



Tıp alanında üç boyutlu baskı uygulamalarındaki gelişmeler

Developments in the application of three dimensional printing in the medical field

Vasif Hasırcı^{1,2,4}, Deniz Yücel^{2,3}, Halime Kenar^{1,2}, Hilal Selamet^{1,2}, Deniz Başöz^{2,5}, Nurdan Çam^{2,5}, Kübra Kıratlı^{2,6}

¹Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Tıp Mühendisliği Bölümü, İstanbul

²Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Biyomalzeme Uygulama ve Araştırma Merkezi, İstanbul

³Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ataşehir İstanbul,

⁴Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyomalzeme ve Doku Mühendisliği Merkezi, Ankara

⁵Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Medikal Biyoteknoloji Bölümü, İstanbul

⁶Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Kocaeli

Biyomalzeme alanı, sonradan ona katılan doku mühendisliğiyle birlikte sağlık alanında halkın yaşam kalitesine çok önemli katkılar yapmaktadır. Bu alanlarda geliştirilen ve insan vücuduna yerleştirilen medikal cihazların (yapay dokular, implantlar ve benzeri) malzeme özellikleri kadar biçimleri ve vücutta defekt bölgelerine şekil olarak uyumları da çok önemlidir çünkü defektteki doku kaybı yerine gelirken ya da implant yerine yerleşir ve çevresi yeni oluşan doku ile kaplanırken arada önemli boşlukların kalmaması gerekir. Buna dikkat edilemezse doku rejenerasyonu yetersiz olabilir ya da implant yerinde kararlı bir biçimde duramayabilir. Yeni gelişen teknolojilerden olan ve biyomalzeme alanına da hızla uydurulmaya çalışılan üç boyutlu (3B) basım tam da bu olası sorunu gidermeye yöneliktir çünkü ürün hem iç hem de dış mimarisıyla ölçümlere göre hassas bir biçimde üretilmektedir. Bu yolla hastaların yaşam döngüleri uyumsuzluklardan kaynaklanan sorunlardan dolayı bozulmaz ve kesintiye uğramaz. Bu derlemede çeşitli dental, ortopedik ve oftalmolojik örneklerle bu konuda bilgi aktarılmaktadır.

Anahtar sözcükler: 3B basım; biyomalzeme; doku mühendisliği; ortopedi; oftalmoloji; dental

In the medical field, Biomaterials along with the contribution of the tissue engineering, makes significant contributions to the quality of life. The form and the proper fit of the medical devices developed (artificial tissues, implants, et cetera) and placed in the human body are as important as their materials because while the tissue is regenerating and when the implant gets covered with the newly formed tissue large gaps between the tissue and the implants are not desirable. If attention is not paid to this, tissue regeneration may not take place satisfactorily or the implant may not be securely fitted at the site of application. One of the newly developed technologies is three dimensional (3D) printing or additive manufacturing and is being rapidly adapted to the biomaterials field with just the correct approach to prevent this potential problem because the inner and outer architecture of the 3D printed products mimic the original very accurately. Through this method the life cycle of the patients are not disturbed by problems arising from product misfits. In this review information along with examples from dental, orthopedic and ophthalmologic fields are presented.

Key words: 3D printing; biomaterials; tissue engineering; orthopedics; ophthalmology; dental

Üç boyutlu (3B) basım, tıp alanına diğer alanlardan alınmış, iyi bir uyum sağlayarak tıp alanında çok önemli bir uygulama haline gelmiştir.

Bu yöntem, bir ürünü üretmek için var olan bir örnekten yararlanıp onun aynısını ya da değişik boyutlusunu ya da hiç olmayan bir ürünü bilgisayarda tasarlayarak üretmek olarak tanımlanabilir. Burada orijinal ürün varsa onun ayrıntılı bir biçimde manyetik rezonans (MR), röntgen (grafi) ya da bilgisayarlı tomografi (BT) ile kopyalanması gerekmektedir. Bir sonraki adım, ürün çok ince katmanlar halinde (aşağıdan yukarıya yöntemi) ve üst üste yerleştirilerek elde etmektir. Bu süreçte kullanılan malzeme ve cihazlar üretilecek örneğin taşınması gereken özelliklere göre seçilir. Örneğin; yük taşınması beklenen bir cihaz ya da aracı metalden ya da sert plastiklerden yapmak ve bunu yaparken de

İletişim / Contact: Prof. Dr. Vasif Hasırcı • **E-posta / E-mail:** vasif.hasirci@acibadem.edu.tr

ORCID ID: Vasif Hasırcı, 0000-0002-3698-8861 • Deniz Yücel, 0000-0002-1373-5183 • Halime Kenar, 0000-0003-0433-5513

• Hilal Selamet, 0000-0001-6662-6901 • Deniz Başöz, 0000-0002-4344-4053 • Nurdan Çam, 0000-0003-2626-3370 • Kübra Kıratlı, 0000-0001-8855-0434

Geliş / Received: 07 Ekim 2021 • **Kabul / Accepted:** 19 Aralık 2021

basma cihazının çıkabildiği sıcaklık, basım kontrol parametreleri, yazılım, basımın sonrasında soğuma hızı gibi özellikler de dikkate alınmalıdır.

