle ve yapıya sahiptir; büyük miktarlarda temin edilebilir, çeşitli tekniklerle işlenebilir ve immünojenikliği bulunmamaktadır [6]. Hidrojel oluşturabilen birçok sentetik polimer, boş-levha materyaller olarak işlev görecek şekilde geliştirilmiştir, böylece basit kimyasal değişiklikler ile biyokimyası ve mekaniği özelleştirilebilir [23].

Biyolojik olarak parçalanamayan bazı polimerler arasında polivinilalkol (PVA), polihidroksietilmetakrilat (PHEMA) ve poli (N-izopropilakrilamid) (PNIPAAm) bulunur. Bazı sentetik biyolojik olarak parçalanabilen polimerler, poliglikol (PGA), polilaktit (PLA)

ve kopolimer poli (laktid-ko-glikolit) (PLGA), polifosfazen, polianhidrit, poli (propilen fumarat). polisiyanoakrilat (PCA), poli (ε-kaprolakton) (PCL), polidioksanon (PDO) ve biyolojik olarak parçalanabilir poliüretanlar gibi poli (α-hidroksi esterleri) familyasıdır [6].

Her ne kadar doğal malzemeler hücresel işlemler için daha faydalı olsa da, iskele için kullanılan poli (e-kaprolakton) (PCL) ve poli (D, L-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) gibi sentetik polimerler daha yüksek mekanik dayanımlar vermiş, daha yüksek işlenebilirlik ve kontrol edilebilir bozulma oranları sağlamıştır [38].

Çözünür bir polimeri su içerisinde karıştırıp çapraz bağlama maddesi ilave etmek suretiyle hidrojelin 3D stabilitesine ulaşılabilir. Çok yüklü fiberler arasındaki çapraz bağların yoğunluğu hidrojel sertliğini ve geçirgenliği belirler. Bu hidrofilik polimer ağları, çapraz bağlanmış yapıları nedeniyle polimer çözünmeden büyük miktarlarda su alabilir [11]. Hidrojel polimerlerin yüksek su içeriği ve elastisitesi, doku benzeri özellikler sağlar ve kondrositleri (kıkırdak hücresi) oldukça gözenekli bir sulu jel matrisinde süspanse ederek farklılaşma fonksiyonlarını koruyabilir ve büyük miktarlarda hücre dışı matris makromoleküllerini üretebilirler [11].

3.4.4. Sentetik polimerlerin dezavantajları

Doğal olarak elde edilen polimerler ile karşılaştırıldığında, sentetik polimer yapı iskeleleri doku rejenerasyonunu arttırmada nispeten düşük biyolojik aktiviteye sahiptir. Ek olarak, polyester gibi sentetik polimerlerin hidrofobikliği, düşük hücre yapışmasına ve sonuçta da standart olmayan doku oluşumuna yol açan suboptimal çoğalma ve farklılaşmaya neden olur [38]. Sentetik biyopolimerleri çözmek için hücreler üzerinde zararlı etkileri olabilecek organik çözücülere ihtiyaç duyulmaktadır [47].

Bajaj ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmaya göre, PEG-diakrilat (PEGDA), PEG-dimetakrilat (PEGDMA), Poli (akrilamid) (PAm), Poli (N-izopropil akrilamid) (PNIPAAm) ve Poli (2-hidroksietil metakrilat) (PHEMA) gibi sentetik polimerler bozunmaz, ancak sentetik polimerler MultiarmPEG (maPEG) türevleri (maPEG akrilat, maPEGtiol, maPEG azid, maPEG tetraDIFO3) MMP'ye duyarlı peptit çapraz bağlayıcı ile enzimatiktir. Bununla birlikte bu polimerlerin hiçbiri hücre yapışmasını desteklememektedir [23]. Hastalardan elde edilen gelişmiş sonuçlara rağmen, sentetik malzemeler, öngörülemeyen sonuçlar, fibröz

kapsül kasılması, alerjik reaksiyonlar, düşük mekanik özellikler, bozulma, ve uzun süreli soğurma gibi ciddi sorunlara neden olmaktadır [6].

ECM'nin biyomimikliğini sağlamak için, iskele yapılarının biyolojik olarak aktif olması, yüksek mekanik güce sahip olmaları, yapılandırılabilir olmaları ve çözünmeyi yönlendirebilmeleri gerekmektedir. Bu karmaşık iskeleleri oluşturmak için, hem sentetik hem de doğal polimerleri içeren hibrit sistemler kullanılmıştır [38].

3.4.5. Metaller

İskelelerin 3D yazdırılmasında kullanılan metaller arasında demir, kobalt, krom, paslanmaz çelik ve titanyum alaşımı bulunur. Metaller kemiğinkine benzer yüksek mekanik mukavemete sahip malzemelerdir, bu nedenle genellikle kemik dokusu rejenerasyonunda uygulanırlar [38]. Magnezyum iskeleleri veya taşıyıcıları kemikle temas eden uygulamalar için de kullanılır [11].

3.4.6. Metallerin dezavantajları

Yüksek mekanik stabilitelerinin aksine, in vivo olarak kullanılması güvenli olmasına rağmen metaller sınırlı bir ölçüde kullanılır. Bugüne kadar, 2D iskeleleri tasarlamak için metallerin birçoğu kullanılmış, ancak 3D biyomedikal implantları yazdırmada, paslanmaz çelik, kobalt-krom alaşımları, titanyum ve alaşımları, nitinol gibi az sayıda metal kullanılmıştır [38].

Metalleri kullanmak için mevcut 3D yazdırma teknolojileri, metallerin yavaş bozunma problemi ve metal korozyonu sonucu olası toksisite metal biyomateryalleri kullanmayı sınırlandırır [38]. Tıbbi uygulamalar için kullanılan biyobozunur metaller de vardır, in vivo ortamda kademeli olarak bozunurlar ve doku iyileştiğinde implanta dair hiçbir kalıntı bırakmazlar [38].

3.4.7. Seramikler

Doku mühendisliği için kullanılan biyoseramikler, alümina, zirkonya, silisyum nitrür ve karbonlar gibi emilemez (nispeten inert); yoğun hidroksiapatitler gibi biyoaktif veya yüzey

aktif (yarı inert) bazı cam seramikler; ve kalsiyum fosfatlar, alüminyum kalsiyum fosfatlar, koralin, trikalsiyum fosfatlar, çinko kalsiyum fosfor oksitler, çinko sülfat kalsiyum fosfatlar, ferrik kalsiyum fosfor oksitler ve kalsiyum alüminatlar gibi biyoçözünür veya yeniden emilebilir (inert olmayan) olabilir [6].

Seramikler hem metalik hem de metalik olmayan elementler içerir ve yüksek mekanik mukavemeti ve biyouyumlulukları nedeniyle doku iskelelerini 3D yazdırmak için malzeme olarak kullanılmıştır [38]. Sentetik apatit ve kalsiyum fosfat mineralleri, mercan türevi apatit, biyoaktif cam ve demineralize kemik partikülü sert doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Seramiklerin bileşenleri kalsiyum, silika, fosfor, magnezyum, potasyum ve sodyumdur [6]. Seramikler, apatit mineralizasyon kabiliyetlerinden dolayı kemik rejenerasyonu için iskele imalatı yapabilmektedir [38]. Hidroksiapatit (HA) genellikle insan dişlerinde ve kemiklerinde bulunur, bu nedenle HA ve benzer seramikler, doğal kemiğe benzer güçlü mekanik özelliklere sahip taşıyıcı veya iskele malzemeleridir [38]. Biyoaktif cam veya kompozitler, kemik ikameleri olarak başka bir örnektir [11].

3.4.8. Seramiklerin dezavantajları

Seramik iskeleler kırılgan ve zayıftır ve kristal fazda yavaş biyolojik parçalanma oranlarına sahiptir. İnert biyoaktif seramikler, çözünme ve mevcut doku ile bağ oluşturma özelliklerine sahip değildir [48]. Biyoaktif seramikler aynı zamanda düşük uygunluk ve güvenilirliktedir; ve kemik için yeni oluşturulan gözenekli seramik iskele yük taşıyan kemikler için gerekli mekanik yüklemeyi sürdürmede yetersiz bulunmuştur [49].

4. DOKU İSKELESİ TASARIM GEREKSİNİMLERİ

4.1. Biyouyumluluk

Doku iskelesi tasarımı için birincil gereksinim, hücre yapışmasını, hücre çoğalmasını, hücrelerin taşınmasını ve işleyişini desteklemesi sebebiyle biyolojik uyumluluktur [50]. Dokunun büyümesi ve beslenmesinden sorumlu memeli hücre tiplerinin çoğu bağlanmaya bağımlı olduğu için, yapışma substratı sağlanmadığı takdirde ölecekleri anlamına gelir [6]. Hücre yapışması ıslanabilirlik ve şarj yoğunluğu gibi yüzey özelliklerine bağlıdır; ve hücre çoğalması, yüzey veya toplu modifikasyonda gerçekleştirilebilir [50]. Örneğin, ince film biriktirmesi aracılığıyla yüzey işlevselliğini değiştirerek, optimum yüzey, kimyasal ve fiziksel özellikler elde edilebilir. Biyomoleküllerin yüzey modifikasyonları ve eylemsizleştirilmeleri, polimerik iskelenin biyouyumluluğunu geliştirmek için gerçekleştirilir; böylece, hücreler iskeleyi spesifik olarak tanıyabilir [13].

Hücre yapışmasını ve büyümesini etkileyen polimerik biyomalzemelerin fiziksel ve kimyasal yüzey modifikasyon yöntemleri, oksitlenmiş polistiren yüzey, amonyak plazma ile işlem görmüş yüzey ve plazma ile çökeltilmiş aseton ile sağlanmıştır [13]. Hücre basılı yapıların çoğalma kabiliyeti mitokondriyal metabolik (MTT) aktivite deneyi kullanılarak analiz edilir [6].

4.2. Biyoçözünürlük

İskelenin biyoçözünürlüğü, cerrahi çıkarmaya gerek kalmadan destek yapısının ortadan kalkması anlamına gelir [50]. Biyoçözünür ürün, çözünen bileşenlerin toksik olmayan ürünlere dönüşmesini sağlarken, sadece istenen canlı dokuların kalmasını sağlar [38]. Biyomateryal, yapı dokusunun yeniden inşası sırasında, aynı zaman aralığında bozulmalıdır; böylece çözünen biyomalzeme doku yenilenmesini ve yeniden yapılanma sürecini etkilememelidir [11].

Polimer bozunması 2 mekanizma ile gerçekleştirilir: (a) kimyasal olarak; polimer zincirinin hidroliz gibi kimyasal reaksiyonlarla parçalanmasıyla veya (b) enzimatik reaksiyonlarla;

kültürdeki hücreler tarafından salgılanan enzimlerin, biyolojik polimerler içinde belirli bölgeleri tanıdığı ve ayırdığı enzimatik reaksiyonlarla gerçekleştirilir [23].

Çözülme sonucu meydana gelen kilo kaybı ve moleküler ağırlıktaki değişiklikler, kimyasal denge, taramalı elektron mikroskobu ve jel geçirgenlik kromatografisi ile değerlendirilebilir. Maddelerin bu özelliklerine göre, biyolojik bozulma mekanizması belirlenebilir [6].

4.3. Gözeneklilik

Hücre tohumlaması, vaskülarizasyon (damarlanma), büyüme faktörlerinin ve besinlerin iskele, ECM ve çevresindeki dokulara difüzyonunu sağlamak için iskeleler içinde birbirine bağlı hücreler gereklidir [50]. Bütünlük, besin ve büyüme faktörü arzı ve hücresel istila dengesi, iskele içindeki gözenek büyüklüğü, gözeneklilik ve gözenek yönü ile düzenlenir [11]. Hücrelerin iskele yüzey alanına etkin bir şekilde bağlanmasını sağlamak için gözeneklerin yeterince küçük olması gerekir [50]. Büyük gözenek boyutları çentik etkisi yaratır ve mekanik yüklere karşı düşük sürdürülebilirliğe sahiptir [11].

Hedeflenen doku tipi iskelenin gerekli gözenek özelliklerini belirler. Vital yumuşak doku ve kardiyak dokuların sentezi için yaklaşık 40 - 100 μm gözenek çapı, kemik doku gözenek çapı yaklaşık 200 - 400 μm, cilt dokuları için optimal boyut aralığı 100–200 μm [47] ve vaskülerize doku için, en az 450 μm çaplı gözenekler gereklidir [11]. Materyaller de difüzyon özelliklerine sahiptir; fibrin yapı iskeleleri besin maddelerinin gözeneklerden akışına ve materyalin kendi içinden yayılmasına izin verir, oysa kalsiyum fosfat yapı iskelesi sadece gözeneklerden besin akışına izin verir [11].

Zein ve meslektaşları tarafından yapılan bir çalışmada, iskele gözenekliliği Polikaprolakton (PCL) fiberlerinin birbirine uzaklığı ve oryantasyonu ile katman kalınlığı değiştirilerek kontrol edilmiştir. 260 ila 370 μm çapında, 160 ila 700 μm mesafede fiberlerden, sıvı sıcaklığı ve silindir hızını kontrol ederek % 48 ila 77 gözeneklilik elde edilmiştir [19].

Sun ve arkadaşları, 80 mm x 80 mm x 80 mm küpte yaklaşık % 70 gözeneklilik ve 700 Gm x 700 Gm kanallı bir iskele tasarlamışlardır. 0.5 mm'lik (en küçük damar), 1.5 mm'lik (küçük damar), 4.5 mm'lik (orta damar) ve 13.5 mm'lik (büyük damar) ebatlar, atardamar - arteriyol (küçük atar damar) – kılcal damar – venül (ince damar) - damar desenine benzer olarak

kullanılmıştır [51]. Sonuçlar, 250 μm veya daha yüksek boyutta tasarlanmış gözenek boyutunun, küçük gözenek boyutlarına kıyasla kan damarlarının büyümesini daha daha fazla desteklediğini göstermektedir [5].

Gözeneklilik, toplam boşluk hacminin yüzdesi olarak tanımlanır. Gözenekliliğin ölçülmesinde kullanılan yöntemler, civa porozimetresi, taramalı elektron mikroskobu ve konfokal lazer mikroskopisidir [6].

4.4. Mekanik Özellikler

Malzemelerin mekanik özellikleri, kullanılan biyomekanik faktörlere zarar vermeden hücreleri basınç veya çekme kuvvetlerine karşı korumalıdır [50]. Hücreler çoğaldıkça ve farklılaştıkça, hücrelerden, günlük aktivitelerden ve normal vücut hareketlerinden kaynaklanan kuvvetlere iskelenin dayanabilmesi gerekir [38]. Aksi halde yetersiz oksijen, besin maddeleri ve atık dağıtım süreçlerinin tehlikeye girmesi verimsiz doku oluşumuna neden olur [38].

Doku iskelesi tasarımında farklı iç mimari desenleri kullanılmıştır. Örneğin tekstil fiber desenlerinin dokuma ve örme geometrik özellikleri iskele mimarisi veya yumuşak dokularda kas deseni olarak kullanılabilir [51].

Yüksek gözeneklilik iskelelerde mekanik özelliklerin çok düşük olmasına yol açar. Mekanik özelliği arttırmak için gözeneklilik azaldığında ara bağlantı kaybedilir. Daha düşük gözeneklilik seviyesinde üç boyutlu olarak bağlanabilirliği sağlamak, yük taşıma iskelelerinin gereksinimlerini karşılamak için potansiyel bir stratejidir [19].

O'Brien araştırmasında, hücrelerin tutturulduğu substratın mekanik özelliklerinin, hücresel mekanotransdüksiyonun (mekanik kuvvetlerin biyolojik sinyallere dönüştürülmesi) ve sonraki hücresel davranışın düzenlenmesi için kritik olduğunu özetlemiştir. Bu mekanik özelliklerin hücrelerdeki gelişim, farklılaşma, hastalık ve rejenerasyon açısından önemli etkileri vardır. Örneğin, MSC'ler (mezenkimal kök hücreler), kasın elastisitesini taklit eden sert jeller üzerinde büyütüldüğünde, myojenik (kas oluşturucu) soydan farklılaşma gözlenmiş; önceden kalsifiye edilmiş kemiği taklit eden sert jeller üzerinde MSC'ler büyütüldüğü zaman, hücreler osteojenik yola doğru farklılaşmıştır. Benzer şekilde, nöral kök

hücreler ile yumuşak iskele üzerinde, nöron farklılaşması normal beyin dokusunu taklit etmekte, daha sert matrislerde ise nöron-destekleyici gliyal hücrelere farklılaşmayı teşvik etmektedir. Ek olarak, kardiyomiyositlerin (kalp kası hücrelerinin) en iyi kalp benzeri elastisiteli bir substratta attığı gösterilirken, daha sert substratlarda hücrelerin kendilerini gerdiğini ve atmayı durdurduğu gösterilmiştir. Bu nedenle araştırmalar, etkileşime girdikleri hücrelerin davranışını yönlendirmek için kullanılabilecek spesifik mekanik özelliklere sahip iskeleler ve biyomalzemeler geliştirmek için, hücrelerin mekanosensatif (mekanik duyarlılık) kapasitelerini kullanmaya odaklanmıştır [14].

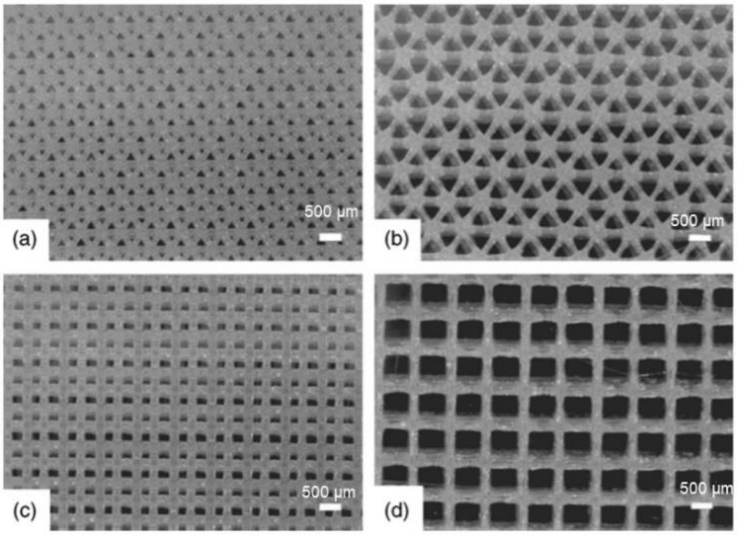
Malzemenin mekanik özelliklerinin gücünü anlamak için sürünme testleri, gerilme-gevşeme testleri, gerilme-gerinme testleri ve dinamik mekanik testler gibi mekanik testler [6] elastisite modülü, bükülme modülü, çekme dayanımı ve maksimum gerinime göre malzeme [13] biyolojik stabilitesini ölçmek amacıyla yapılır.