Üç boyutlu basımın kullanım alanları aşağıdaki gibi sıralanabilir: (1) Ameliyata hazırlanmada ve uygulama sırasında yardımcı olarak, (2) doku ve organları gerçek boyutlarında ve çok ayrıntılı olarak üretip eğitimlerde model olarak, (3) ameliyat ortamında ya da ameliyat sırasında gerekebilecek bazı ameliyat araçlarının gerektiği anda ve o ortamın özel koşullarına uygun olarak üretilmesi ve son olarak en önemlisi de (4) hastaya özel implantların üretimi.

Bu alanların her birinin malzeme miktar ve özellik gereksinimi farklıdır ve bu nedenle cihaz tip ve özellikleri de farklıdır. Örneğin; model olacak ürün için sadece renk ve belki yumuşaklık önemliyken implant olarak kullanılacak bir ürünün malzemeleri biyouyumlu olmanın yanında içine yerleşeceği dokunun özelliklerine bağlı olarak sert ya da yumuşak, esnek, hidrofilik (su seven) ya da hidrofobik, saydam ya da ışık geçirmez gibi farklı mekanik ve fizikokimyasal özelliklere sahip olması gereklidir. Ameliyatta kolaylık açısından kullanılacak delici cihazlar (matkap) için implantı kaydırmadan, doğru açıda yerleştirmeye yarayacak kılavuzlar oluşturulabilirken eğitimde model olarak organların iç ve dış yapıları üretilebilmektedir. Bu noktanın bir adım ilerisi olan ameliyat ortamlarında 3B basım cihazlarının çalışma ortamlarının kurulmasıyla klinik uygulama ortamında (ameliyathane) üretime geçilme aşamasına da gelinmiştir. Bunlara ek olarak dış sinyallere (örneğin; ışık, pH, sıcaklık ve benzeri) tepki vererek kendi biçim ya da başka özelliklerini değiştirebilen 4B adı verilen ürünlerin de basımı günümüzde önemli bir yer tutmaktadır. Dünyamızda bunlar olurken uzayda yeni yaşam alanları oluşturulması çabalarında da tedavi ve başka amaçlarla 3B basımla ürünlerin üretilmesine de artık başlanmıştır. Bilim kurgu filmlerini yansıtırçasına hasta vücuduna doğrudan doku basımı yapılabilmesi de (örneğin; yapay deri basımıyla yara tedavisi) artık gündeme gelmiştir.

Günümüz 3B basılı ürünlerinde aranan önemli bir özellik biyobozunurluktur. Bu, implantın vücutta hastanın yaşamı süresince kalmaması ve zamanla eriyip kaybolarak ikinci bir ameliyatla çıkarılma gerektirmemesi anlamına gelir. Bilindiği gibi özellikle metalik implantlar vücutta başlangıç özelliklerini son güne kadar koruma üzerine tasarlandıkları için paslanmayan ve mekanik özelliklerini yitirmeyen alaşımlardan yapılmaktadır ancak bu tüm uygulamalar için uygun olmadığı gibi implanttan ya da hasta vücudundan kaynaklanan sorunlarda çıkarılmaları gerektiğinde önemli zorluklara yol açmaktadır. Ayrıca, sürekli bir yabancı malzemenin

insan vücudunda kalmasının da getirdiği doku özelliklerinin gerilemesi gibi sorunlar da bulunmaktadır. Bu durumda işlevini gördükten ve hasarlı doku iyileştikten bir süre sonra vücutta tamamıyla yok olan implantlar bu sorunları giderebilmektedir. Bu nedenle günümüzde biyobozunur metaller (örneğin; magnezyum kökenliler) ve polimerler (poliesterler ve biyolojik kökenli kollajen ve benzeri) bu amaçla geliştirilmektedirler. Bu uygulamalarda en önemli noktalar implantların yok oluş süresinin doku iyileşmesine paralel olması ve bu eriyiş sırasında ortama zararlı iyon ve tanecikler bırakmamalarının sağlanmasıdır. Burada seçimler doğru yapıldıktan sonra önemli bir yaşam kalitesi ilerlemesi sağlanabilmektedir.

ÜÇ BOYUTLU BASIM YÖNTEMLERİ

'Eklemeli imalat' ya da 'hızlı prototipleme' olarak da bilinen 3B basım yöntemi ile dijital ortamdaki tasarımlarına göre istenilen mikro yapıya sahip katmanlar oluşturulup bunların üst üste eklenmesi sonucu karmaşık bir iç geometriye sahip sert doku implantları, aşağıdan yukarı yaklaşımı ile yüksek doğrulukta ve çözünürlükte üretilebilmektedir. Çeşitli malzemelerin kullanılmasına olanak sağlayan farklı çalışma prensipleri olan 3B basım yöntem ve teknolojileri bulunmaktadır. 3B basım yöntemleri arasında en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri eriyik yığarak modellemedir (*Fused Deposition Modeling*, FDM). Bu yöntemde filament ya da toz halindeki termoplastik polimer bir kartuş içinde ısıtılarak eritilir ve bu malzeme belli bir basınç altında lifler halinde ekstrüde edilip bir katman basılır ve bu katmanların üst üste basılmasıyla bir 3B yapı elde edilir.^[1] Ekstrüzyonda kullanılan iğne ucunun çapı, basım hızı, katmanlar arası uzaklık ve katmanların sayısı ürünün çözünürlüğünü belirlerken; katman kalınlığı, basılan liflerin kalınlığı, yönü ve birbirlerine göre açısı implantın mekanik özelliklerini etkiler. Bu yöntemle farklı termoplastik malzemeleri kullanarak eş zamanlı çoklu ekstrüzyon ile farklı özelliklere sahip katmanlardan oluşan karmaşık ürünler elde edilebilmektedir.^[2] Ayrıca kullanım kolaylığı, düşük maliyet, yüksek hızda basım, çözücü gerekmemesi ve organik çözücünün kullanılmasının oluşturabileceği olumsuz etkilerin söz konusu olmaması bu yöntemin diğer avantajlarıdır. Ancak tıbbi kullanıma uygun ve saflıkta sınırlı sayıda termoplastik polimer çeşidi bulunması ve bunların eriyiklerinin uygun akışkanlığa sahip olması gerekliliği, bu yöntemin kullanımını kısıtlayan noktalardır. Bir diğer 3B basım yöntemi olan stereolitografide (*Stereolithography*, SLA) sıvı bir fotopolimer olan reçine tabakası kullanılır ve tasarlanan geometriye göre belirlenmiş bölgelerinin ultraviyole (UV) ışık ile kürlenmesi sonucu katmanlar katılır. Platformun z-eksenindeki hareketi ile katmanlar üst üste oluşturulur. Basım bitiminde kürlenmeyen bölgelerdeki

reaksiyona girmemiş rezin, yıkanarak uzaklaştırılır ve 3B ürün elde edilir.^[1] Mekanik özellikleri arttırmak için işlemlerin sonrasında ısı uygulaması ya da tekrar foto-kürleme uygulanabilir. Ayrıca bu yöntem ile reçine sıvı haldeyken içerisine seramik tanecikleri eklenerek seramik-reçine kompoziti ürünler basmak da mümkün olmaktadır. Bu yöntem ile birden fazla örnek, aynı anda ve hızla üretilmektedir.^[2] Ayrıca UV kaynağının genişliğinin az ve kontrol edilebilir olması ile yüksek doğrulukta ve çözünürlükte (20 µm) geometriye sahip ürünler basılabilir. Ancak bu basım yönteminde kullanılacak az sayıda biyouyumlu malzeme bulunması, yöntemin implant üretiminde kullanımını kısıtlamaktadır. Ayrıca reaksiyona girmemiş monomerden kaynaklanan toksisite de bir olasılıktır. Bir başka 3B basım yöntemi ise seçici lazer sinterlemedir (*Selective Laser Sintering, SLS*). Bu teknoloji ile katman şeklinde yayılan toz halindeki malzeme bir lazer ışını ile eritilir ve birleştirme/sinterleme prensibi ile katman oluşturulur.^[3] Bir sonraki katman için yüzeyde yeni bir toz katmanı oluşturulur ve yine sinterlemeyle katmanlar üst üste biriktirilip 3B yapı elde edilir. Basım tamamlandıktan sonra sinterlenmeyen tozlar fırçalama ya da basınçlı hava ile uzaklaştırılır. Bu yöntemde termoplastik polimer, seramik ve metal tozları kullanılabilmesi, büyük boyutta ve karmaşık yapıların basılabilmesi özellikle sert doku implantlarının üretimi açısından önemlidir.^[2] Bu yöntemin diğer bir avantajı da SLA'daki gibi bir çözücü kullanılmadığından üründe organik çözücü kalma riski bulunmamaktadır. Ancak tozların formları birleşimiyle pürüzlü yüzeyler oluştuğu için düz yüzeyler elde etmek için basım sonrası cilalama işlemi uygulanması gerekir. Ayrıca sinterleme sırasında lazerin hedeflenen bölgelerin dışına da taşması nedeniyle her yeni basım için bir önceki basımdan artan tozlara %30 oranında taze toz eklenir. İleri teknolojik yaklaşımlar, artık 3B biyobasım yöntemleri ile rejeneratif tıp alanında implantların ve doku mühendisliği ürünlerinin geliştirilmesine de olanak sağlamaktadır. Üç boyutlu biyobasım yöntemleri arasında inkjet, ekstrüzyon ve lazer destekli biyobasım teknikleri bulunmaktadır.^[4] Standart doku mühendisliği yaklaşımında hücreler, doku iskeleleri üzerine ekilmekte ve bu hücrelerin 3B iskelenin içerisine göç edip çoğalması beklenmektedir. Üç boyutlu biyobasım yöntemi ile hidrojeller 3B basılarak yumuşak doku eşlenikleri üretilmektedir. Ancak bu yöntemin termoplastik malzeme kullanan yöntemlere göre avantajı ise hidrojel malzemesine hücreleri de karıştırmak yoluyla doku eşleniği basabilmesidir. Hücre ve büyüme faktörü içeren hidrojellerden oluşan biyomürekkepler (*bioink*) kullanılarak katmanların üst üste basılarak biriktirilmesi ile 3B sert doku eşleniği geliştirilebilmektedir. Bunun getirdiği en önemli avantajlardan biri, hücreler hidrojeller ile

beraber basıldığı için 3B yapıda hücreler homojen olarak dağılım gösterebilmektedir. Ayrıca biyobasım yöntemi ile farklı katmanlarda farklı hücreleri içeren gerçek dokularda (örneğin; deri) gözlenen karmaşık yapıya sahip 3B yapay dokular üretilmektedir.