Polimerik nanolifler bu açıdan oldukça avantajlıdır. Gerilme modülü, gerilme mukavemeti ve kayma modülü gibi benzersiz mekanik özellikler göstermişlerdir. Bu parametreler daha elyafın çapındaki azalma ile artmaktadır [50].

4.5. Bileşenlerin Yerleşimi

Belirli dokular için bileşenin yapı iskelesindeki oryantasyonu, iskele mimarisinde önemlidir. Örneğin, tendon oluşumunda hizalanmış lifli yapı kullanılırken ve kornea üretimi için ortogonal lifli yapı kullanılır [52]. Kök hücre farklılaşmasını en iyi şekilde desteklemek için, iskele sertliğinin iskelet dokusunun in vivo sertliğine uyması gerektiği açıklanmıştır. Bir iskelenin; olgunlaşmış dokunun sertliğine nazaran daha düşük olan gelişmekte olan iskelet dokusunun sertliğini göstermesi gerektiğini vurgulamak önemlidir. İskelenin etrafındaki konakçı dokulardan hücrelerle istila edilmesini teşvik etmek için daha sert bir iskele daha uygun olabilir [53].

Liflerin iskeledeki düzeninin mekanik dayanım açısından önemli olduğu bulunmuştur. 0/60/120°'lik bir döşeme deseninden yapılan iskeleler salin (tuzlu çözelti) içinde test edildiğinde, sıkıştırma sertliği 29.4 ve % 1 akma dayanımının 2.3 MPa olarak; $0/72/144/36/108^0$ 'lik bir döşeme deseniyle basılan iskelelerinkinden daha yüksek olduğu bulunmuştur (Resim 4.1) [19].



Resim 4.1. PCL iskelelerin döşeme desenleri ve gözeneklilik seviyeleri. (a) ve (b) 0/60/120º döşeme deseni, (c) ve (d): 0/90º döşeme deseni. Gözeneklilik seviyeleri: (a) %-68, (b) %-80, (c) %-50, (d) %-75 [19]

Zein ve arkadaşları tarafından yürütülen başka bir araştırmada, $0/90^0$ döşeme düzenine sahip PCL iskelesinin, katmanlar düzleminde ölçüldüğünde 3.32 MPa ve yapı düzlemi normaline göre ölçüldüğünde 2.58 MPa'lık basınç akma dayanımı sınırına sahip olduğunu göstermiştir [19].

4.6. Biyofiziksel ve Biyokimyasal Faktörler / Büyüme Faktörleri

Biyofiziksel ve biyokimyasal faktörler, yaralanan bir bölgede vücut tarafından üretilen doğal büyüme faktörlerini taklit ederek vücutta doku veya organın büyümesine yardımcı olur. Büyüme faktörleri, protein, büyüme faktörleri ve reseptörlerin sentezini düzenleyerek hücre yapışmasını, çoğalmasını, taşınmasını ve farklılaşmasını teşvik eder ve / veya önler [6]. Büyüme faktörleri, iskelenin imalatı sırasında veya sonrasında doğrudan iskeleye dahil edilebilir [54].

Büyüme faktörlerinin teslimi için en kolay yöntem, hücre farklılaşması ve çoğalması bölgesine enjeksiyon yoluyladır. Ancak büyüme faktörleri kısa biyolojik ömürlere sahiptir, bu nedenle bu yöntem büyüme faktörlerinin kısa ömürlü olmasına, daha yüksek molekül ağırlığına ve boyutuna, düşük doku penetrasyonuna ve sistemik düzeyde potansiyel toksisiteye neden olur [6]. Örneğin, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (platelet-derived

growth factor - PDGF), damardan enjekte edildiğinde 2 dakikadan daha az bir ömre sahiptir [34].

Biyoçözünür bir sistemde, doku rejenerasyonunu tetiklemek için, büyüme faktörünün iskele çözüldükçe salınması gerekir. Büyüme faktörü, gözenek boyutu ayarlı difüzyon kontrollü bir mekanizma veya bir erozyon mekanizması veya her ikisinin kombinasyonu yoluyla serbest bırakılır [34]. Alternatif olarak, mikropartiküller, nanopartiküller veya fiberler şeklindeki büyüme faktörü dağıtım aracı, iskeleye dahil edilebilir [34].

5. DOKU İSKELESİ TASARIMI

Yazdırılacak bir doku için en iyi iskele, hedeflenen dokunun doğal ortamdaki ECM özellikleri olmalıdır [55]. Eisenbarth, olgun dokunun özelliklerini tamamen sentezlenmiş iskelelere tahsis etmek yerine, doku iyileşmesi ve yeniden şekillenme sırasında dokuları taklit edebilen bir mikro ortamın hedeflenmesi gerektiğini ileri sürmektedir. Biyomalzemeler, nihai doku formunu tam olarak oluşturmak yerine karmaşık hücre-hücre ve hücre-matris etkileşimlerini desteklemelidir [11]. Bu nedenle, doku mühendisliğinde iskele tasarlamadaki temel amaç, doğal ECM'nin doku iyileşmesi ve yeniden şekillenmesi sırasındaki işlevlerini kısmen de olsa taklit etmektir [55].

5.1. Tasarım Kriterleri

Osteokondral (kemik-kıkırdak bölgesi) organ değişimi için doku iskelesi tasarımı yapısal tasarımına göre sınıflandırılır. Osteokondral dokunun yenilenmesinde başarılı olmak için, iskelenin kısmen kıkırdak rejenerasyonuna, kısmense kemik rejenerasyonuna tahsis edilmesi gerekir. Bu nedenle, osteokondral yapılar için iskeleler, iskele mimarisi, biyomateryal veya bileşimine göre, tek (mono), iki (bi-) veya çok fazlı olarak sınıflandırılır. Tek fazlı bir iskele tasarımında, bütün yapı homojen dağılımlı bir yapıya sahiptir ve kıkırdak ile kemik bölgesi arasında hiçbir ayrım yapılmamaktadır. İki fazlı bir iskele, özellikle kemik ve kıkırdak için iki mimariye, iki farklı biyomalzeme veya iki tür gözenekliliğe sahip olabilir. Çok fazlı bir iskele, osteokondral bir yapı elde etmek için ikiden fazla farklı mimariye, biyomalzeme veya gözenekliliğe sahiptir. İki fazlı bir iskele elde etmenin en yaygın ve kolay yöntemi, kıkırdak rejenerasyonu (hidrojel) için bir iskeleyi, kemik rejenerasyonu için (polimer veya seramik) bir iskele ile birleştirmektir. Çok fazlı iskele tasarımını üretmenin bir başka yöntemi, kıkırdak ve kemik yenilenmesi için tahsis edilmiş gradyanlar veya gözeneklere sahip heterojen yapıya sahip iskelelerdir. Literatürde bulunan konuyla ilgili çalışmalar, çeşitli fiziksel, kimyasal, mekanik ve biyolojik özelliklerin göz önünde bulundurulması gereken osteokondral doku rejenerasyonu için fonksiyonel bir iskele tasarlamanın ne kadar zor olduğunu göstermektedir. Çoklu dokuların hedeflendiği bu karmaşık doku mühendisliği alanında, FEA ve 3D katmanlı imalat teknolojileri, doku iskelelerinin tasarımını optimize etmede çok yardımcı olabilir [12].

Kıkırdak dokusu, yüzeysel, orta, derin ve kalsifik kıkırdak bölgeleri olmak üzere dört ayrı bölgeye ayrılabilir. Her bölge, farklı oranlara ve oryantasyona sahip hücre ve hücre dışı matris (ECM) molekül bileşimi ile tanımlanır. Farklı orandaki her ECM bileşeni, bölgenin mekanik özelliklerini önemli ölçüde etkiler. Örneğin, dokunun rijitliğindeki belirgin farklılıkları gösterecek şekilde, basma modülü; yüzeysel bölgede 0.079 MPa, orta bölgede 2.1 MPa ve derin bölgede 320 MPa'dır. Subkondral (kıkırdağın altı) kemik dokusunun basma modülü ise 5.7 GPa değeriyle kıkırdaktan daha yüksektir. Kemik ve kıkırdakların farklı bileşimleri ve mekanik özellikleri, bu doku ara yüzünün karmaşıklığını gösterir ve doku mühendisliği iskelelerinin tasarımını ve üretimini zorlaştırır [56].

Tendon dokusunun uygulanan bir kuvvete yanıt olarak verdiği mekanik davranışı aşağıdaki Çizelge 5.1'de verilmiştir. Bu tabloya göre, vücudun farklı bölgelerinde farklı işlevlere sahip olan tendonlar farklı mekanik özellikler göstermektedir. Üstelik bu araştırmalarda elde edilen sonuçlar, testin yapıldığı canlı içi ya da canlı dışı ortamda ölçüm yapılmasına göre farklılık göstermektedir. Örneğin, ayak bileği arkasında bulunan aşil (achilles) tendonu, canlı içi ortamda 2000 MPa elastisite modülüne sahipken, canlı dışı ortamda 822 MPa elastisite modülü değeri göstermiştir.

Çizelge 5.1. İnsan tendonunun mekanik özellikleri [57]

tendon adı	tendon yeri	kopma gerilimi (MPa)	kopma gerinimi (%)	basma yükü (N)	elastisite modülü (MPa)	rijitlik (N/mm)
ex vivo (canlı dışı ortamda yapılan ölçümler)						
Achilles	ayak bileği arkası	86 ±24	9.9 ±1.9	5579 ±1143	822 ±211	-
Gracillis	bacak iç kısmı	111.5 ±4.0	26.7 ±1.4	847.4*	612.8 ±40.6	-
Semitendinosus	diz arkası	88.5 ±5.0	33.2 ±1.8	1239*	362.2 ±21.6	-
Quadriceps	diz üstü	38.0 ±5.0	11.2 ±2.2	2344.6*	462.8 ±68.5	-
FDP	parmak	-	-	213 ±12	-	2385 ±325
in vivo (canlı içi ortamda yapılan ölçümler)						
Achilles	ayak bileği arkası	-	-	-	2000 (SD±0.4)	2622 (SD±534)
Patellar	diz kapağı	-	-	-	1000 ±100	2924 ±215
Gastrocnemius	diz arkası	-	-	-	1160 ±150	150 ±28

Bu çalışmada osteokondral doku ve tendon dokusu gibi farklık mekanik özellikleri ve karmaşık tasarım gereksinimleri olan organların yazılmasını kolaylaştırabilmek amacıyla, doku iskelesi tasarlarken katmanlar seviyesinde farklı mekanik özelliklerin yansıtılabilmesi amaçlanmıştır.

5.2. Analiz için Malzeme Seçimi

Tez kapsamında birçok organın mekaniksel özelliklerine cevap verebilecek bir doku iskelesi tasarımı araştırıldığı için, sadece sert iskeleler yapılmasını sağlayan metal ve seramik malzemeler analiz için tercih edilmemiştir. Canlılardan elde edilen doğal polimerlerin farklı mekanik özelliklere sahip olabilmesi için polimerlerle ya da enzimlerle karıştırılması gerekmektedir. Tez kapsamındaki analizler tasarım programı ile yapıldığı için bu karışımların mekanik özelliklerinin bilinmemesi sonuçların doğruluğunu yanıltacaktır. Bu nedenle, mekanik özellikleri bilinen, kıkırdak, tendon, kemik gibi değişik organlara uyumlu poli (L-laktik asit) (PLLA) malzemesi analiz için kullanılmak üzere seçilmiştir.

Seçilen bu polimerik malzeme ile üretilen doku iskeleleri, biyouyumluluğu, çok yönlü kimyaya sahip olması ve doku mühendisliğindeki biyolojik özellikleri bakımından önemli olan yüksek yüzey / hacim oranı, yüksek gözeneklilik, biyolojik bozunma ve mekanik özellikler gibi benzersiz avantajlara sahiptir [13].

Sahoo tarafından yapılan araştırmada, hücre bağlanması ve çoğalması açısından, PLGA veya PLLA elyafı üzerine kolajen kaplama yapılması uygun bulunmuştur. Bununla birlikte, mekanik özellikler ve bozunma oranları açısından, örme PLLA iskeleleri poli (laktid-ko-glikolid) (PLGA) iskelelerinden daha iyi bir profil sergilemiştir [58].

Miller ve meslektaşları, PLLA'nın yaklaşık 2.7 GPa dayanıma ve 24 ayın üzerinde bozulma süresine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Polyesterler arasındaki karşılaştırmalar, örgülü PGA'nın en güçlü iskele olduğunu ve ardından PLLA ve PLGA olduğunu göstermiştir [59]. Gerilme dayanımı özellikleri ve kopma değerlerinde uzama Çizelge 5.2'de görülebilir.

Çizelge 5.2. Polymerlerin özellikleri [60]

Polymer	Molecular Formula	Yoğunluk (g/cm3)	Erime Noktası	Çekme Elastisite Modülü (GPa)	Çekme Dayanımı (MPa)	Kopma Uzaması (%)	Çözünme Zamanı (ay)
PGA	$(C_2H_2O_2)_n$	1.5	225°C–230°C	6.5–7.0	90–110	1–2	6–12
PCL	$(C_6H_{10}O_2)_n$	1.2	60°C	0.2–0.3	25–35	>300	>24
PLC	$((C_3H_4O_2)$–$(C_6H_{10}O_2))_n$	1.25	110°C–120°C	0.02-0.04	18–22	>100	12–24
PLLA	$(C_3H_4O_2)_n$	1.3	150°C–160°C	3.1–3.7	60–70	2–6	>24
PDLGA	$((C_3H_4O_2)$–$(C_2H_2O_2))_n$	1.4	Amorphous	3.4–3.8	40–50	1–4	1–2
PU	$((C_{16}H_{14}O_3)_x$–$(C_{15}H_{14}O_2))_n$	1.2	180°C	0.03	45–50	>500	Biostable

Analiz çalışmasında Çizelge 5.2 ve Çizelge 5.3'ten yola çıkarak PLLA'nın Çizelge 5.4'deki malzeme özellikleri kullanılmıştır:

Çizelge 5.3. Saf PLLA ve PLLA polimer karışımlarının çekme özellikleri [61]

Karışım Oranı	PLLA / Ek Polimer	Çekme Dayanımı (MPa)	Elastisite Modülü (GPa)	Kopma Uzaması (%)
100/0	Pure PLLA	56.61	2.59	3.38
98/2	PLLA/synthetic rubber	52.53	2.42	3.14
	PLLA/waste rubber	36.85	2.50	1.78
	PLLA/ABS	52.58	2.81	2.84
	PLLA/PLA microsphere	54.38	2.48	3.40

Çizelge 5.4. Analizde kullanılan PLLA malzeme özellikleri

Yoğunluk	:	1,3 g/cm3
Erime noktası	:	150ºC
Elastisite Modülü	:	3,4 GPa
Çekme Dayanımı	:	60 MPa
Poisson Oranı	:	0,3
Kırılmadaki uzama %	:	% 3,30
Çözünme zamanı	:	25 ay

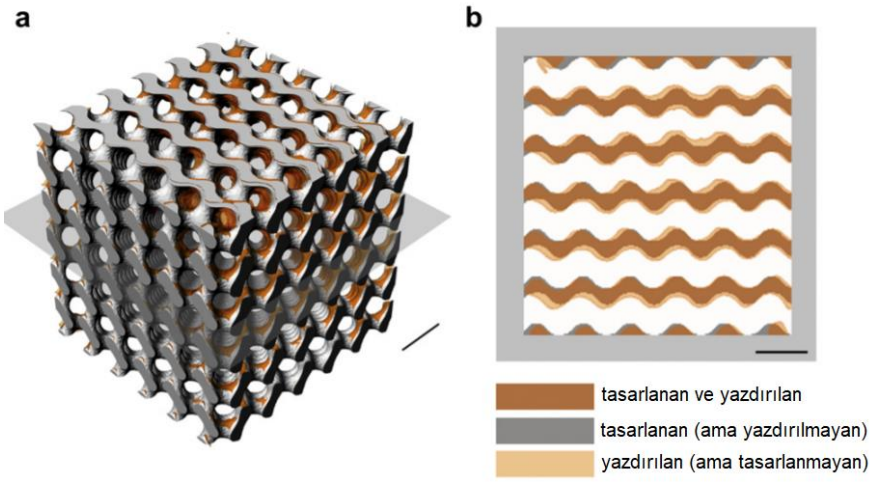
5.2.1. PLLA ile yapılan önceki çalışmalar

Inui ve arkadaşları, tendon rejenerasyonunda kullanılmak üzere, pürüzsüz bir yüzeye sahip düz dokuma bir PLLA kumaşı ile bir yanı pürüzsüz bir yanı pürüzlü bir yüzeye sahip çift katmanlı bir PLLA kumaşını karşılaştırmıştır. Kumaşa beş saniye süreyle 0,5 N statik ön yük, ardından 10 kez 20 mm/dakika hızında % 0,5 gerginlikte yükleme işlemi uygulanmıştır. [62]. Düzgün PLLA kumaşın nihai kopma yükü 24,3 ± 0,9 N, pürüzsüz / pürüzlü kumaşın yükü 76,6 ± 3,5 N bulunmuştur. Pürüzsüz kumaşın enerjisi 0.28 ± 0.02 J , ve pürüzsüz / pürüzlü kumaş 0.83 ± 0.12 J bulunmuştur [62].

Sahoo tarafından çalışılan başka bir örnekte; PLLA'dan imal edilen 20 mm x 40 mm ebatlı örme iskeleler (3 iplik; 30 filament / iplik; filament çapı: 12-15 µm) 68.4 ± 5.37 N'de kopma yüküne ulaşmış ve elastik bölge rijitliği (N mm-1) 9.1 ± 2.38 olarak bulunmuştur [58].