ÜÇ BOYUTLU BASIMDA KULLANILAN MALZEMELER

Üç boyutlu basım teknolojileri, günümüzde biyomalzeme temelli implant geliştirmede, doku mühendisliğinde, medikal eğitim modellerinde, ameliyat planlamada ve ameliyat araçlarında yaygın olarak uygulanmaktadır. Vücut içine yerleştirilmeyecek olan ya da vücut içi ile teması olmayan medikal eğitim modelleri ve ameliyat planlama araçlarında kullanılan malzemeler hafif, kolay işlenebilir ve düşük maliyet nedeniyle daha çok polimerlerdir ve bunlarda biyouyumlu olma şartı aranmaz; renk ve sertlik daha ön plana çıkar. Buna karşın implantlarda ve vücuda yerleştirilmek üzere geliştirilen doku mühendisliği ürünlerinde biyouyumluluk, aranan birincil özelliktir. Farklı basım yöntemlerinin ve hedef uygulamanın gereksinimleri göz önünde bulundurularak 3B basımda biyomalzeme olarak metaller, polimerler, seramikler ve kompozit malzemeler kullanılabilir.

Metaller: Titanyum ve bazı alaşımları, mükemmel biyouyumluluk, yüksek güç/ağırlık oranı, daha düşük elastik modül ve yüksek paslanma direnci ile diğer metalik biyomalzemelere göre birçok avantaja sahiptir ve bundan dolayı da büyük kemik defektlerinde implant kullanılmaktadır.^[5] Tantal trabeküler metal, değişmeyen ve yapısal sürekliliği, düşük sertliği, yüksek gözenekliliği ve yüksek sürtünme katsayısı ile avantajlara sahiptir.^[6] Ancak biyobozunur olmamaları titanyum ve tantal temelli doku iskelelerinin kemik hasarı onarımında kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenle son zamanlarda biyobozunur özellik taşıyan demir alaşımları, magnezyum ve magnezyum alaşımları ilgi görmeye başlamıştır.^[7]

Polimerler: İmplant üretmek amacıyla 3B basımda kullanılan biyobozunur polimerler, doğal ve yapay polimerler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Doğal polimerler genelde polisakarit (kitosan, hyaluronik asit, aljinat, selüloz ve benzeri), protein (kollajen, fibrin, ipek fibroini, jelatin ve benzeri) olabildiği gibi, hücrelerinden arındırılmış doku kökenli hücre dışı matris (*extracellular matrix, ECM*) de olabilirler. En sık kullanılan yapay polimerler ise çeşitli poliesterler olan poli (laktik asit) (PLA), polikaprolakton (PCL) ve polihidroksibütirat (PHB)'tir. Doğal polimerler, genelde ECM öğeleri oldukları için hücre çoğalma ve farklılaşmasını desteklemede yapay polimerlere göre daha etkindirler. Buna karşın yapay polimerlerin hidrofobikliğinden kaynaklanan mekanik dayanıklılığı biyopolimerlere karşı daha üstündür ve işle-

nebilirlik açısından avantajlıdır. Üç boyutlu basımda görülen en yeni yaklaşımlarda PCL ve PLA gibi sentetik polimerler, doku iskelesi olarak basılırken bu yapıların gözenekli kısımlarına da biyomürekkep adı verilen hücre yüklü hidrojeller basılmaktadır. Hidrojeller; fibrin, kollajen, kitosan, aljinat, ECM gibi doğal polimerlerden üretilebilirken, poli(etilen glikol) (PEG), poli(vinil alkol) (PVA) veya poli(N-isopropilakrilamid) (PNIPAM) gibi yapay polimerlerden de üretilebilmektedir.^[8]

Seramikler: Seramikler, metal ve metal olmayan bileşenler içerir ve biyoyumumlulukları, yüksek mekanik dayanımları, uygun biyobozunurluk ve doğal osteoindüktif kapasiteleri nedeniyle 3B basım için de yaygın olarak kullanılmaktadır.^[9] Kalsiyum fosfattan üretilen doku iskeleleri için, hidroksiapatit [$HAp, Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$], trikalsiyum fosfat [$TCP, Ca_3(PO_4)_2$] ve biyoaktif cam günümüzde özellikle kemik rejenerasyonu ve mineralizasyonu için sıklıkla kullanılmaktadır.^[7,10]

Kompozit malzemeler: Polimer ve seramiklerin bir arada kullanıldığı kompozit malzemeler, tek tür malzeme kullanımındaki eksiklikleri gidermede etkindir. Doğal polimer kullanarak üretilen kompozit seramiklerde biyolojik performansı arttırılabilmektedir. Yapay polimer-seramik kompozitlerde ise seramiklerden kaynaklanan kırılma ve ayrıca yapay polimerlerden kaynaklanan mekanik dayanıksızlık azaltılabilmektedir. PCL/HAp, PCL/grafen, PCL/kalsiyum silikat, PLGA/HAp, PLA/HAp, Kollajen/HAp/TCP kompozit malzemeleri 3B basımda yaygın kullanılan malzemelerdendir.^[11]

DENTAL 3B BASIM UYGULAMALARI

Tıp alanındaki klasik tedaviler, yerlerini yeni teknoloji ürünlerine bırakırken aynı şey dental uygulamalarda da görülmeye başlanmıştır. Bu, özellikle defektlerin tedavisinde kullanılan çeşitli implantasyon araç ve yöntemlerinde görülmektedir. Üç boyutlu basım uygulamalarında veri elde etme yollarından bir tanesi de diş hekimliği alanında tanı amaçlı kullanılan konik ışınli bilgisayarlı tomografi cihazları ile hastadan alınan görüntülerdir. Konik ışınli bilgisayarlı tomografiler, oral ve maksillofasial durumların tanı ve tedavi planlamasında tıp alanında kullanılan bilgisayarlı tomografilere alternatif olarak ortaya çıkmıştır ve ilk kez 1999 yılında tanıtılmıştır. Üç boyutlu görüntü veren konik ışınli bilgisayarlı tomografiler ile aksiyal, sagittal ve koronal kesitlerde incelemeler yapılması mümkünken, iki boyutlu görüntü veren panoramik röntgenlerde tek yönde görüntü elde edilebilir ve bu görüntüleme tekniğinin, görüntüde anatomik yapılarda üst üste çakışma, belli bir alanın olduğundan büyük ya da küçük görülmesi ya da görüntüde bozulma gibi kısıtlamaları vardır. Başlangıçta dental implantoloji

alanında kullanılan konik ışınli bilgisayarlı tomografi cihazları günümüzde diş hekimliğinin ortodonti, ağız diş ve çene cerrahisi, endodonti, periodontoloji gibi birçok alanında 3B basımla birlikte de kullanılmaktadır (Şekil 1).^[12-14]

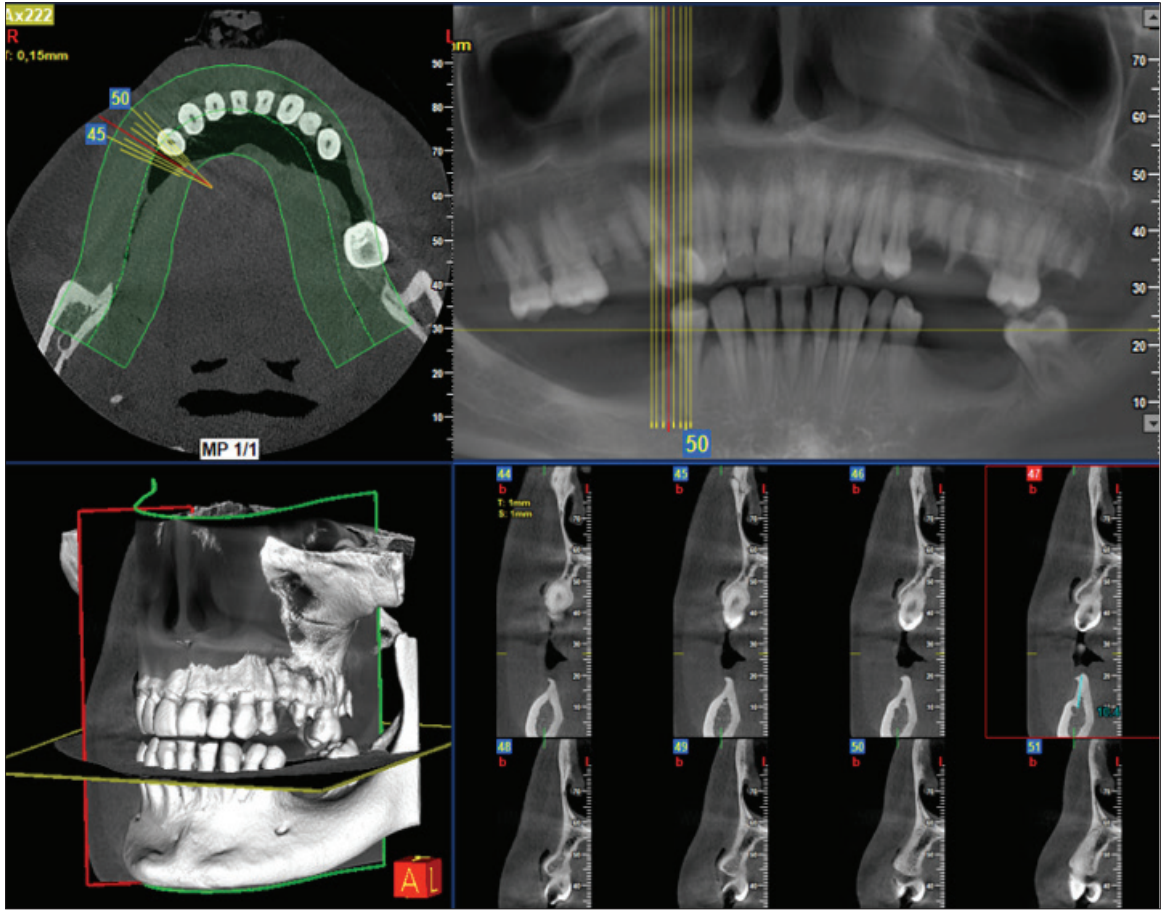
Üç boyutlu basım (3BB) uygulamalarında konik ışınli tomografi cihazı ile elde edilen verilerin işlenmesi için .DICOM uzantılı dosyalar elde edilir ve kaydedilir. Bu veriler, üç boyutlu tasarım yazılımlarında işlenerek üç boyutlu bir model elde edilir. Bu modellerin elde edilmesinde kullanılan yazılımlara *Materialise Mimics* (Materialise NV, Belçika), *3D Slicer* (www.slicer.org) ve *InVesalius* (CTI, Campinas, Brezilya) örnek verilebilir. Hastadan elde edilen anatomik modellere uygun implant tasarlamak için kullanılan yazılımlara örnek olarak ise *Materialise 3-Matic* ve *Rhinoceros* (www.rhino3d.com) verilebilir. Üç boyutlu tasarım yazılımlarında elde edilen üç boyutlu modeller .stl uzantılı dosya şeklinde kaydedilir ve 3B basım için hazır hale getirilir (Şekil 2).^[15-17]