5.3. Önceki Tasarım Çalışmaları

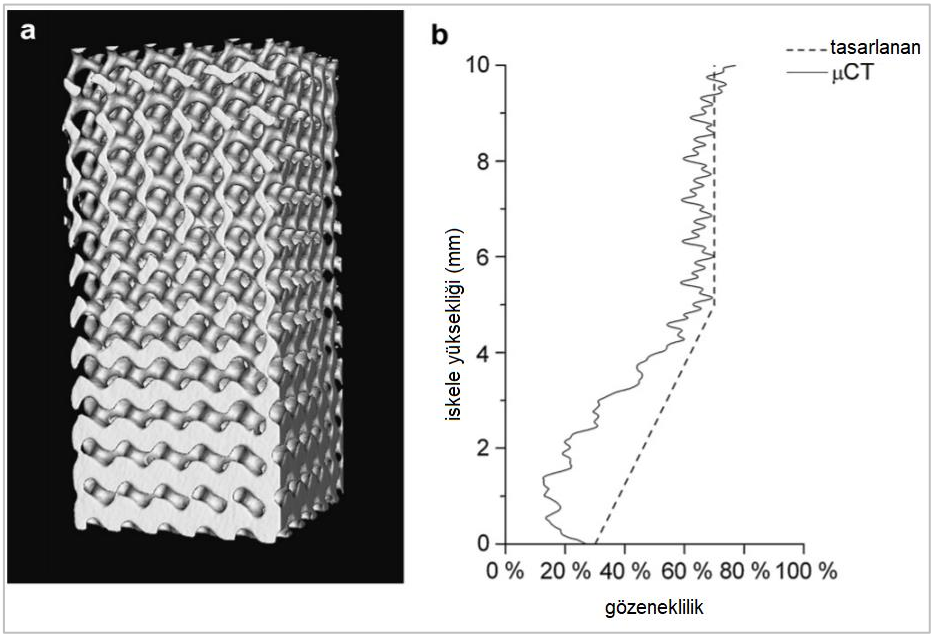
Melchels ve meslektaşları yazılım programı kullanarak 3D iskeleler tasarlamış, iskeleleri PDLLA (Poli (D, L) - laktit) malzemesi ile SLA makinesinde yazdırdıktan sonra µCT (micro computer tomography – mikro bilgisayarlı tomografi) yöntemiyle tasarlanan ve yazdırılan iskeleleri karşılaştırmıştır [63]. Şekil 5.1'de görüleceği üzere, µCT görüntüler tasarlanan iskele mimarileri ile tamamen örtüştüğü gösterilmiştir.



Şekil 5.1. CAD ile tasarlanmış (gri) ve µCT ile taranmış yazdırılmış gyroid şekli a) tasarlanan ve yazdırılan modelin üstüste bindirilmiş hali b) tasarlanan ve yazdırılan modelin üstüste bindirilmiş halinin kesiti [63]

Bu çalışmada kullanılan gyroid mimarisi, kavisli yüzeyler ve gözenekli yapılar nedeniyle küp modellere göre daha az katı davranış sergilemiştir (169 ± 21 MPa, %69 ± 2 gözeneklilik).

Melchels ve meslektaşları ayrıca gözeneklerdeki boyut ve hacim oranını lineer olarak değiştirerek gözenek mimarisinin gradyan değişimini de analiz etmişlerdir. Şekil 5.2'deki tasarlanmış ve yazdırılarak μCT taranmış iskeleye ait sonuçlarda görülebileceği üzere iskelede daha üst kısımlara gidildikçe gözeneklilik artmakta, iskelenin ortasından itibaren alt kısımlara doğru gözeneklilik azalmaktadır. Gözeneklilik ve gözenek büyüklüğündeki bu gradyanın aynı zamanda sertlik ve geçirgenlikte de dereceli olarak değişkenlik göstereceği kanısına varılmıştır.



Şekil 5.2. Gradyan gözeneklilik ve gözenek büyüklüğüne sahip gyroid PDLLA iskelesi. a: μCT görselleştirme, b: iskele yüksekliği (düz çizgi) ile tasarlanmış gözenekliliğe kıyasla (noktalı çizgi) ortalama gözeneklilikteki değişim [63]

5.4. Tasarlanan Doku İskelesinin Tasarım Parametreleri

Bu tez çalışmasında, doku iskelelerinin dereceli olarak değişen mekanik özellik ihtiyacını sağlamak için, sarmal mekanik tasarımı kullanılmıştır. Helis (helezon, yay) şeklinin tasarımından dolayı, esneklik, metal gövdeler için bile sağlanabilir [64].

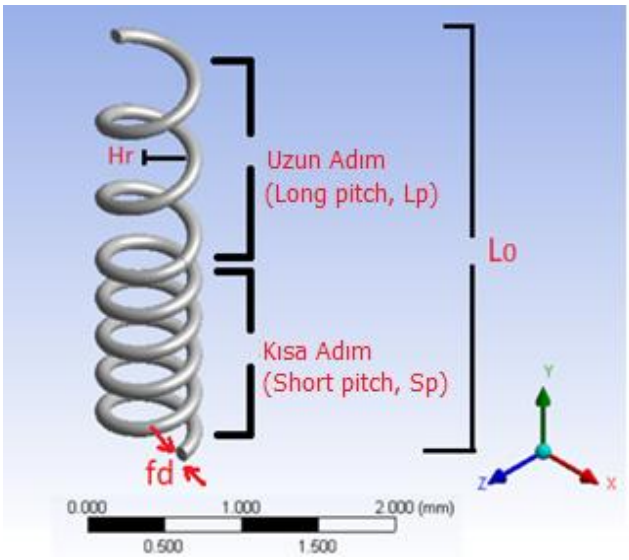
Çalışma kapsamında birim hücre Resim 5.1. İskele birim hücresi'nde görüldüğü gibi tasarlanmıştır. Helis geometrisi için aşağıdaki parametrelerin belirlenmesi gerekmektedir.

HR : belirlenen dairesel profilin etrafında döndüğü helis yarıçapı

Fd : fiber çapı; profilin çapı

Pitch : dönüşler arasındaki Y eksenindeki mesafe (Uzun Adım: LP, Kısa Adım: SP)

L0 : birim hücrenin başlangıç yüksekliği

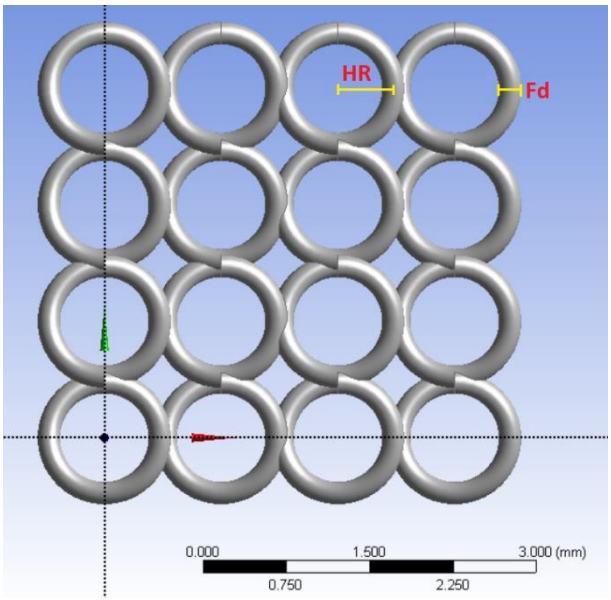


Resim 5.1. İskele birim hücresi

Bu mimariye sahip doku iskelesi tasarımı CAD ortamında değişen adım parametrelerine sahip helislerin birleştirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Farklı mekanik özelliklere sahip iskeleler oluşturmak için, HR, Fd, LP ve SP parametreleri alternatif olarak değiştirilerek alternatif yapılar oluşturulmuştur. Bu parametreler, gözenekliliği arttırmak ve sertliği optimum düzeyde ayarlamak için değiştirilmiştir. İskelenin mekanik özelliklerini ayarlamak için fiber çapı değerleri değiştirilmiştir. Fiber çapınfdaki daha yüksek değerler artan mekanik dayanım sağlamıştır. Adım değerleri, tendon kemik etkileşimi ve kıkırdak dokusunu taklit etmek için değiştirilmiştir. Üst katmanın, alt katmandan daha elastik bir modüle sahip olması gereken bir iskelede, LP değeri, SP'den daha yüksek belirlenmiştir.

Tasarlanan bu birim helis kullanılarak bu alanda yeni bir mimariye sahip doku iskelesi tasarımı gerçekleştirilmiştir. Birim helis yapısı CAD ortamında çoğaltılarak doku iskelesi elde edilmektedir (Resim 5.3). Çoğaltılan birimler, Çizelge 5.5'te detaylandırılan değişen

iskele parametrelerine bağlı formüllere göre yerleştirilmiştir. Sonlu elemanlar analizi çalışması için resimde görülen (Resim 5.2), 16 birim hücreli bir iskele oluşturulmuştur.



Resim 5.2. XZ düzleminden iskele görüntüsü (Fd = 0,2 mm, HR = 0,5 mm)

Çizelge 5.5. Tasarım parametreleri ve formülleri

Parametre ismi	Formül	Açıklama
P1 - FiberDiaSP	Fd	Kısa yay Fiber çapı (Fiber diameter)
P2 - HelixRad	HR	Helix yarıçapı (Helix radius)
P3 - FiberDiaLP	Fd	Uzun yay Fiber çapı (Fiber diameter)
P4 - PitchShort	SP	Kısa Yay aralığı (SP: Short pitch – kısa adım)
P5 - PitchLong	LP	Uzun Yay aralığı (LP: Long pitch – uzun adım)
P6 - Translate1bodyXY_X	=2*HR+(Fd/4)	XY eksenindeki 1 kopyanın yatay konumu
P7 - Translate1bodyXY._Z	=Fd	XY eksenindeki 1 kopyanın dikey konumu
P8 - Translate2bodyYZ_Y	=Fd	YZ eksenindeki 2 kopyanın dikey konumu
P9 - Translate2bodyYZ_Z	=2*HR+(Fd/4)	YZ eksenindeki 2 kopyanın yatay konumu
P10 - Translate4X_X	=2*(2*HR+(Fd/4))	4 kopyanın X ekseni yönündeki konumu
P11 - Translate8Z_Z	=2*(2*HR+(Fd/4))	8 kopyanın Z ekseni yönündeki konumu

6. ANALİZ

İskelenin modellenmesi, mekanik özelliklerini ölçme ve analiz için Ansys Workbench Sonlu Elemanlar Analiz Yöntemi (finite element analysis - FEA) kullanılmıştır. FEA, nihai ürünün her parçasındaki yükleri hesaplar, sonuçları birleştirir ve bize yapının son sonucunu verir. Doku mühendisliğinde FEA 1981'den beri ilk kez Hayes ve Snyder tarafından kemik yapısı ve mekanik stresler arasındaki anlamlı ilişkiyi göstermek için kullanılmıştır [12]. İskelenin mekanik dayanımını anlamak için FEA kullanarak elastisite modülü ve porozite hesaplamaları da yapılmıştır.

6.1. Ansys Parametrik Tasarım

Analizde en çok zaman harcayan aşama, en uygun çözümü bulmak için çeşitli geometrileri farklı parametrelerle test etmektir. Ansys workbench platformu parametrik tasarım analizini kullanır, böylece parametrik geometriler doğrudan simülasyondan çalıştırılabilir. Ansys, belirtilen değişkenlerin tamamını çözer ve trendleri tespit etmeye ve en uygun tasarımı tanımlamaya yarayan sonuçlar oluşturur.

Analiz parametreleri önceki çalışmalara dayanarak tanımlanmıştır. Moroni ve arkadaşları, mekanik analiz için 6 mm çapında ve 4 mm yüksekliğinde silindirik fişleri test etmişlerdir [65]. Vijayavenkataraman ve arkadaşları, 16 birim hücreden oluşan tek katmanlı iskeleyi test etmiş; birim hücre gözeneklerinin yan uzunluğu 200 μm'ye sabitlenmiş ve lif genişliği 10 μm'lik adımlarla 50 ila 100 μm arasında değiştirilmiştir. [66].

Bu araştırmada aynı iskele mimarisine sahip, farklı parametreleri olan 48 iskele modeli test edilmiştir. Tasarlanan iskeleler, 2,6 mm yüksekliğinde, kare yan uzunluğu birim hücre yarıçapına bağlı olarak 1,74 mm'den 8,53 mm'ye değişen 16 birim hücreden oluşmaktadır. Gözenek boyutları (helis yarıçapı) 200 μm, 300 μm, 500 μm ve 1 mm olarak ayarlanmıştır. Fiber kalınlığı 80 μm, 100 μm, 200 μm ve 300 μm arasında değişmektedir. SP ve LP değerleri 200 μm ila 800 μm arasında ayarlanmıştır. Çizelge 6.1'de Ansys simülasyonunda kullanılan parametreler verilmiştir.

Çizelge 6.1. Simülasyon için tasarım parametreleri

Tasarım Noktası Adı	Fiber Çapı Fd	Helis Yarıçapı HR	Kısa Adım SP	Uzun Adım LP
Birimler	mm	mm	mm	mm
DP 1	0.08	0.2	0.2	0.4
DP 2	0.08	0.2	0.3	0.6
DP 3	0.08	0.2	0.3	0.3
DP 4	0.08	0.3	0.2	0.4
DP 5	0.08	0.3	0.3	0.6
DP 6	0.08	0.3	0.3	0.3
DP 7	0.08	0.5	0.2	0.4
DP 8	0.08	0.5	0.3	0.6
DP 9	0.08	0.5	0.3	0.3
DP 10	0.08	1	0.2	0.4
DP 11	0.08	1	0.3	0.6
DP 12	0.08	1	0.3	0.3
DP 13	0.1	0.2	0.2	0.4
DP 14	0.1	0.2	0.3	0.6
DP 15	0.1	0.2	0.3	0.3
DP 16	0.1	0.3	0.2	0.4
DP 17	0.1	0.3	0.3	0.6
DP 18	0.1	0.3	0.3	0.3
DP 19	0.1	0.5	0.2	0.4
DP 20	0.1	0.5	0.3	0.6
DP 21	0.1	0.5	0.3	0.3

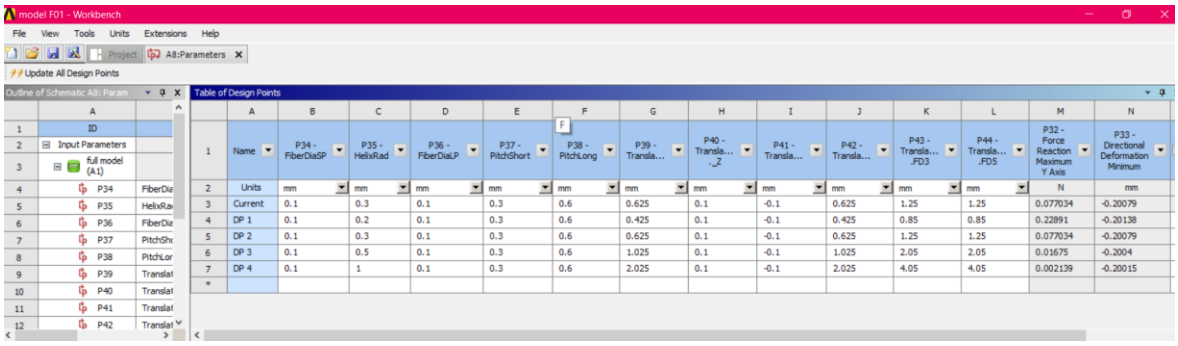
Çizelge 6.1. (devam) Simülasyon için tasarım parametreleri

Tasarım Noktası Adı	Fiber Çapı Fd	Helis Yarıçapı HR	Kısa Adım SP	Uzun Adım LP
Birimler	mm	mm	mm	mm
DP 22	0.1	1	0.2	0.4
DP 23	0.1	1	0.3	0.6
DP 24	0.1	1	0.3	0.3
DP 25	0.2	0.2	0.3	0.5
DP 26	0.2	0.2	0.3	0.6
DP 27	0.2	0.2	0.3	0.3
DP 28	0.2	0.3	0.3	0.5
DP 29	0.2	0.3	0.3	0.6
DP 30	0.2	0.3	0.3	0.3
DP 31	0.2	0.5	0.3	0.5
DP 32	0.2	0.5	0.3	0.6
DP 33	0.2	0.5	0.3	0.3
DP 34	0.2	1	0.3	0.5
DP 35	0.2	1	0.3	0.6
DP 36	0.2	1	0.3	0.3
DP 37	0.3	0.2	0.5	0.7
DP 38	0.3	0.2	0.5	0.8
DP 39	0.3	0.2	0.5	0.5
DP 40	0.3	0.3	0.5	0.7
DP 41	0.3	0.3	0.5	0.8
DP 42	0.3	0.3	0.5	0.5

Çizelge 6.1. (devam) Simülasyon için tasarım parametreleri

Tasarım Noktası Adı	Fiber Çapı Fd	Helis Yarıçapı HR	Kısa Adım SP	Uzun Adım LP
Birimler	mm	mm	mm	mm
DP 43	0.3	0.5	0.5	0.7
DP 44	0.3	0.5	0.5	0.8
DP 45	0.3	0.5	0.5	0.5
DP 46	0.3	1	0.5	0.7
DP 47	0.3	1	0.5	0.8
DP 48	0.3	1	0.5	0.5

Bu parametreler ve birim hücre çoğultma formülleri (Bknz: Çizelge 5.5 Tasarım parametreleri ve formülleri) Ansys parametre tablosuna (Şekil 6.1) konularak mekanik analiz simülasyonları yürütülmüştür. Her tasarım noktası için elastisite modülünü hesaplamak amacıyla statik yapısal simülasyon yapılmıştır.



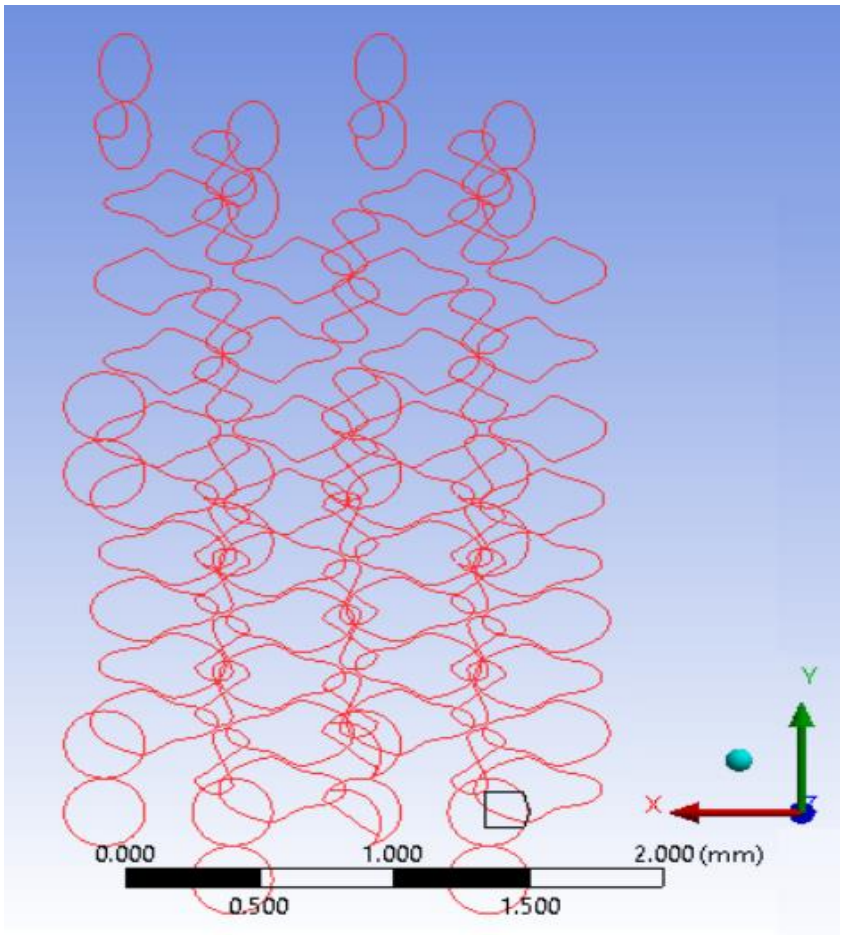
Şekil 6.1. Ansys parametreler ve sonuçlar tablosu ekranı

6.2. Materyal ve Metod

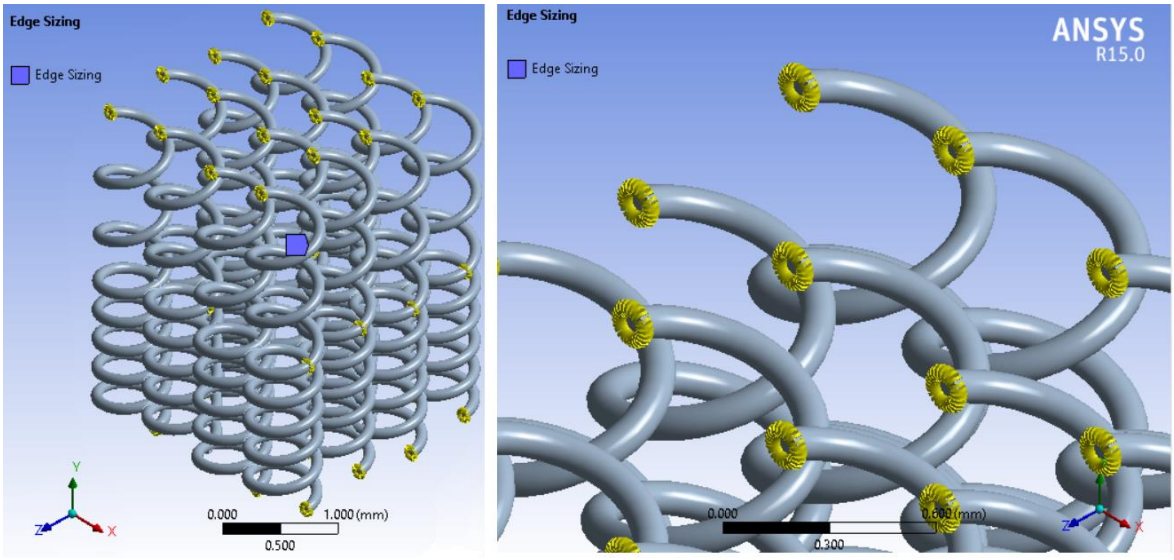
Ansys'te materyal PLLA olarak tanımlanmıştır (Bknz: Çizelge 5.4. Analizde kullanılan PLLA malzeme özellikleri). Elastisite modülü (E) 3.4 GPa, poisson oranı 0,3 ve çekme dayanımı 60 MPa olarak belirlenmiştir.

6.1.1. Geometrinin sonlu elemanlara bölünmesi (meshing)

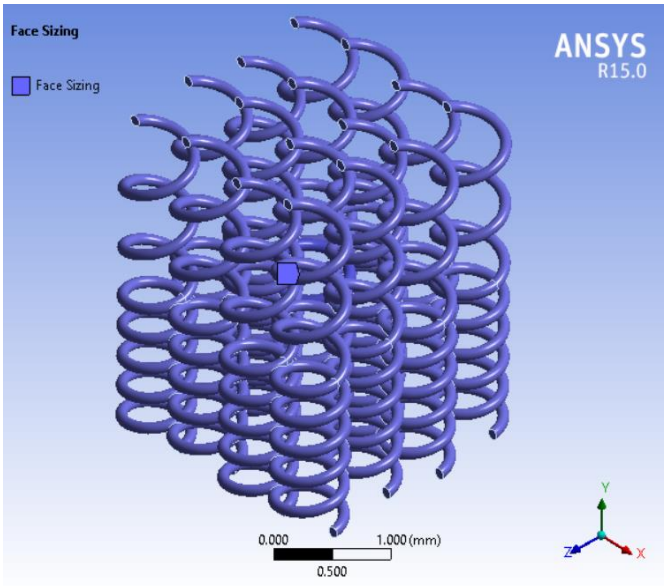
İskelenin, başlangıç ve bitiş uç yüzeyleri dışında düz alanı olmaması nedeniyle tekdüze bir meshing (üçgenleme) uygulanamamıştır. Modelin kıvrımlarına göre meshing yapılabilmesi için kenar boyutlandırma (Resim 6.1 ve Resim 6.2) ve yüzey boyutlandırma (face sizing) (Resim 6.3) özellikleri kullanılmıştır. Kenar boyutlandırma bölümleri modelin karmaşıklığına göre 20 ile 120 arasında belirlenmiştir. Yüzey bölümleri 0,05 mm olarak belirlenmiştir.



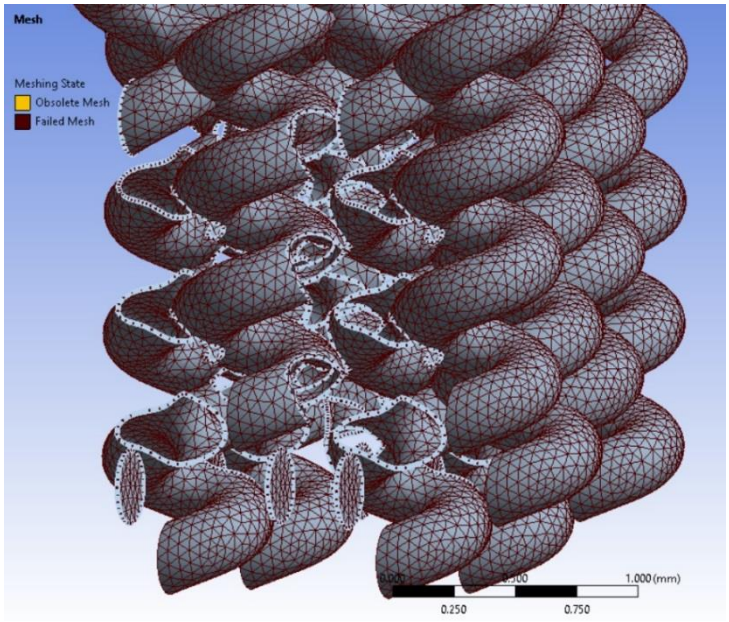
Resim 6.1. Ansys tasarım modelleyicisinde kenarların seçimi (Fd = 300 µm, HR = 200 µm, SP = 500 µm, LP = 700 µm)



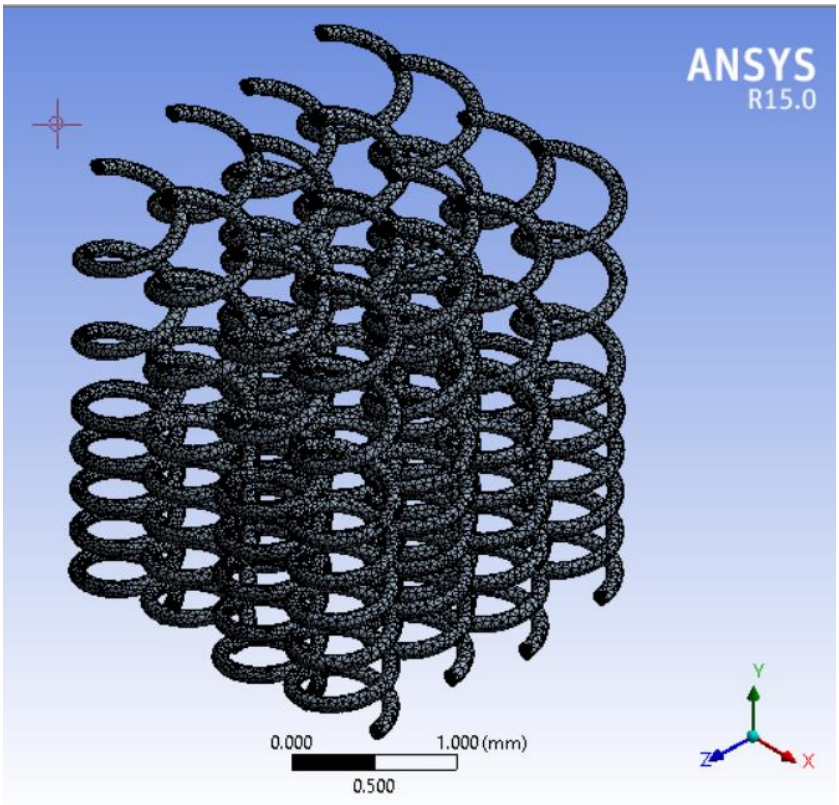
Resim 6.2. İskelede kenarların boyutlandırılması (Kenar bölümleri 24 olarak ayarlanmıştır) (Fd = 100 µm, HR = 300 µm, SP = 300 µm, LP = 600 µm)



Resim 6.3. İskelede yüzeylerin boyutlandırılması (Eleman büyüklüğü 0,05 mm olarak belirlenmiştir) (Fd = 100 µm, HR = 300 µm, SP = 300 µm, LP = 600 µm)



Resim 6.4. Kesişmeler ve kenar bölümleme sayısından dolayı meshleme hatası (Fd = 300 µm, HR = 200 µm, SP = 500 µm, LP = 700 µm)



Resim 6.5. Nihai mesh yapısı (Fd = 100 µm, HR = 300 µm, SP = 300 µm, LP = 600 µm)

Modellerin karmaşıklığı Fd arttıkça artmıştır, bu da birim hücrelerin kesişme noktalarının artmasına neden olmuştur (Resim 6.4). Bu mesh hataları, simülasyonun doğru çalışmasını

engellemesi nedeniyle, tasarlanan doku iskelesi modelleri kenarları yeniden seçerek ve kenar bölümlerini artırarak güncellenmiştir (Resim 6.5).

İskele tasarım gereksinimlerinde daha önce belirtildiği gibi, hücre yaşayabilirliğinin belirlenmesinde doku iskelesinin mekanik sertlik ve gözeneklilik değerleri önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle, iskelenin mekanik sertliğini anlamak için elastisite modülü hesaplamaları kullanılmıştır. Yine daha önceki bölümlerde bahsedildiği üzere, gözeneklilik değerleri, iskelenin geçirgenliği ve hücre tohumlamasının, vaskülarizasyonun ve büyüme faktörlerinin ve besin maddelerinin iskeleye yayılma derecesi için önem arzeder.

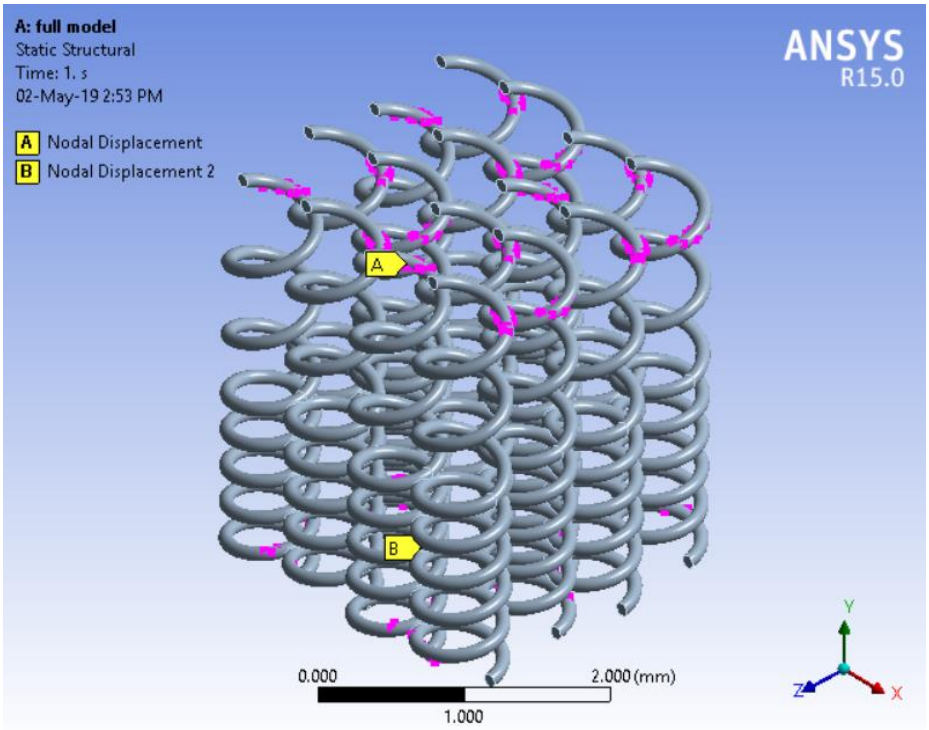
6.1.2. Elastisite modülü

Tasarlanan doku iskelesinin rijitliğini belirlemek üzere ANSYS ortamında ölçümü yapılan Elastisite (Young's) modülü, uygulanan kuvvet boyunca meydana gelen gerilme veya basınca tepki olarak ölçülen gerilme (Eş. 6.1) olarak tanımlanabilir;

$$Elastisite\ mod\text{ülü}, E = \frac{\sigma}{\epsilon} = \frac{\left(\frac{F}{A}\right)}{\left(\frac{\Delta L}{L}\right)} \quad (6.1)$$

F uygulanan kuvvet, σ gerilme, ε gerinim, A alan, L uzunluk, ve ΔL verilen yöne göre uzunluktaki değişimdir. Bu değer yapısal simülasyonlardan elde edilmiştir. L_0 birim helise basınç uygulanan nodal noktalar arasındaki mesafe olan 2,6 mm'dir.

Elastisite modülünün hesaplanması için, nodal yer değiştirme (A) kullanılarak, aynı yöne doğru gerilmeye eşdeğer olan, Y ekseninde 2,6 mm'de tekdüze bir yer değiştirme uygulanmıştır (Resim 6.6). İskele, Y ekseninde 0,2 mm yükseklikte sınırlandırılmıştır (nodal yer değiştirme (B)). Uygulanan yer değiştirmeden dolayı nodal noktalarda (A) üretilen ortalama reaksiyon kuvveti, elastisite modülünü belirlemek için kullanılmıştır.



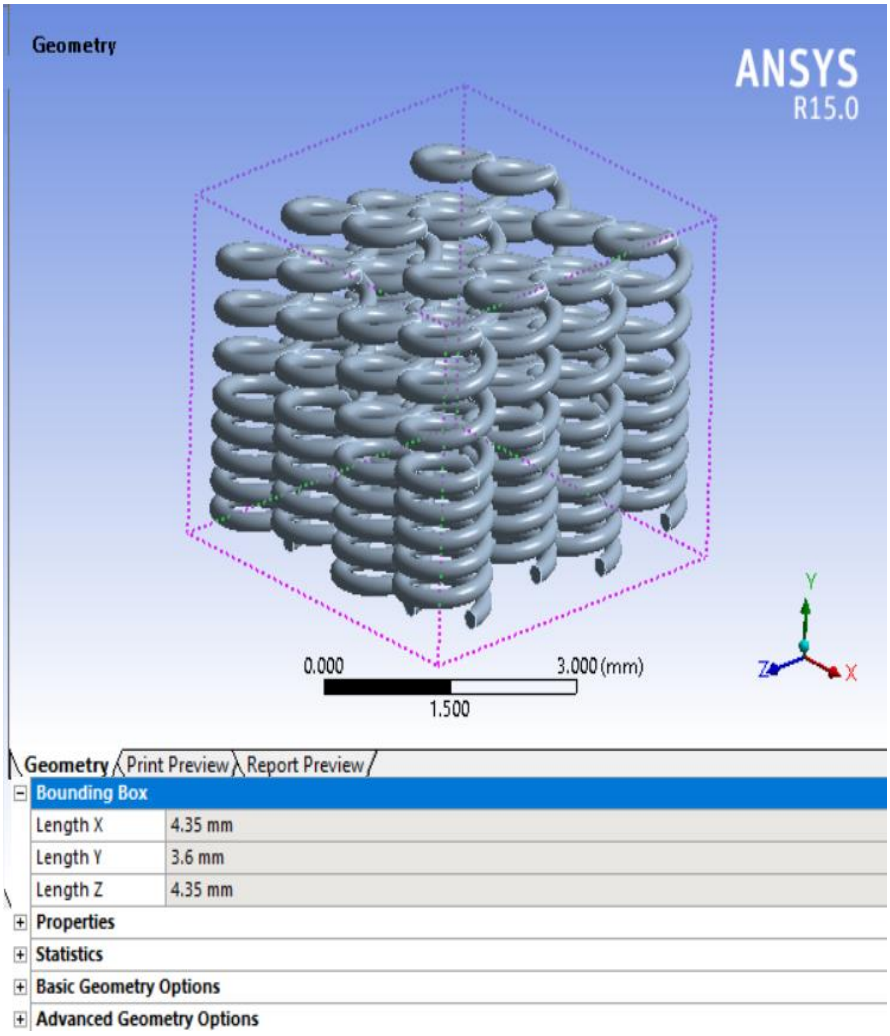
Resim 6.6. Sonlu elemanlar analizinde uygulanan sınır şartları. (Fd = 100 µm, HR = 300 µm, SP = 300 µm, LP = 600 µm). 2,6 mm yükseklikte nodal yer değiştirme (A) uygulanmış ve 0,2 mm yükseklikte nodal yer değiştirme (B) zorlanmıştır.