Bu yöntemlerin kullanıldığı ve 13 hastayı kapsayan bir klinik çalışmada, diş çekimi yapılan altı hastanın, çekim soketine üç boyutlu basım ile elde edilen PCL implant yerleştirilmiş, yedi hasta ise kontrol grubu olarak kendiliğinden iyileşmeye bırakılmıştır. Çalışmanın başlangıcında ve altıncı ayda alveolar kret yüksekliği ve kemik rezorpsiyon miktarı konik ışınli dental tomografi ile değerlendirilmiştir. Çalışmada, kontrol grubuna kıyasla deney grubunda dikey yönde daha az kemik emilimi olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Histolojik incelemeler sonucunda ise her iki grupta da mineralize kemik oluşumunun gerçekleştiği görülmüştür. Böylelikle 3B basımın yararları gösterilmiştir.^[18]

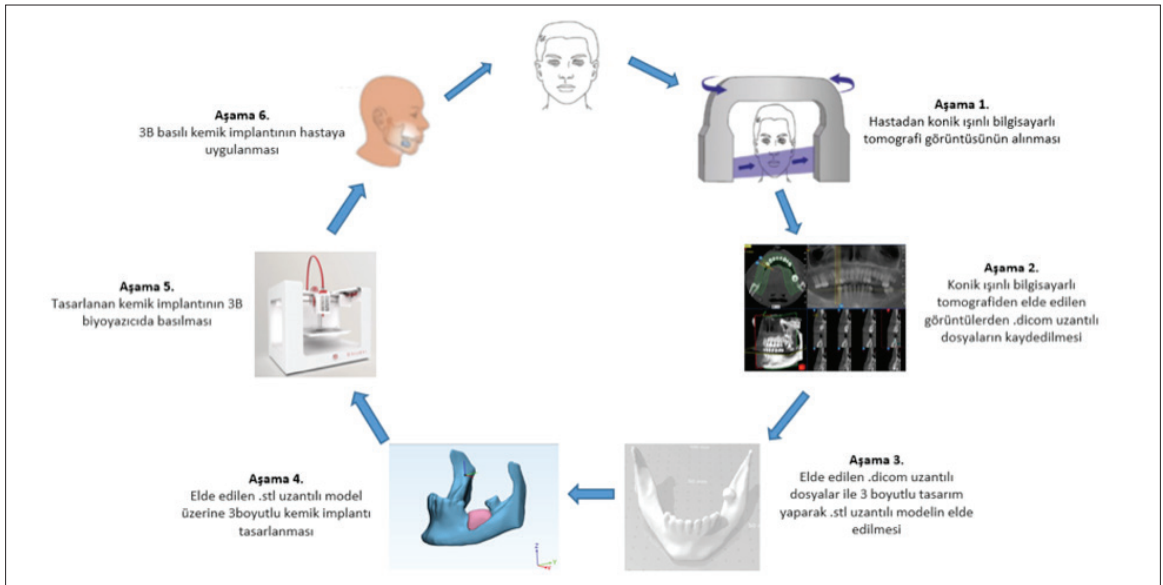
Diş hekimliğinde geleneksel alveolar kemik arttırım operasyonlarının ikinci bir cerrahi alan oluşturması ve yüksek komplikasyon riski gibi birçok dezavantajı vardır. Üç boyutlu basılı biyobozunur implantlarla gerçekleştirilen alveolar kemik arttırım işlemlerinde ise yeni bir cerrahi alan oluşturulmaz, ayrıca hastanın kemik defekti bilgisayarda üç boyutlu olarak tasarlandığı için üretilen implant defekte tam olarak uygundur. Böylelikle komplikasyon riski daha az, operasyon süresi ise oldukça kısadır. Bu nedenle 3B basım kullanılan kemik implant çalışmaları alveolar kemik arttırım operasyonları için umut vericidir.

OSTEOKONDRAL DOKU MÜHENDİSLİĞİ ÇALIŞMALARINDA 3B BASIM

Osteokondral doku, eklem hareketi sırasında oluşan yükü aktarabilme özelliğine sahip özgün çok katmanlı kompozit bir yapıdır. Farklı katmanlardan oluşan osteo-



Şekil 1. Konik ışınli bilgisayarlı tomografi görüntüsü (H. Selamet'in izni ile).