6.1.3. Gözeneklilik

Tasarlanan doku iskelesindeki gözeneklilik, yapıdaki boşlukların hacminin yapının boşluksuz hacmine oranı olarak hesaplanmıştır (Eş. 6.2).

$$Gözeneklilik = 1 - \left(\frac{V_{iskele}}{V_{toplam}}\right).100 \quad (6.2)$$

V_{iskele}, yapının hacmi, V_{toplam} ise boşluklar dahil yapının hacmidir. İskelenin düz bir tabanı ve üst yüzeyi olmaması nedeniyle, V_{toplam} ölçmek için Ansys'teki bounding box (çevreleyen kutu) özelliği kullanılmıştır. Bounding box iskelenin X, Y ve Z eksenlerindeki konumlanan en uç noktalarına göre bir çerçeve küp oluşturmaktadır (Resim 6.7).



Resim 6.7. Ansys bounding box

$V_{boundingbox}$ formülüne göre V_{toplam} aşağıdaki şekilde ölçülmektedir:

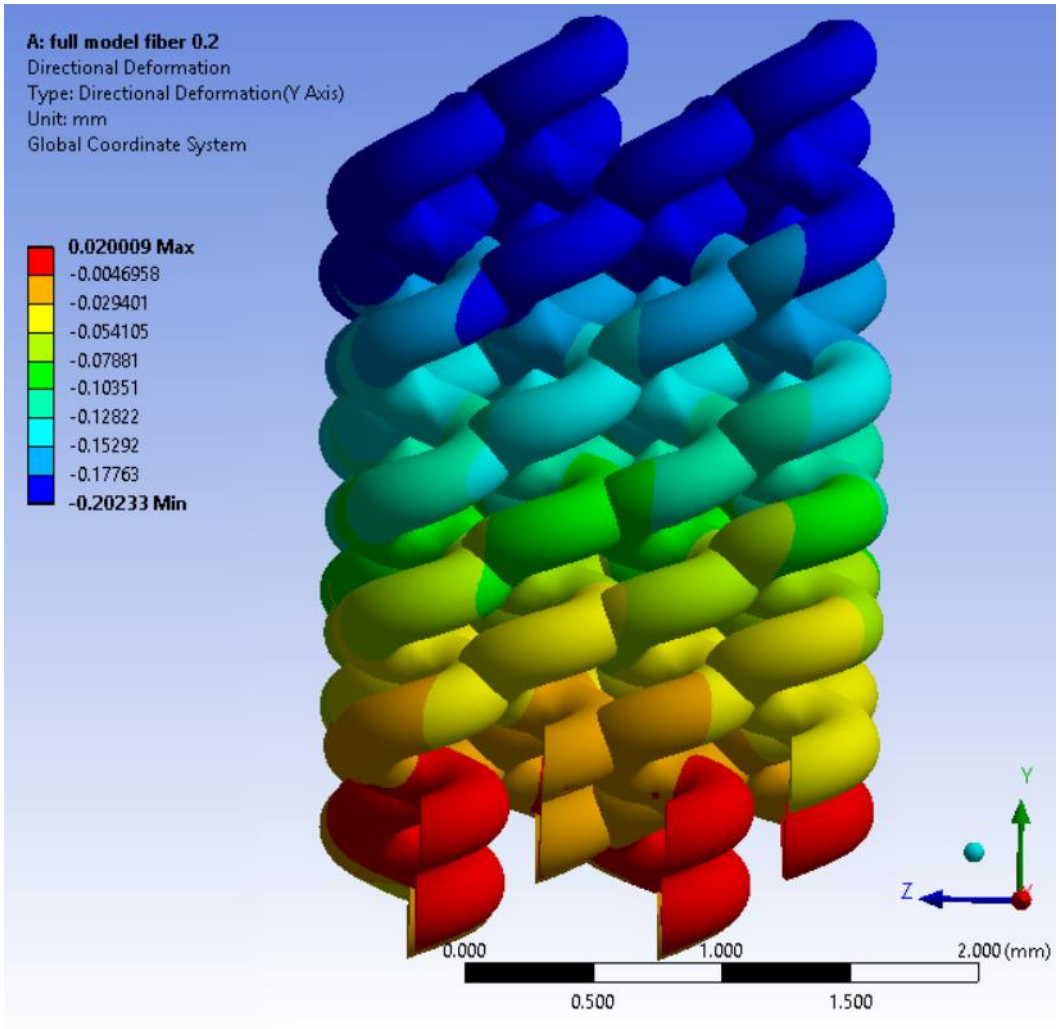
$V_{boundingbox} = V_{Bb}$ = Uzunluk$_{(X)}$. Uzunluk $_{(Y)}$. Uzunluk $_{(Z)}$

V_{iskele} Ansys tarafından hesaplanmak üzere parametrik tasarım hesaplamalarında tabloya dahil edilmiştir. Her parametrik iskelede, Ansys'te farklı bir V_{iskele} değeri elde edilmiştir. Bu parametrelere göre formül aşağıdaki şekilde güncellenebilir (Eş. 6.3).

$$Gözeneklilik = 1 - \left(\frac{V_{iskele}}{V_{Bb}}\right).100 \quad (6.3)$$

7. ANALİZ SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu araştırmada aynı iskele mimarisine sahip, farklı parametreleri olan 48 iskele modeli test edilmiştir. İskele, 2,6 mm yüksekliğinde, kare yan uzunluğu birim hücre yarıçapına bağlı olarak 1,74 mm'den 8,53 mm'ye değişen 16 birim hücreden oluşmaktadır. Gözenek boyutları (helis yarıçapı) 200 µm, 300 µm, 500 µm ve 1 mm olarak ayarlanmıştır. Fiber kalınlığı 80 µm, 100 µm, 200 µm ve 300 µm arasında değişmektedir. SP ve LP değerleri 200 µm ila 800 µm arasında ayarlanmıştır. Resim 7.1'de gösterilen simülasyon, 48 model için de parametrik olarak koşulmuş, elastisite modülü değerleri yönlü deformasyon sonuçlarına göre elde edilmiştir. Eş. 6.1'e göre hesaplanan en yüksek elastisite modülü değeri 414,28 MPa'dır. Çizelge 7.1'de Ansys simülasyonu sonucunda elde edilen tüm veriler bulunmaktadır.



Resim 7.1. Yönlü deformasyon simülasyon sonucu (Fd = 300 µm, HR = 200 µm, SP = 500 µm, LP = 700 µm)

Çizelge 7.1. Ansys analiz sonuçları (F(Y) = Y eksenindeki güç tepkisi, V_{Bb} = bounding box hacim, Yönsel Deform = yönsel deformasyon, A = alan, E = elastisite modülü)

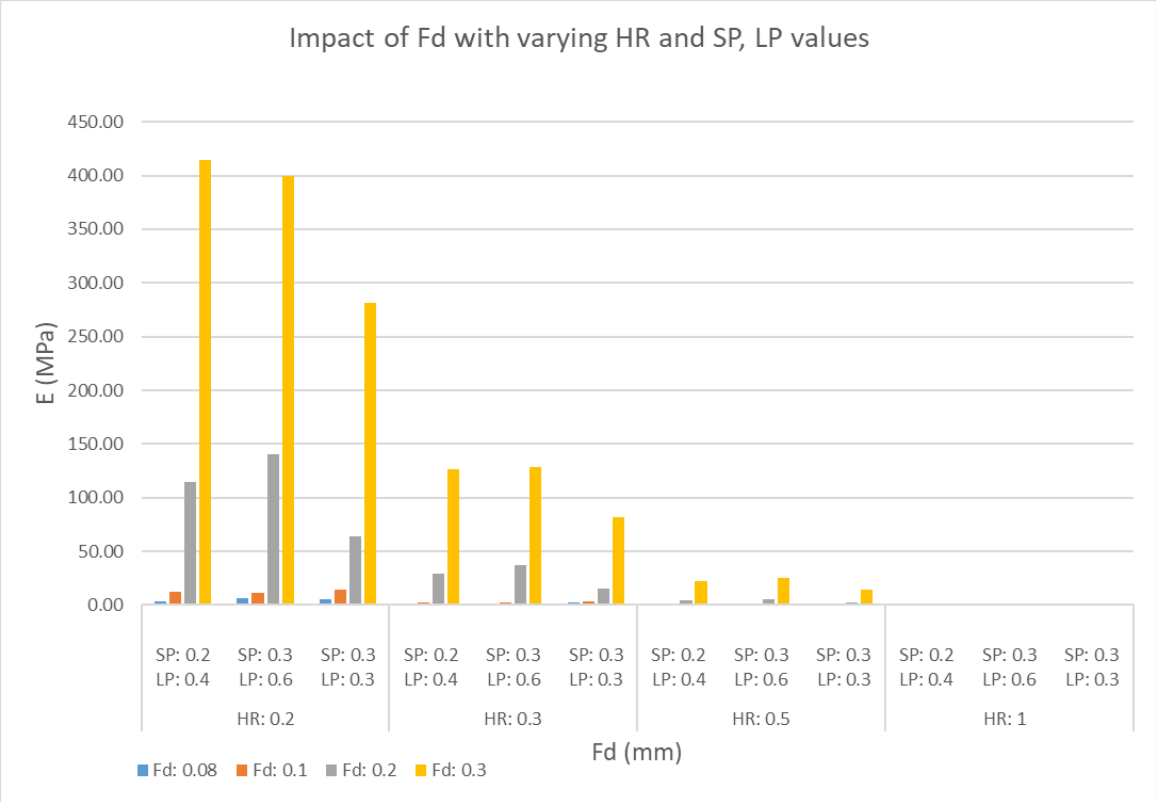
Model	Fd	HR	SP	LP	V_{toplam}	V_{Bb}	Gözenekllik	F(Y)	Yönsel Deform	L0	A (Alan)	E
Birim	mm	mm	mm	mm	mm^3	mm^3	%	N	mm	mm	mm^2	MPa
DP 1	0.08	0.2	0.2	0.4	1.07	9.81	89%	0.071	-0.201	2.6	0.253	3.640
DP 2	0.08	0.2	0.3	0.6	0.75	9.81	92%	0.081	-0.201	2.6	0.171	6.094
DP 3	0.08	0.2	0.3	0.3	0.99	9.81	90%	0.148	-0.200	2.6	0.332	5.771
DP 4	0.08	0.3	0.2	0.4	1.63	20.90	92%	0.022	-0.200	2.6	0.379	0.766
DP 5	0.08	0.3	0.3	0.6	1.13	20.90	95%	0.027	-0.200	2.6	0.501	0.707
DP 6	0.08	0.3	0.3	0.3	1.50	20.90	93%	0.052	-0.200	2.6	0.257	2.647
DP 7	0.08	0.5	0.2	0.4	2.74	55.53	95%	0.005	-0.200	2.6	0.632	0.102
DP 8	0.08	0.5	0.3	0.6	1.89	55.53	97%	0.006	-0.200	2.6	0.428	0.195
DP 9	0.08	0.5	0.3	0.3	2.51	55.53	95%	0.013	-0.200	2.6	0.839	0.195
DP 10	0.08	1	0.2	0.4	5.54	214.68	97%	0.062	-0.200	2.6	1.262	0.638
DP 11	0.08	1	0.3	0.6	3.78	214.68	98%	0.001	-0.200	2.6	0.855	0.013
DP 12	0.08	1	0.3	0.3	5.04	214.68	98%	0.002	-0.200	2.6	1.683	0.013
DP 13	0.1	0.2	0.2	0.4	1.63	10.40	84%	0.376	-0.201	2.6	0.395	12.330
DP 14	0.1	0.2	0.3	0.6	1.14	10.40	89%	0.230	-0.202	2.6	0.264	11.194
DP 15	0.1	0.2	0.3	0.3	1.48	10.40	86%	0.539	-0.201	2.6	0.499	14.006
DP 16	0.1	0.3	0.2	0.4	2.49	21.88	89%	0.130	-0.200	2.6	0.593	2.837
DP 17	0.1	0.3	0.3	0.6	1.72	21.88	92%	0.077	-0.201	2.6	0.397	2.514
DP 18	0.1	0.3	0.3	0.3	2.26	21.88	90%	0.184	-0.200	2.6	0.756	3.163
DP 19	0.1	0.5	0.2	0.4	4.22	57.52	93%	0.031	-0.200	2.6	0.985	0.402
DP 20	0.1	0.5	0.3	0.6	2.89	57.52	95%	0.017	-0.200	2.6	0.662	0.328
DP 21	0.1	0.5	0.3	0.3	3.81	57.52	93%	0.042	-0.200	2.6	1.190	0.463
DP 22	0.1	1	0.2	0.4	8.58	220.54	96%	0.004	-0.200	2.6	1.971	0.026
DP 23	0.1	1	0.3	0.6	5.83	220.54	97%	0.002	-0.200	2.6	1.325	0.021
DP 24	0.1	1	0.3	0.3	7.70	220.54	97%	0.005	-0.200	2.6	2.569	0.026

Çizelge 7.1. (devam) Ansys analiz sonuçları

Model	Fd	HR	SP	LP	V_{toplam}	V_{Bb}	Gözenekllik	F(Y)	Yönsel Deform	L0	A	E
Birim	mm	mm	mm	mm	mm^3	mm^3	%	N	mm	mm	mm^2	MPa
DP 25	0.2	0.2	0.3	0.5	4.35	13.69	68%	8.663	-0.201	2.6	0.978	114.28
DP 26	0.2	0.2	0.3	0.6	4.13	13.69	70%	8.556	-0.201	2.6	0.786	140.60
DP 27	0.2	0.2	0.3	0.3	5.41	13.69	61%	7.676	-0.201	2.6	1.547	64.155
DP 28	0.2	0.3	0.3	0.5	6.73	27.23	75%	3.439	-0.201	2.6	1.505	29.536
DP 29	0.2	0.3	0.3	0.6	6.38	27.23	77%	3.486	-0.201	2.6	1.220	36.944
DP 30	0.2	0.3	0.3	0.3	8.39	27.23	69%	2.902	-0.201	2.6	2.412	15.576
DP 31	0.2	0.5	0.3	0.5	11.55	68.12	83%	0.884	-0.201	2.6	2.568	4.467
DP 32	0.2	0.5	0.3	0.6	10.93	68.12	84%	0.914	-0.202	2.6	2.097	5.614
DP 33	0.2	0.5	0.3	0.3	14.42	68.12	79%	0.724	-0.200	2.6	4.166	2.254
DP 34	0.2	1	0.3	0.5	23.76	251.00	91%	0.117	-0.200	2.6	5.254	0.288
DP 35	0.2	1	0.3	0.6	22.43	251.00	91%	0.123	-0.202	2.6	4.320	0.368
DP 36	0.2	1	0.3	0.3	29.68	251.00	88%	0.094	-0.200	2.6	8.608	0.142
DP 37	0.3	0.2	0.5	0.7	5.99	17.61	66%	44.033	-0.202	2.6	1.366	414.28
DP 38	0.3	0.2	0.5	0.8	5.76	17.61	67%	41.813	-0.207	2.6	1.313	399.58
DP 39	0.3	0.2	0.5	0.5	6.92	17.61	61%	42.570	-0.202	2.6	1.946	281.52
DP 40	0.3	0.3	0.5	0.7	9.38	33.37	72%	20.738	-0.202	2.6	2.108	126.68
DP 41	0.3	0.3	0.5	0.8	9.01	33.37	73%	20.385	-0.210	2.6	1.959	128.58
DP 42	0.3	0.3	0.5	0.5	10.89	33.37	67%	19.010	-0.202	2.6	2.986	81.905
DP 43	0.3	0.5	0.5	0.7	16.26	79.87	80%	6.267	-0.203	2.6	3.595	22.379
DP 44	0.3	0.5	0.5	0.8	15.56	79.87	81%	6.466	-0.203	2.6	3.300	25.127
DP 45	0.3	0.5	0.5	0.5	18.91	79.87	76%	5.553	-0.201	2.6	5.099	14.101
DP 46	0.3	1	0.5	0.7	33.71	283.50	88%	0.951	-0.201	2.6	7.377	1.665
DP 47	0.3	1	0.5	0.8	32.18	283.50	89%	0.992	-0.207	2.6	6.687	1.864
DP 48	0.3	1	0.5	0.5	39.30	283.50	86%	0.815	-0.201	2.6	10.444	1.012

7.1. Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması

Parametreler ve sonuçlar arasındaki eğilimleri ve korelasyonları bulmak için tüm sonuçlar, Şekil 7.1'de gösterilmektedir. Şekil 7.1'e göre, fiber çapındaki ve helis yarıçapındaki artış elastisite modülünün azalmasına neden olmuştur. Elastisite modülü hesaplamaları 0,013 MPa ila 414,284 MPa arasında değişmiştir. Her parametrenin etkisi, diğer parametreleri sabit tutarak E üzerindeki etkilerini göstermek için ayrı başlıklarda ele alınmıştır.

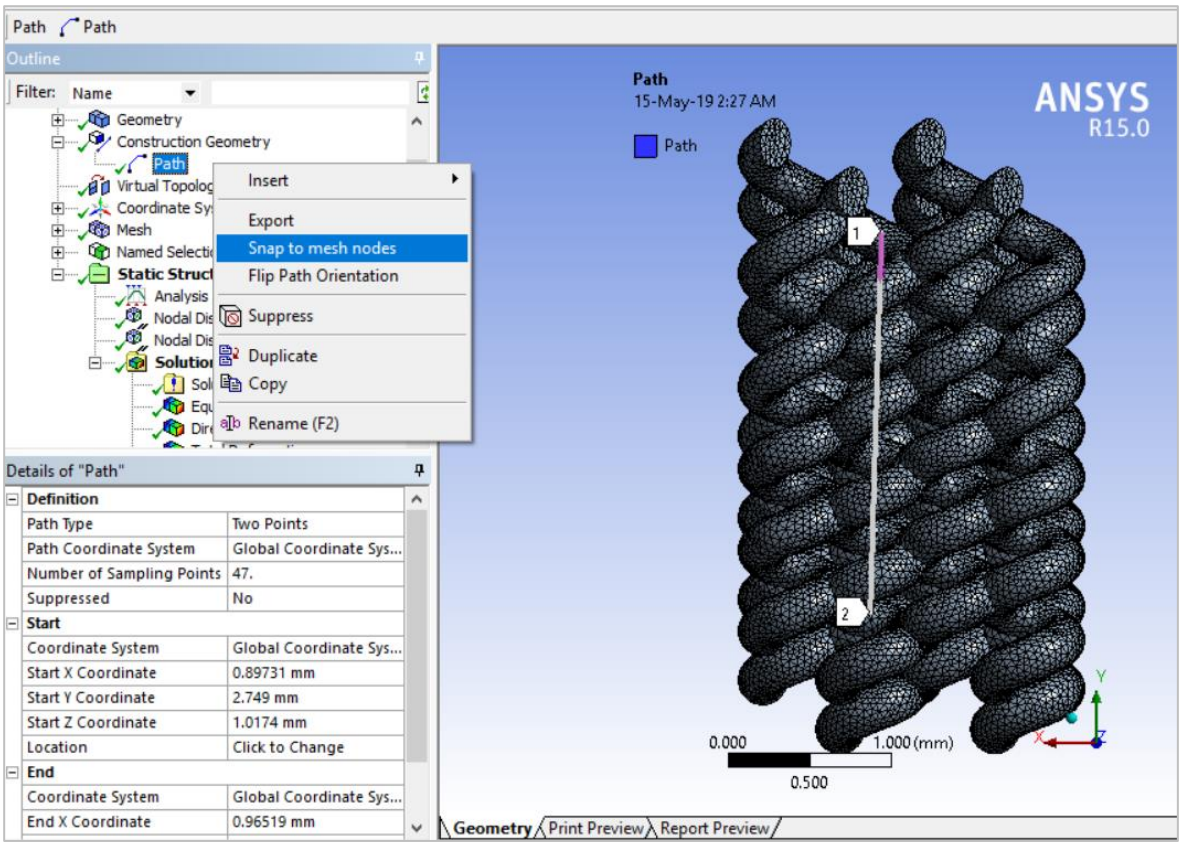


Şekil 7.1. HR ve SP, LP değerlerine göre Fd etkisi.

E değerlerinde farklılık, nodal noktalarında (Y = 2,6 mm olduğu noktalar) ölçülen kuvvet alanı farklılıklarından kaynaklanmaktadır. Helis şeklinin adım değerlerine göre değişmesinden dolayı, dönüşün konumu belirli bir noktadaki kuvvet uygulanan alanı değiştirmektedir. Örneğin, Şekil 7.1'e göre E = 140,60 MPa ve Fd = 0,2 mm için kuvvet uygulanan alan 0,786 mm^2'dir, bu Fd ve HR için ölçülen önceki (0,978 mm2) ve sonraki (1,547 mm^2) kuvvet alanlarından daha düşüktür.

Fd = 0,3 mm için SP ve LP değerleri daha yüksek olarak ayarlanmıştır, çünkü fiberin kalınlığı kendi içinde kesişen geometriye neden olmuştur.

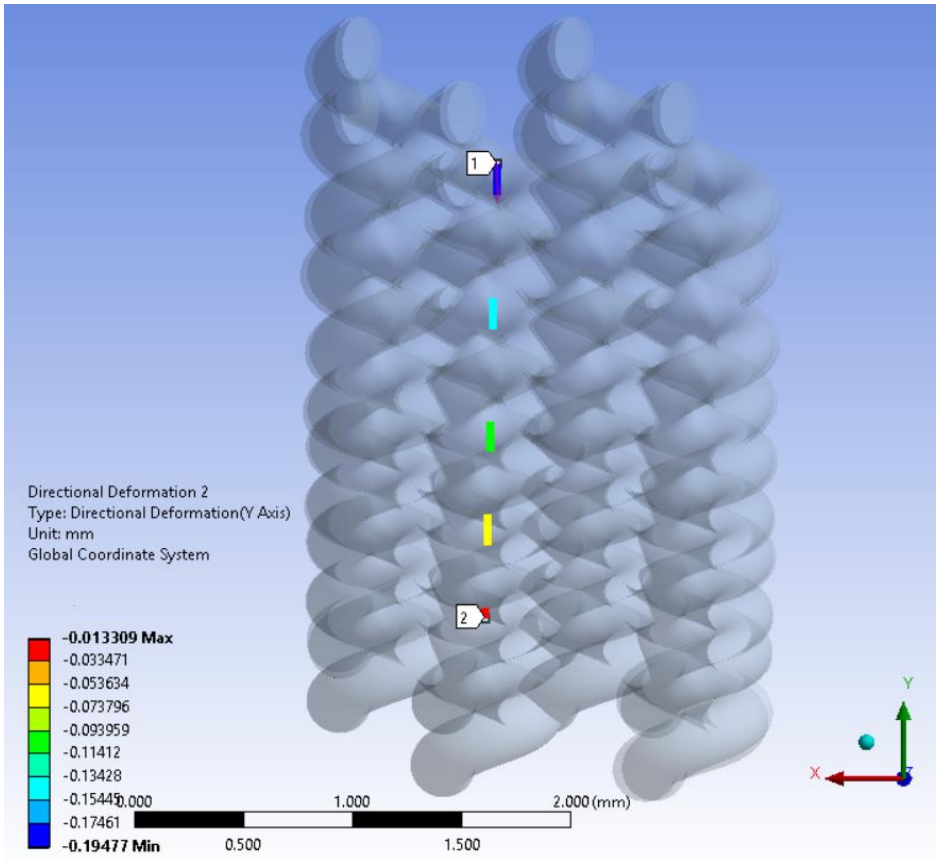
Araştırmada ayrıca iskelenin farklı noktalarındaki yönlü deformasyon değerlerini hesaplamak amacıyla Ansys'teki "Path Directional Deformation" (bir yol boyunca yönlü deformasyon) ölçümü özelliği kullanılmıştır. Bu hesaplamanın yapılabilmesi için iskelenin farklı bölgelerinde 2 nokta seçilerek aralarında Resim 7.2'deki gibi bir yol (path) oluşturulmaktadır.



Resim 7.2. İskele üzerinde path oluşturma (Fd = 300 µm, HR = 200 µm, SP = 500 µm, LP = 700 µm)

Ansys yapısal analizi model üzerindeki meshlere göre çalıştığı için, yolun iskeledeki mesh nodlarına yapışması sağlanarak (Resim 7.2), bu yolun iskeleyi kestiği noktalardaki elastisite modülü değerleri hesaplanmaktadır (Resim 7.3). Bu simülasyondan elde edilen sonuçlar Çizelge 7.2'de gösterilmiştir. İskelede yukarıdan aşağıya doğru, 1 ile işaretli yer 0,0 mm uzunluğu, 2 ile işaretli yer 2,346 mm uzunluğu olmak üzere, bu değerlere göre iskelenin adım aralıklarının uzun olduğu 1 noktasındaki elastisite değerleri, iskelenin adım

aralıklarının dar olduğu 2 noktasındaki elastisite değerlerine göre düşük çıkmıştır. Bunun anlamı, adım aralıklarının uzun olduğu yerlerde iskele daha esnek bir özellik göstermektedir.



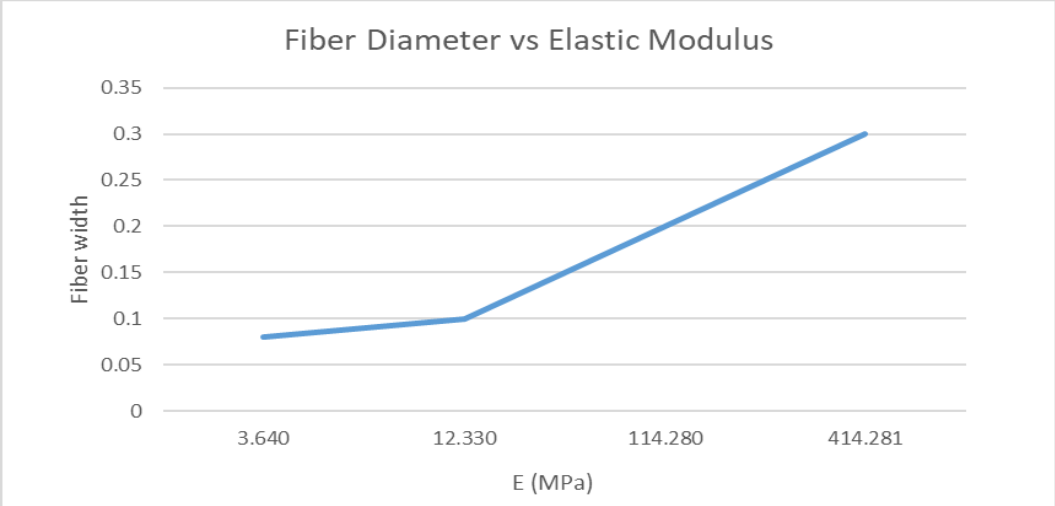
Resim 7.3. İskeledeki yol üzerinde yönlü deformasyon (Fd = 300 µm, HR = 200 µm, SP = 500 µm, LP = 700 µm)

Çizelge 7.2. İskeledeki yol boyunca yönsel deformasyon değerleri

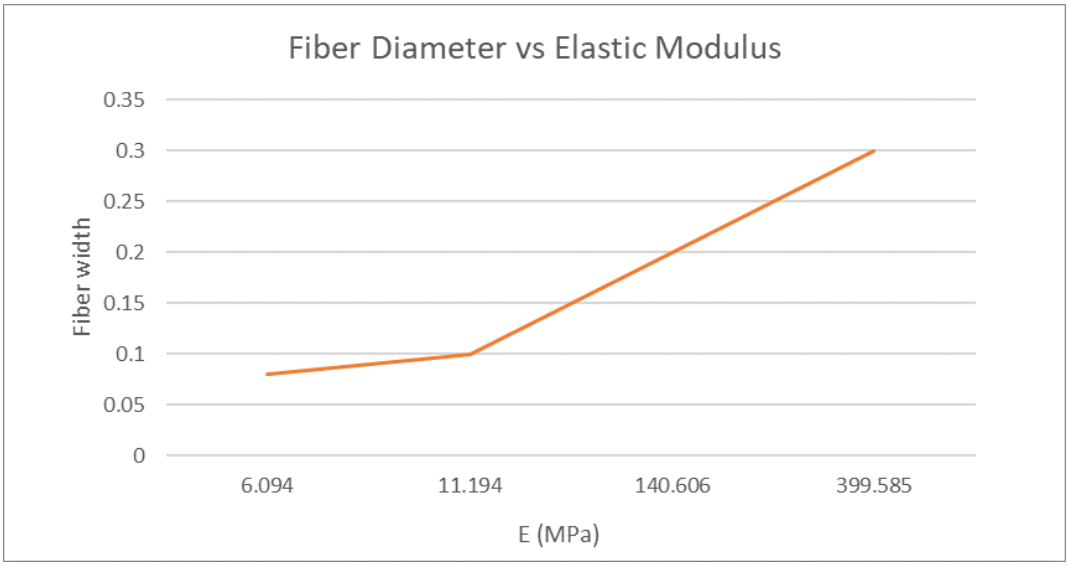
Yönsel Deformasyon	E (MPa)	Uzunluk (mm)
-0,195	430,370	0,000
-0,194	432,971	0,049
-0,192	435,717	0,098
-0,191	438,200	0,147
-0,096	870,086	0,147
-0,056	1504,852	0,186
-0,147	570,381	0,684
-0,146	573,307	0,733
-0,145	577,057	0,782
-0,144	581,460	0,831
-0,098	855,043	1,319
-0,098	859,673	1,368
-0,097	864,648	1,417
-0,056	1489,000	1,808
-0,055	1518,565	1,906
-0,055	1531,074	1,955
-0,014	5998,086	2,297
-0,013	6298,238	2,346

7.1.1. Fiber kalınlığının doku iskelesi rijitliğine etkisi

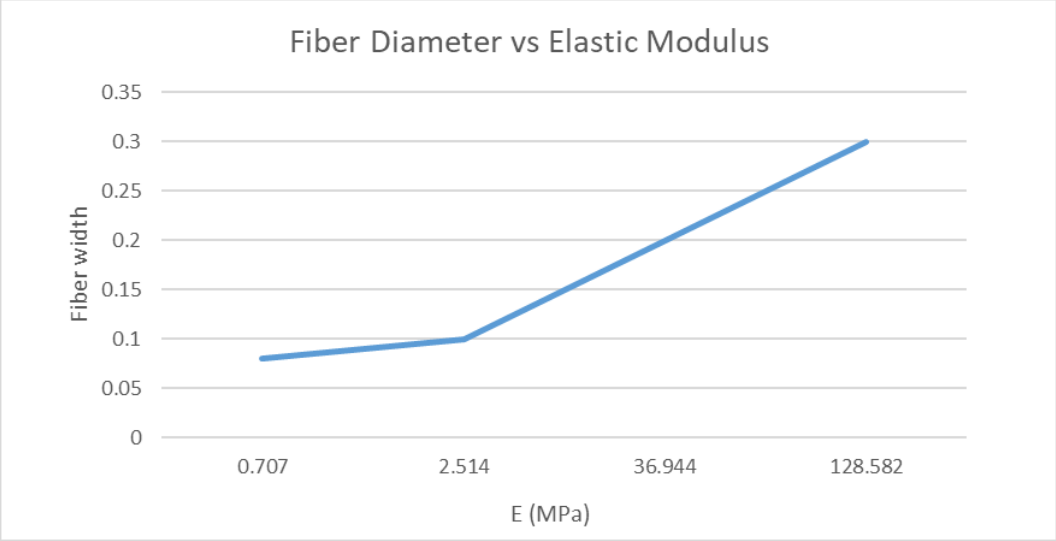
16 birim hücreden oluşan, boyu 2,6 mm'ye sabitlenmiş olan iskele üzerinde, değerleri 80 µm, 100 µm, 200 µm ve 300 µm arasında değişen fiber kalınlığının doku iskelesi üzerindeki sertlik etkisini ölçmek için analiz yapılmıştır.



Şekil 7.2. Fiber kalınlığının elastisite modülü üzerindeki etkisi (Tüm 4 modelde HR = 200 µm, SP = 200 µm, LP = 400 µm)



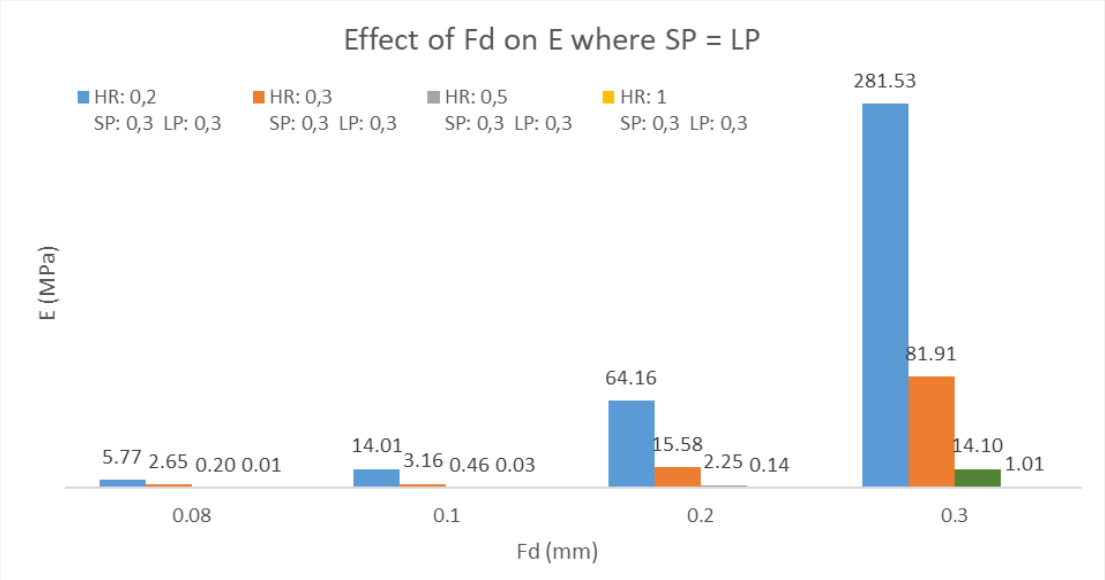
Şekil 7.3. Fiber kalınlığının elastisite modülü üzerindeki etkisi (Tüm 4 modelde HR = 200 µm, SP = 300 µm, LP = 600 µm)



Şekil 7.4. Fiber kalınlığının elastisite modülü üzerindeki etkisi (Tüm 4 modelde HR = 300 µm, SP = 300 µm, LP = 600 µm).

Şekil 7.2, Şekil 7.3 ve Şekil 7.4'te, aynı HR, SP ve LP Noktalarına sahip 3 iskele kombinasyonu üzerinde, fiber genişliğinin elastisite modülü üzerindeki etkisini anlamak için analiz sonuçları gösterilmiştir. Aynı HR ve SP, LP parametrelerine sahip 4 iskelenin grafiksel gösteriminin Fd - E değerleri doğrusal bir korelasyon gösterdiğini göstermiştir.

SP ve LP değerleri eşit olduğunda (Şekil 7.5), yani iskele tekdüze adım değerine sahipse, fiber çapı ve helis yarıçapı arttıkça elastisite modülü artmaktadır. Helis yarıçapı, fiber çapına

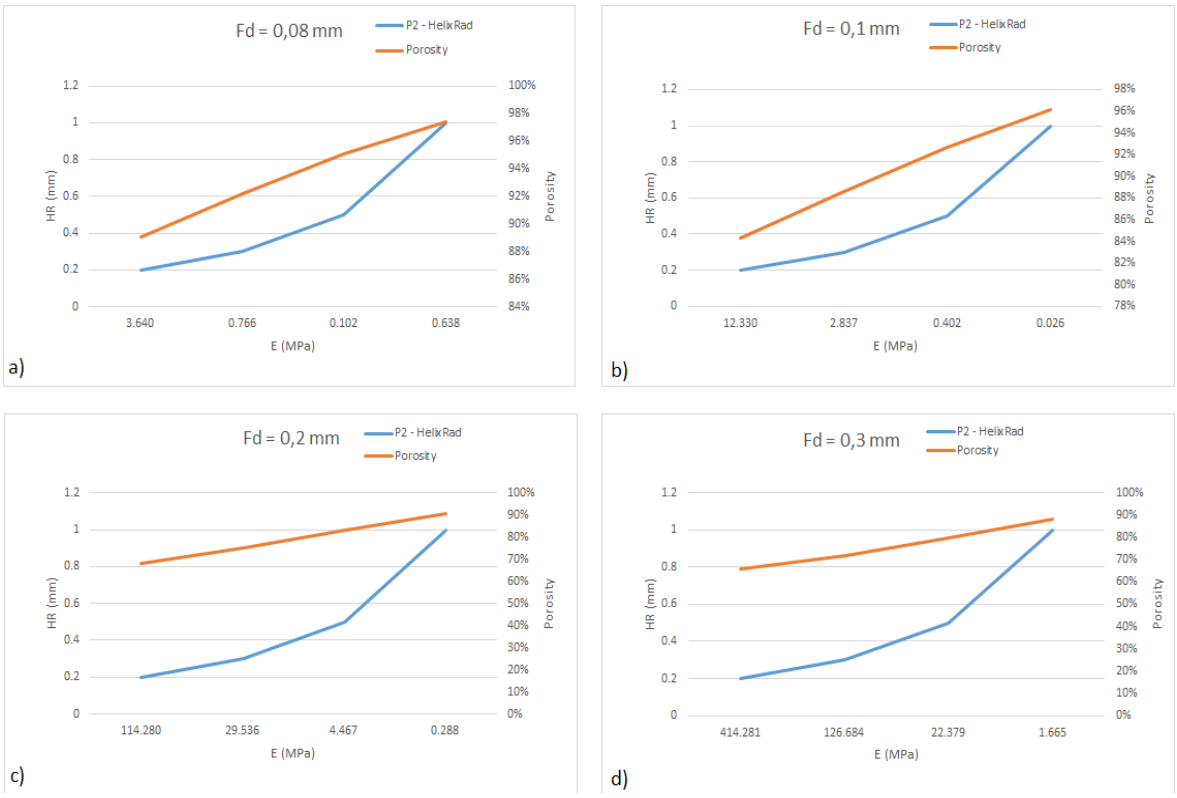


Şekil 7.5. LP = SP olduğunda Fd'nin E üzerindeki etkisi

yakın veya daha küçük olduğunda, fiber çapındaki artış daha yüksek elastisite modülü oranları sağlamıştır.