Şekil 2. Diş hekimliğinde üç boyutlu basımın işlem basamakları: Hastadan konik ışınli bilgisayarlı tomografi görüntüsünün alınması (Aşama 1), Konik ışınli bilgisayarlı tomografiden elde edilen görüntülerden .DICOM uzantılı dosyaların kaydedilmesi (Aşama 2), Elde edilen .DICOM uzantılı dosyalar ile üç boyutlu tasarım yaparak .stl uzantılı modelin elde edilmesi (Aşama 3), Elde edilen .stl uzantılı model üzerine üç boyutlu kemik implantı tasarlanması (Aşama 4), Tasarlanan kemik implantının 3B yazıcıda basılması (Aşama 5), 3B basılı kemik implantının hastaya uygulanması (Aşama 6).

kondral doku artiküler kırık (hiyalin kırık), kalsifiye kırık ve subkondral kemik katmanlarından oluşur. Hiyalin kırık içeren artiküler kırık özelleşmiş üç katmandan oluşur. Bunlar; en üst tabaka, orta tabaka ve derin tabakadır. Her bir katmandaki kollajen lifleri, kondrosit yapıları ve glikozaminoglikan içeriği farklıdır; bu katmanların kompozisyonu, bölgelerin mekanik özelliklerini ve işlevlerini etkiler.^[19] Bu katmanlar, mekanik kuvvetin eşit şekilde dağıtılmasını ve azaltılarak alt katmandaki subkondral kemiğe geçmesini sağlar. Subkondral kemiğin işlevi üstteki kırıkta desteklemek ve alttaki süngerimsi kemiği yüksek streslerden korumaktır. Bu subkondral kemiğin eşsiz mekanik özelliği sayesinde sağlanır. Subkondral kemik eklemlerdeki yükün büyük kısmını azaltarak yük taşıma kapasitesini artırır.^[20]

Artiküler kırığın damarsız bir yapıya sahip olması ve perikondriumu olmaması nedeniyle bu bölge sınırlı bir onarım kapasitesine sahiptir.^[21] Hem eklem (artiküler) kırıkta hem de subkondral kemiği etkileyen hasarlar osteokondral hasarlar olarak ifade edilmektedir. Osteokondral hasarlar tedavi edilmediği takdirde osteoartrit gelişmesine yol açabilmekte ve onarım kapasitesi düşük olan bu bölgenin iyileşmesini çok zorlaştırabilmektedir.^[20] Osteokondral hasarlarda altın standart olarak kabul edilen otoplastik tedavi yönteminin yetersizliği sebebiyle tedavi için doku mühendisliği yöntemleri geliştirilmektedir.^[21] Osteokondral doku farklı mekanik ve biyokimyasal özelliklere sahip katmanlardan oluşan heterojenik bir doku olduğu için eklem içine implante edilecek doku eşleniği, osteokondral dokunun çok katmanlı yapısının mekanik ve biyokimyasal özelliklerini karşılamak amacıyla ilgili bölgeye özgü özellikler taşımaktadır.^[22] Ayrıca eklem içine implante edilecek doku eşleniği stres, gerilme ve sıvı basıncı gibi kuvvetlerde sürekli bir değişime ve dinamik bir biyomekanik ortama maruz kalmaktadır. Bu nedenle üç boyutlu ve çok katmanlı bir doku iskelesi kullanarak restoratif bir kırık-kemik onarımı elde etmek için doku iskelesinin her katmanını çevreleyen doku ile uyumlu mekanik özelliklere sahip olması ve eklem fizyolojik yüküne dayanacak mekanik özelliğe sahip olması önemlidir.^[20] Osteokondral dokunun farklı mekanik özelliklere sahip katmanlardan oluşması nedeniyle çalışmalarda çok fazlı yapılara yönelilmiştir. Yapılan çalışmalarda 3B basım teknolojisi, elektroçizme, hidrojel ve liyofilizasyon gibi diğer doku iskelesi oluşturma yöntemlerinin beraber kullanıldığı sıkça görülmektedir.

Osteokondral doku mühendisliği çalışmalarında 3B basım teknolojisi sıkça kullanılan bir yöntemdir. Geleneksel doku iskelesi yapım yöntemlerinde iskelenin iç yapısının kontrolü düşüktür. Bilgisayar destekli tasarım programları ve 3B basım teknolojilerinin beraber kullanımı karmaşık mikromimari içeren yüksek hassa-

siyetli, verimli ve özelleştirilebilir doku iskeleleri basılmasını mümkün kılmaktadır.^[23] Osteokondral doku gibi farklı doku katmanlarına sahip bölgeler için hazırlanacak implantların hastaya özel olarak hazırlanması için görüntüleme sistemleri kullanılabilir. Oluşturulan bu modelin 3B basımı ile hastaya özel bir medikal cihaz hazırlanabilir ve bu 3B basımın sağladığı en önemli avantajlardan biridir. Hastada doku ve hasar görüntüleme yöntemlerinden bilgisayarlı tomografi (*Computed Tomography*, CT) görüntülerinin çözünürlüğü yüksektir fakat kırık doku içeren bölgelerin görüntülenmesi için uygun değildir. Bu bölgelerde artiküler kırık dokusunun ve dokudaki hasarın pozisyonu, kalınlığı ve organizasyonunun incelenmesi için manyetik rezonans görüntüleme (*Magnetic Resonance Imaging*, MRI) yöntemi ile görüntüleme tercih edilir.^[24]