7.1.2. Helis yarıçapının iskelenin gözenekliliği üzerindeki etkisi

Gözenek boyutları (helis yarıçapı) 200 µm, 300 µm, 500 µm ve 1 mm olarak ayarlanmıştır. SP ve LP değerleri 200 µm ila 800 µm arasında ayarlanmış olup nesnenin gözeneklilik seviyesini de etkilemektedir. Şekil 7.6'da Fd değerleri 0,08 ve 0,1 mm iken, HR değeri 0,2 mm seviyesinde iskele daha yüksek gözeneklilik göstermiştir. Fd değeri (fiber kalınlığı) arttıkça HR değeri 0,2 mm seviyesinde iskele gözenekliliği düşmüştür (Şekil c) ve d)).



Şekil 7.6. Değişken HR, SP ve LP değerlerine göre Gözeneklilik ve E hesaplamaları sonucu. Tüm şekillerde, HR: 200 µm, 300 µm, 500 µm ve 1 mm olarak ayarlanmıştır. Şekil a) Fd = 0,08 mm, SP = 200 µm, LP = 400 µm; şekil b) Fd = 0,1 mm, SP = 200 µm, LP = 400 µm; şekil c) Fd = 0,2 mm, SP = 300 µm, LP = 500 µm; şekil d) Fd = 0,3 mm, SP = 500 µm, LP = 700 µm

SP ve LP değerleri daha yüksek olduğunda, helis dönüşleri arasında daha fazla boşluk oluşturur, böylece daha yüksek gözeneklilik seviyelerine neden olmaktadır.

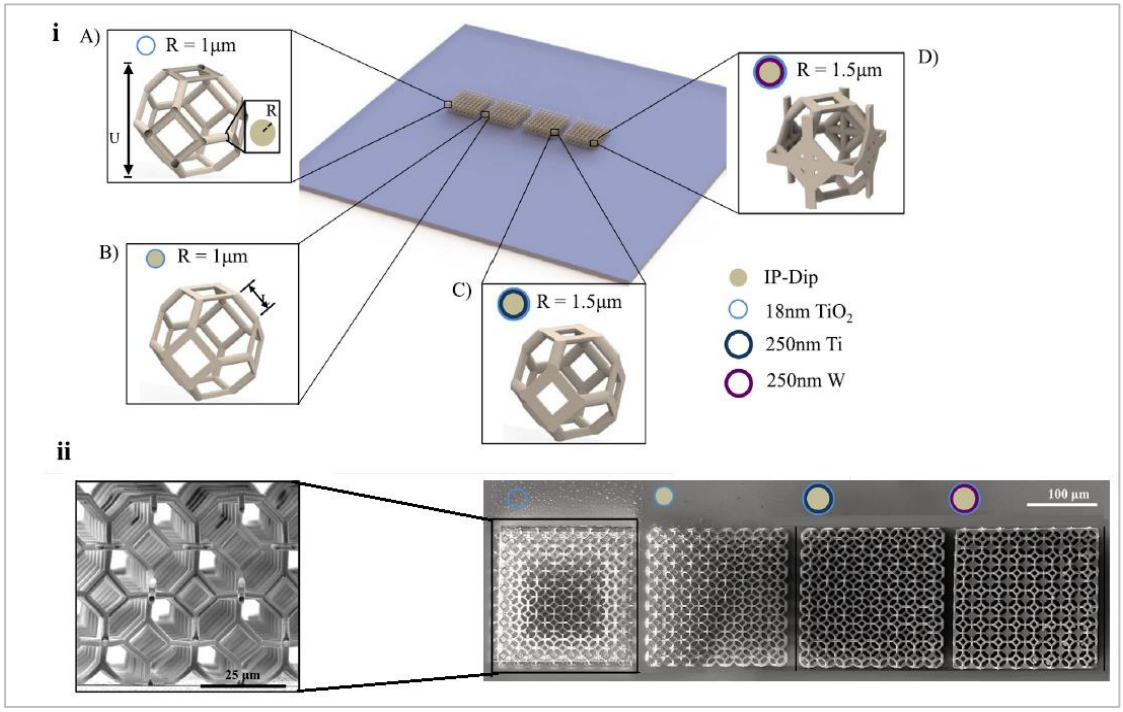
Çizelge 7.3'te farklı HR ve SP, LP değerleri için gözeneklilik düzeylerinin hesaplamaları gösterilmektedir.

Çizelge 7.3. Farklı tasarım parametrelerine göre gözeneklilik değerleri

Model	Fd	HR	SP	LP	V_{toplam}	V_{Bb}	Gözeneklilik
Birim	mm	mm	mm	mm	mm3	mm3	%
DP 1	0.08	0.2	0.2	0.4	1.07	9.81	89%
DP 2	0.08	0.2	0.3	0.6	0.75	9.81	92%
DP 3	0.08	0.2	0.3	0.3	0.99	9.81	90%
DP 4	0.08	0.3	0.2	0.4	1.63	20.90	92%
DP 5	0.08	0.3	0.3	0.6	1.13	20.90	95%
DP 6	0.08	0.3	0.3	0.3	1.50	20.90	93%
DP 7	0.08	0.5	0.2	0.4	2.74	55.53	95%
DP 8	0.08	0.5	0.3	0.6	1.89	55.53	97%
DP 9	0.08	0.5	0.3	0.3	2.51	55.53	95%
DP 10	0.08	1	0.2	0.4	5.54	214.68	97%
DP 11	0.08	1	0.3	0.6	3.78	214.68	98%
DP 12	0.08	1	0.3	0.3	5.04	214.68	98%
DP 13	0.1	0.2	0.2	0.4	1.63	10.40	84%
DP 14	0.1	0.2	0.3	0.6	1.14	10.40	89%
DP 15	0.1	0.2	0.3	0.3	1.48	10.40	86%
DP 16	0.1	0.3	0.2	0.4	2.49	21.88	89%
DP 17	0.1	0.3	0.3	0.6	1.72	21.88	92%
DP 18	0.1	0.3	0.3	0.3	2.26	21.88	90%
DP 19	0.1	0.5	0.2	0.4	4.22	57.52	93%
DP 20	0.1	0.5	0.3	0.6	2.89	57.52	95%
DP 21	0.1	0.5	0.3	0.3	3.81	57.52	93%
DP 22	0.1	1	0.2	0.4	8.58	220.54	96%
DP 23	0.1	1	0.3	0.6	5.83	220.54	97%
DP 24	0.1	1	0.3	0.3	7.70	220.54	97%
DP 25	0.2	0.2	0.3	0.5	4.35	13.69	68%
DP 26	0.2	0.2	0.3	0.6	4.13	13.69	70%
DP 27	0.2	0.2	0.3	0.3	5.41	13.69	61%
DP 28	0.2	0.3	0.3	0.5	6.73	27.23	75%
DP 29	0.2	0.3	0.3	0.6	6.38	27.23	77%
DP 30	0.2	0.3	0.3	0.3	8.39	27.23	69%
DP 31	0.2	0.5	0.3	0.5	11.55	68.12	83%
DP 32	0.2	0.5	0.3	0.6	10.93	68.12	84%
DP 33	0.2	0.5	0.3	0.3	14.42	68.12	79%
DP 34	0.2	1	0.3	0.5	23.76	251.00	91%
DP 35	0.2	1	0.3	0.6	22.43	251.00	91%
DP 36	0.2	1	0.3	0.3	29.68	251.00	88%
DP 37	0.3	0.2	0.5	0.7	5.99	17.61	66%
DP 38	0.3	0.2	0.5	0.8	5.76	17.61	67%
DP 39	0.3	0.2	0.5	0.5	6.92	17.61	61%
DP 40	0.3	0.3	0.5	0.7	9.38	33.37	72%
DP 41	0.3	0.3	0.5	0.8	9.01	33.37	73%
DP 42	0.3	0.3	0.5	0.5	10.89	33.37	67%
DP 43	0.3	0.5	0.5	0.7	16.26	79.87	80%
DP 44	0.3	0.5	0.5	0.8	15.56	79.87	81%
DP 45	0.3	0.5	0.5	0.5	18.91	79.87	76%
DP 46	0.3	1	0.5	0.7	33.71	283.50	88%

7.2. Diğer Çalışmalarla Karşılaştırmalar

3D yazdırma teknolojileri kullanılarak iskelelerin ayarlanabilir sertliği ile ilgili benzer çalışmalar yapılmıştır. Maggi ve arkadaşları, gözenek boyutları ~ 10µm olan tetrakaidekahedral periyodik geometrilere sahip 3D sert polimer iskeleleri (Resim 7.4) üretmek için 2 foton litografi kullanmıştır [67].

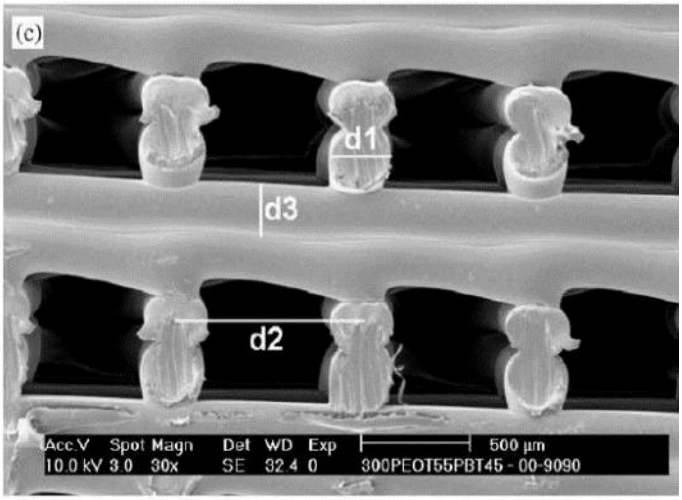


Resim 7.4. Nanokafeslerin tasarım ve imalatı. Tüm nanokafesler 1 ila 1.5 µm arasında değişen ışın çapında, (U) = 25 µm uzunluğundaki tetrakaidekahedral birim hücrelere sahiptir. i) Daire sembolleri, iskelelerin kaplama türünü gösterir. ii) Üretilen numunelerin üstten SEM görüntüsü [67]

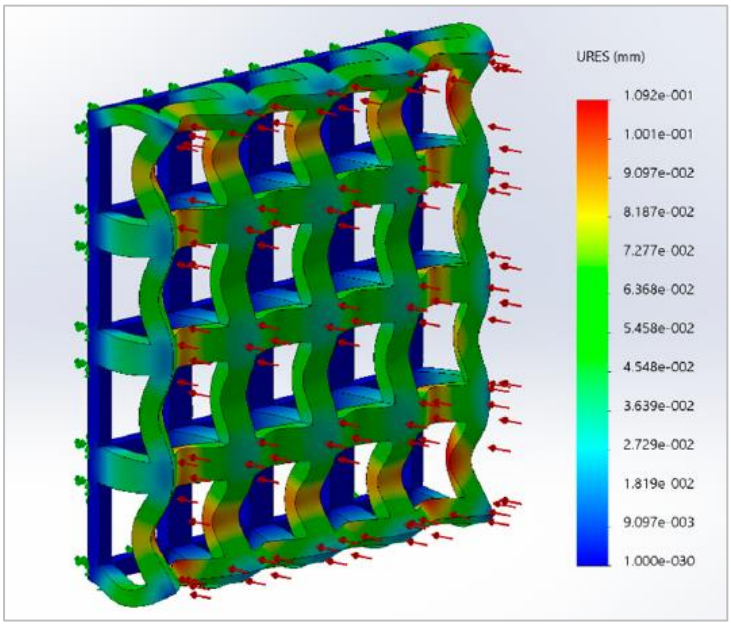
Maggi'nin araştırmasında, iskele yapılarının ayarlanabilirliği, farklı tipte kaplama ve püskürtme metodları kullanılarak başarılmıştır. Deneyler laboratuar ortamında yapılmış, böylece testler yazdırılmış iskelelerde gerçekleştirilmiştir. Her bir nanokafes tipi üzerindeki nanomekanik deneyleri, 0,7 - 100 MPa'lık sertlik aralığını ortaya koymuştur.

Moroni ve arkadaşları, bir iskelenin iç yapısında çeşitli fiber çapı, fiber aralığı ve katman kalınlığı incelemiş ve iskelenin genel gözenekliliğinin değişmesi nedeniyle mekanik özelliklerin değiştiğini bulmuşlardır. Fiber oryantasyonu veya yazdırma açısı da dikkate alınması gereken parametrelerdir. Resim 7.5'te gösterildiği üzere, gözenek geometrisi fiber

çapı ve aralığı (d1 ve d2) ve katman kalınlığı (d3) ile tanımlanmıştır. Fiber çapının azalması ve katman kalınlığının azalması, gözenek yüksekliğinin azalmasına neden olmuştur. Benzer şekilde, fiber aralığının azalması, gözenek genişliğinin azalmasına yol açmaktadır. Gözenek yüksekliği esasen katman kalınlığı ile tanımlanırken, gözenek genişliği fiber aralığı ile fiber çapı arasındaki fark ile tanımlanmıştır. Yazdırma hızının (V) azalması, iskelenin gözenekliliğinin azalmasına neden olan fiber çapının artmasına neden olmuştur [65].



Resim 7.5. İskele SEM mikrografisinin kesiti, 0 – 90º mimari. Fiber çapı ve aralığı (d1 ve d2) ve katman kalınlığı (d3) [65]



Resim 7.6. İskelenin çekme dayanımı altındaki yapısal simülasyon sonuçları (gözeneklilik = 80%, gözenek kenarı uzunluğu p = 200 µm ve fiber kalınlığı d = 80 µm) [66]

Vijayavenkataraman ve arkadaşları, birim hücre gözeneklerinin yan uzunluğu 200 µm'de sabitlenmiş 16 birim hücreli tek katmanlı iskeleyi incelemişlerdir; fiber genişliği, 10 µm'lik adımlarla 50 ila 100 µm arasında değiştirilmiştir ve gözeneklilik değerleri % 70, % 80 ve % 90 olarak belirlenmiştir. Hesaplamalar için Solidworks analiz ve tasarım yazılımını kullanmışlardır. Elastisite modülü hesaplamak için, iskelenin bir tarafına tekdüze bir yer değiştirme (Resim 7.6) uygulanmıştır [66].

Vijayavenkataraman ve arkadaşları, gözenekliliğin, katman sayısının, birim hücre sayısının ve malzeme seçiminin iskelenin sertliği üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlar, kök hücrelerin çeşitli soylara farklılaşmasını belirlemek için hangi parametrelerin kullanılması gerektiğini göstermiştir.

Bu tezde yapılan çalışmalar, Moroni ve Vijayavenkataraman'ın, fiber çapı, gözeneklilik ve katman konfigürasyonunun etkilerinin incelenmesi için yürüttüğü çalışmalarla paraleldir. Benzer bir şekilde, analiz sonuçları, iskelenin gözenekliliğini ve mekanik sertliğini aynı parametrik korelasyonların sağladığını göstermiştir.

8. SONUÇ

FEA açısından, tasarlanan iskeleler gerçek ortamda yüksek derecede tekrarlanabilir olmalı ve gözenek konfigürasyonu kontrol edilebilir olmalıdır. Geleneksel imalat teknikleriyle elde edilen iskeleler, gözenek konfigürasyonunun tam kontrolünden yoksundur ve bu nedenle aynı gözenek ağının tekrar üretilebilmesinden yoksundur.

- Elektrospinleme, donma kurutma gibi geleneksel üretim teknikleri, oluşturulan her iskelede aynı mimariyi ve gözenek ağını üretmez, bu yüzden standardizasyon sağlanamamaktadır.
- SLS ve LIFT gibi 3D biyoyazdırma teknikleri, hücre canlılığını etkilemeleri ve ısıya dayanıklı biyomateryallerin az olması nedeniyle biyomateryaller için uygun değildir.
- Ekstrüzyon yazdırma çok çeşitli biyomalzemelere sahiptir ve karmaşık CAD tasarımlarının üretimi levha laminasyonu ve geleneksel biyoyazdırma tekniklerine kıyasla daha kolaydır.

Bu çalışma, özel olarak tasarlanmış doku mühendisliği uygulamaları için mekanik gereksinimleri yerine getirmek amacıyla 3D yazdırılan iskelelerin nasıl ayarlanabileceğini göstermiştir. FEA, işlenen tüm iskeleler için fiber çapı, fiber aralığı ve katman kalınlığı değerleri arasında önemli bir tutarlılık olduğunu ortaya koymuştur.

- Gözeneklilik yüzdesinin adım aralıklarının ve helis yarıçapının değiştirilmesi ile değiştiği saptanmıştır. Gözlenen en düşük gözeneklilik SP = LP olduğunda, % 61'dir (DP 27 ve DP 39). Helis yarıçapının fiber çapına eşit veya daha küçük olması, kendi içinde kesişen geometri yaratması nedeniyle, düşük gözeneklilik seviyelerine neden olmaktadır.
- Fiber çapının azalması ve katman kalınlığının azalması, gözenek yüzdesinin azalmasına neden olmuştur.
- Helis yarıçapının fiber çapına eşit veya daha küçük olduğu tasarım noktalarında elastisite modül en yüksek değerleri vermiştir (DP 37, DP 38, DP 39, DP 40, DP 41, DP 25, DP 26).

- Bu tasarımda, en az % 90 gözeneklilik seviyesine sahip olmak için, helis yarıçapı fiber çapının en az 2 katı olmalıdır (DP 34, DP 35). % 90'dan fazla gözeneklilik oranına sahip tasarım noktalarında, helis yarıçapı fiber çapının 2 katından fazladır.
- SP ve LP değerleri daha yüksek olduğunda, helis dönüşleri arasında daha fazla boşluk oluşturmaktadır, böylece daha yüksek gözeneklilik seviyeleri sağlanabilir.
- Adım değerlerinin uzun olduğu yerlerde daha düşük elastisite modülü değerleri elde edilmiştir. Buna göre iskeledeki adım aralıkları ayarlanarak farklı katmanlarda farklı sertlik seviyeleri elde edilebilmektedir.
- Nodal noktalarda ölçülen kuvvet uygulanan alan (Y = 2,6 mm olduğu zaman), E hesaplamalarında farklılıklara neden olmuştur. Helis şeklinin adım değerlerine göre değişmesinden dolayı, dönüşün konumu belirli bir noktadaki kuvvet uygulanan alanı değiştirmektedir.
- Birim hücreler arası düzenli gözeneklerin olması hücrelerin birbirleri arasındaki bağlantıyı ve geçirgenliği gösterir. Sonuçlarda elde edilen yüksek geçirgenlik, doku mühendisliğinde önemli olan taşıma ihtiyacını sağlar niteliktedir.

Kök hücrelerin farklılaşmasını istenen soya yönlendirebilmek için ayarlanabilir sertlikte 3D iskelelere sahip olma ihtiyacı bulunmaktadır. Bu çalışma, 3D yazdırılan PLLA polimer iskelelerinin mekanik özelliklerinin, özel olarak tasarlanmış doku mühendisliği uygulamaları için nasıl ayarlanabileceğini göstermektedir. Ayarlamaların, sadece gözenekliliğe değil, aynı zamanda fiber kalınlığına ve adım değerlerine de bağlı olduğu gösterilmiştir. İskele mimarisi biyolojik açıdan önemlidir, çünkü kemik, kıkırdak ve osteokondral dokular için gerekli olan çok çeşitli elastisite modülü değerleri iskele sayesinde elde edilir. 3D biyoyazdırma cihazları, tekrarlanabilirlik ve esnekliğe sahip yapıları üretebilir ve farklı mimari ve geometrik konfigürasyonlar açısından çok çeşitli çözümler sunar.

KAYNAKLAR

1. Gu, B. K., Choi, D. J., Park, S. J., Kim, M. S., Kang, C. M., & Kim, C. H. (2016). 3-dimensional bioprinting for tissue engineering applications. *Biomater Res, 20*, 8.

2. Meyer, U. (2009). The History of Tissue Engineering and Regenerative Medicine in Perspective. In U. Meyer, J. Handschel, H. P. Wiesmann, & T. Meyer (Eds.), *Fundamentals of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 5-12.

3. Vacanti, C. A. (2006). The history of tissue engineering. *Journal of Cellular and Molecular Medicine, 10*(3), 569-576.

4. İnternet: Cornini, G. (Kasım, 2017). The Healing of Justinian by Saint Cosmas and Saint Damian. Web: https://it.wikipedia.org/wiki/Guarigione_del_diacono_Giustiniano adresinden 1 Mart 2019'da alınmıştır.

5. An, J., Teoh, J. E. M., Suntornnond, R., & Chua, C. K. (2015). Design and 3D Printing of Scaffolds and Tissues. *Engineering, 1*(2), 261-268.

6. Khang, G., Kim, M. S., & Lee, H. B. (2012). Introduction *A Manual for Biomaterials/Scaffold Fabrication Technology*: WORLD SCIENTIFIC, pp. 1-12.

7. Bryant, S. J., & Anseth, K. S. (2003). Controlling the spatial distribution of ECM components in degradable PEG hydrogels for tissue engineering cartilage. *Journal of Biomedical Materials Research Part A, 64A*(1), 70-79.

8. Houtman, J. J. (2016). 3D Bioprinting. A New Dimension in Tissue Engineering. *Horizons in Bioscience*, 2.

9. Melchels, F. P. W., Domingos, M. A. N., Klein, T. J., Malda, J., Bartolo, P. J., & Hutmacher, D. W. (2012). Additive manufacturing of tissues and organs. *Progress in Polymer Science, 37*(8), 1079-1104.

10. Murphy, S. V., & Atala, A. (2014). 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol, 32*(8), 12.

11. Eisenbarth, E. (2007). Biomaterials for Tissue Engineering. *Advanced Engineering Materials, 9*(12), 1051-1060.

12. Hendrikson, W. J., van Blitterswijk, C. A., Rouwkema, J., & Moroni, L. (2017). The Use of Finite Element Analyses to Design and Fabricate Three-Dimensional Scaffolds for Skeletal Tissue Engineering. *Front Bioeng Biotechnol, 5*, 30.

13. Dhandayuthapani, B., Yoshida, Y., Maekawa, T., & Kumar, D. S. (2011). Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review. *International Journal of Polymer Science*, 1-19.

14. O'Brien, F. J. (2011). Biomaterials and scaffolds for tissue engineering. *Materials Today, 14*(3), 88-95.

15. Wolf, M. T., Dearth, C. L., Sonnenberg, S. B., Loboa, E. G., & Badylak, S. F. (2015). Naturally derived and synthetic scaffolds for skeletal muscle reconstruction. *Adv Drug Deliv Rev*, *84*, 208-221.

16. Jessop, Z. M., Al-Himdani, S., Clement, M., & Whitaker, I. S. (2015). The Challenge for Reconstructive Surgeons in the Twenty-First Century: Manufacturing Tissue-Engineered Solutions. *Front Surg*, *2*, 52.

17. İnternet: Leckart, S. (2013). How 3-D Printing Body Parts Will Revolutionize Medicine. *Popular Science,* (August 2013). Web: http://www.popsci.com/science/article/2013-07/how-3-d-printing-body-parts-will-revolutionize-medicine adresinden 1 Mart 2019'da alınmıştır.

18. Chen, V. J., & Peter, X. M. (2006). Polymer Phase Separation. In P. X. Ma & J. Elisseeff (Eds.), *Scaffolding in Tissue Engineering*: Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, NY, pp. 125-136.

19. Chu, T.-M. G. (2006). Solid Freeform Fabrication of Tissue Engineering Scaffolds. In P. X. Ma & J. Elisseeff (Eds.), *Scaffolding in Tissue Engineering*: Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, NY, pp. 139-153

20. Chen, A. A., Tsang, V. L., Albrecht, D. R., & Bhatia, S. N. (2007). 3-D Fabrication Technology for Tissue Engineering. *BioMEMS and Biomedical Nanotechnology*, 23-38.

21. Sun, W., Darling, A., Starly, B., & Nam, J. (2004). Computer Aided Tissue Engineering: Overview, Scope and Challenges. *Biotechnology Applied Biochemistry*, 29-47.

22. Tasoglu, S., & Demirci, U. (2013). Bioprinting for stem cell research. *Trends Biotechnol*, *31*(1), 10-19.

23. Bajaj, P., Schweller, R. M., Khademhosseini, A., West, J. L., & Bashir, R. (2014). 3D Biofabrication Strategies for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Annual Review of Biomedical Engineering*, *16*(1), 247-276.

24. Abdelaal, O. A., & Darwish, S. M. (2011). Fabrication of Tissue Engineering Scaffolds Using Rapid Prototyping Techniques. *International Journal of Mechanical, Aerospace, Industrial, Mechatronic and Manufacturing Engineering*, 2317-2325.

25. Guillemot, F., Souquet, A., Catros, S., Guillotin, B., Lopez, J., Faucon, M., . . . Amedee, J. (2010). High-throughput laser printing of cells and biomaterials for tissue engineering. *Acta Biomater*, *6*(7), 6.

26. Koch, L., Kuhn, S., Sorg, H., Gruene, M., Schlie, S., Gaebel, R., . . . Chichkov, B. (2010). Laser printing of skin cells and human stem cells. *Tissue Eng Part C Methods*, *16*(5), 7.

27. İnternet: Paschotta, D. R. (2017). YAG lasers, *Encyclopedia of Laser Physics and Technology*. Web: https://www.rp-photonics.com/yag_lasers.html adresinden 1 Kasım 2018'de alınmıştır.

28. Ozbolat, I. T. (2017). *3D Bioprinting : fundamentals, principles and applications*. London: Elsevier.

29. Hopp, B., Smausz, T., Szabó, G., Kolozsvári, L., Kafetzopoulos, D., Fotakis, C., & Nógrádi, A. (2012). Femtosecond laser printing of living cells using absorbing film-assisted laser-induced forward transfer. *Optical Engineering, 51*(1), pp. 014302-014306.

30. Piqué, A., Auyeung, R. C. Y., Kim, H., Charipar, N. A., & Mathews, S. A. (2016). Laser 3D micro-manufacturing. *Journal of Physics D: Applied Physics, 49*(22), 24.

31. Dababneh, A. B., & Ozbolat, I. T. (2014). Bioprinting Technology: A Current State-of-the-Art Review. *Journal of Manufacturing Science and Engineering - Transactions of ASME, 136*(6).

32. Duocastella, M., Fernández-Pradas, J. M., Domínguez, J., Serra, P., & Morenza, J. L. (2008). Printing biological solutions through laser-induced forward transfer. *Applied Physics A, 93*(4), 941-945.

33. Larson, C., & Shepherd, R. (2016). 3D Bioprinting Technologies for Cellular Engineering. 69-89.

34. Salem, A. K., & Leong, K. W. (2006). Polymeric Scaffolds for Gene Delivery and Regenerative Medicine. In P. X. Ma & J. Elisseeff (Eds.), *Scaffolding in Tissue Engineering*: Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, NY, pp. 317-334.

35. Turunen, S., Melchels, F., W Grijpma, D., & Kellomäki, M. (2008). *A review of rapid prototyping techniques for tissue engineering purposes*, 40(4), pp.268-280.

36. Sing, S. L., An, J., Yeong, W. Y., & Wiria, F. E. (2016). Laser and electron-beam powder-bed additive manufacturing of metallic implants: A review on processes, materials and designs. *Journal of Orthopaedic Research, 34*(3), 369 - 385.

37. Selimis, A., & Farsari, M. (2016). Laser-Based 3D Printing and Surface Texturing. 111-136.

38. Do, A. V., Khorsand, B., Geary, S. M., & Salem, A. K. (2015). 3D Printing of Scaffolds for Tissue Regeneration Applications. *Adv Healthc Mater, 4*(12), 1742-1762.

39. Bhardwaj, N., & Kundu, S. C. (2010). Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances, 28*(3), 325-347.

40. Jun, I., Han, H. S., Edwards, J. R., & Jeon, H. (2018). Electrospun Fibrous Scaffolds for Tissue Engineering: Viewpoints on Architecture and Fabrication. *Int J Mol Sci, 19*(3).

41. Rodriguez-Vazquez, M., Vega-Ruiz, B., Ramos-Zuniga, R., Saldana-Koppel, D. A., & Quinones-Olvera, L. F. (2015). *Chitosan and Its Potential Use as a Scaffold for Tissue Engineering in Regenerative Medicine*, 2015, 15.

42. Noh, D.-Y., An, Y.-H., Jo, I.-H., Koh, Y.-H., & Kim, H.-E. (2016). Synthesis of nanofibrous gelatin/silica bioglass composite microspheres using emulsion coupled

with thermally induced phase separation. *Materials Science and Engineering: C, 62*, 678-685.

43. Malda, J., Woodfield, T. B., van der Vloodt, F., Wilson, C., Martens, D. E., Tramper, J., Riesle, J. (2005). The effect of PEGT/PBT scaffold architecture on the composition of tissue engineered cartilage. *Biomaterials, 26*(1), 63-72.

44. Chen, G., & Kawazoe, N. (2016). Preparation of polymer-based porous scaffolds for tissue engineering. 105-125.

45. West, J. L. (2006). Bioactive Hydrogels: Mimicking the ECM with Synthetic Materials. In P. X. Ma & J. Elisseeff (Eds.), *Scaffolding in Tissue Engineering*: Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, NY, pp. 275-282

46. Kaiser, M., Huber, R., & Ehrmann, M. (2013). Proteolysis A2 - Maloy, Stanley. In K. Hughes (Ed.), *Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)*. San Diego: Academic Press, 501-503

47. Zhang, Y., Tse, C., Rouholamin, D., & Smith, P. (2012). Scaffolds for tissue engineering produced by inkjet printing. *Open Engineering, 2*(3).

48. Thavornyutikarn, B., Chantarapanich, N., Sitthiseripratip, K., Thouas, G. A., & Chen, Q. (2014). Bone tissue engineering scaffolding: computer-aided scaffolding techniques. *Prog Biomater, 3*, 61-102.

49. Alaribe, F. N., Manoto, S. L., & Motaung, S. C. K. M. (2016). Scaffolds from biomaterials: advantages and limitations in bone and tissue engineering. *Biologia, 71*(4).

50. Sensharma, P., Madhumathi, G., Jayant, R. D., & Jaiswal, A. K. (2017). Biomaterials and cells for neural tissue engineering: Current choices. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 77*, 1302-1315.

51. Sun, W., Starly, B., Darling, A., & Gomez, C. (2004). Computer-aided tissue engineering: application to biomimetic modelling and design of tissue scaffolds. *Biotechnol Appl Biochem, 39*(Pt 1), 49-58.

52. Yang, Y., & Wimpenny, I. (2016). Image analysis and quantification of tissue scaffolds. 201-223.

53. Breuls, R. G. M., Jiya, T. U., & Smit, T. H. (2008). Scaffold Stiffness Influences Cell Behavior: Opportunities for Skeletal Tissue Engineering. *The Open Orthopaedics Journal, 2*, 103-109.

54. Peter, X. M., & Elisseeff, J. (2006). *Scaffolding in Tissue Engineering* (First edition). Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, NY, 656.

55. Chan, B. P., & Leong, K. W. (2008). Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *European Spine Journal, 17*(Suppl 4), 467-479.

56. Nooeaid, P., Salih, V., Beier, J. P., & Boccaccini, A. R. (2012). Osteochondral tissue engineering: scaffolds, stem cells and applications. *Journal of Cellular and Molecular Medicine, 16*(10), 2247-2270.

57. Rawson, S. D. (2012). *Development of A Finite Element Model for the Study of Tendon Repair Techniques.* (Master of Philosophy (MPhil) Thesis), The University of Manchester, Manchester, UK.

58. Sahoo, S., Cho-Hong, J. G., & Siew-Lok, T. (2007). Development of hybrid polymer scaffolds for potential applications in ligament and tendon tissue engineering. *Biomed Mater, 2*(3), 169-173.

59. Miller, K., Hsu, J. E., & Soslowsky, L. J. (2011). Materials in Tendon and Ligament Repair. 257-279.

60. Boomer, L., Liu, Y., Mahler, N., Johnson, J., Zak, K., Nelson, T., . . . Besner, G. E. (2014). Scaffolding for challenging environments: materials selection for tissue engineered intestine. *J Biomed Mater Res A, 102*(11), 3795-3802.

61. Eawwiboonthanakit, N., Jaafar, M., Hamid, Z. A. A., Todo, M., & Lila, B. (2014). Tensile Properties of Poly(L-Lactic) Acid(PLLA) Blends. *Advanced Materials Research, 1024*, 179-183.

62. Inui, A., Kokubu, T., Makino, T., Nagura, I., Toyokawa, N., Sakata, R., . . . Kurosaka, M. (2010). Potency of double-layered poly L-lactic acid scaffold in tissue engineering of tendon tissue. *Int Orthop, 34*(8), 1327-1332.

63. Melchels, F. P. W., Bertoldi, K., Gabbrielli, R., Velders, A. H., Feijen, J., & Grijpma, D. W. (2010). Mathematically defined tissue engineering scaffold architectures prepared by stereolithography. *Biomaterials, 31*(27), 6909-6916.

64. Budynas, R. G., Nisbett, J. K., & Shigley, J. E. (2015). *Shigley's mechanical engineering design* (Tenth edition). McGraw-Hill Education, USA, 1010.

65. Moroni, L., de Wijn, J. R., & van Blitterswijk, C. A. (2006). 3D fiber-deposited scaffolds for tissue engineering: Influence of pores geometry and architecture on dynamic mechanical properties. *Biomaterials, 27*(7), 974-985.

66. Vijayavenkataraman, S., Shuo, Z., Fuh, J. Y. H., & Lu, W. F. (2017). Design of Three-Dimensional Scaffolds with Tunable Matrix Stiffness for Directing Stem Cell Lineage Specification: An In Silico Study. *Bioengineering (Basel), 4*(3).

67. Maggi, A., Li, H., & Greer, J. R. (2017). Three-dimensional nano-architected scaffolds with tunable stiffness for efficient bone tissue growth. *Acta Biomaterialia, 63*, 294-305.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler



Soyadı, adı : ÇOTUR, Beka

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : 1980, Ankara

Medeni hali : Bekar

Telefon : 0 (507) 859 26 59

e-mail : bekacotur@gazi.edu.tr

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Endüstriyel Tasarım Mühendisliği	Devam ediyor
Lisans	Bilkent Üniversitesi / İktisat	2001
Lise	Özel Arı Koleji	1997

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2016-Halen	Innova Bilişim Teknolojileri	İş Analizi Danışmanı

Yabancı Dil

İngilizce, Almanca, İtalyanca, İspanyolca

Yayınlar

Çotur, B , Sezer, H . (2017). Doku Mühendisliğinde Doku İskelesi Tasarımında Kullanılan Güncel 3 Boyutlu Yazdırma Teknolojileri, Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 5 (2), 548-564.

Sezer, H. K., Çotur, B , (2017). Bio-fabrication via Laser-Induced Forward Transfer, Fırat S., Şahin İ., Fındık T., Yıldırım S., Gülsün M. (Editörler), *1st International Turkish World Engineering and Science Congress* (1136 – 1142). Antalya, Türkiye

Hobiler

Sulu boya resim, çello, gezi



GAZİ GELECEKTİR...