Üç boyutlu basım teknolojisi kullanılarak oluşturulan çift fazlı osteokondral doku mühendisliği çalışmalarından birinde, hücre büyümesine izin verecek şekilde kırık kısmı %90 gözenekliliğe sahip olan poli(laktik asit-ko-glikolik asit) (PLGA) ve poli(L-laktik asit) (PLLA) karışımı ile, kemik kısmı ise %55 gözenekliliğe sahip olan poli(laktik asit-ko-glikolik asit) (PLGA) /TCP (trikalsiyum fosfat) karışımı kullanılarak yüksek mekanik özelliklerin sağlanması hedeflenerek 3B basım yöntemleri ile osteokondral implant hazırlanmıştır. *In vitro* kültür çalışmalarının altıncı haftası sonucunda kırık oluşumu gözlenmiş ve kemik bölgesinin mekanik özelliklerinin de insan süngerimsi kemiğine yakın olduğu belirlenmiştir.^[25]

Kırık doku mühendisliğinde en çok kullanılan yöntemlerden biri de doğal ve sentetik polimer bazlı hidrojel ile biyobasım yöntemidir. Doğal polimer bazlı hidrojel, hücreler arası etkileşim ve biyoyumluluk açısından çok başarılıdır fakat mekanik özellikleri yeterli olmayabilir. Diğer yandan, biyoyumluluk açısından güçlü olmayan PCL gibi polimerler de kortikal kemiğe yakın bir mekanik sağlamlığa sahiptirler. Bu nedenle hücre yüklü hidrojellerin mekanik özelliklerinin artırılması için polikaprolakton (PCL) ve benzeri polimerlerin lifleri ile güçlendirilmiş hidrojel temelli doku eşleniği çalışmaları son yıllarda artmıştır.^[26] Bunların önemli bir avantajı, hidrojel içinde dokuya uygun hücrelerin de birlikte basımı ve dolayısıyla hücreli, doku mühendisliği temelli implantlar elde edilmesidir. Bu yönde yapılan bir çalışmada iki fazlı bir doku eşleniği kemik ve kırık doku hücreleri içeren hidrojellerin biyobasımı ile oluşturulmuş ve polikaprolakton (PCL) lifleri ile desteklenerek yüksek mekanik özellik kazandırılmıştır. Fare modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda alınan iyi sonuçlar doğrultusunda, hazırlanan doku iskelesi üzerine mekanik yük uygulanması için keçi kullanılan *in vivo* çalışmalar

yapılmıştır. İmplantasyonlardan altı ay sonra hayvanlarda hiyalin kıkırdak yapısının desteklendiği ve bölgede kıkırdak matriksinde artış gözlenmiştir.^[27]

OFTALMOLOJİDE 3B BASIM UYGULAMALARI

Oftalmolojideki 3B basım uygulamaları, tıbbın diğer alanlarındaki uygulamalardan kavramsal olarak farklı değildir.^[28] Bununla birlikte, iç gözün ve özellikle ön segmentin erişilebilirliği, gözün ayrıcalıklı bağışıklık statüsü ve ayrıca çeşitli durumları belirlemek ve tanımlamak için mevcut çok sayıda araç, gözü yeni geliştirilen 3B basım yöntemlerinin uygulanması için verimli bir ortam haline getirmektedir. Biyoyumlu malzemelerdeki gelişmeler, implantın uyulanabilirliğini arttırmaktadır ve aynı zamanda implante edilen malzemelerden kaynaklanan reddedilme riskini ve tahrişi azaltmaktadır.

Kornea, damarsız ve şeffaf yapıya sahiptir ve gözün en dış kısmında bulunur.^[29] Gelen ışığın yaklaşık %70'i, odaklamasından dolayı gözün temel optik ögesidir. Milyonlarca insanın yaşam kalitesi, yaralanma veya hastalıklardan kaynaklanan kornea kökenli körlük tarafından etkilenmektedir. Hasarlı dokunun yerini alabilecek dokunun karakteristik özelliklerine benzeyen yapıların üretilmesi, artık 3B basım kullanılarak gerçekleştirilen yaklaşımların da önemli bir amacıdır.^[30] Bu tür 3B yapılar, hastanın görüşünü geri kazanabilmesi için hasarlı dokunun tamamının veya bir kısmının değiştirilmesi için üretilmektedir. Şimdiye kadar 3B basım teknolojisi kullanılarak yapılan mevcut çalışmalarda, öncelikle kornea olmak üzere, retina ve konjunktiva gibi çeşitli dokulara odaklanılmıştır.

Günümüzde, kornea hasarlarının tedavisinde altın standart kornea naklidir.^[31] Keratoprotez kullanımı, kornea nakline bir alternatiftir.^[32] Tam veya kısmi görmeyi restorasyonunu sağlamak için kullanılan bu cihazlar kullanılarak kornea saydam bir polimerle değiştirilir. Günümüzde keratoprotezler yalnızca transplantasyonu başarısız olan hastalarda, görmeyi yeniden kazanmanın tek çözümü olarak düşünüldüğü zaman kullanılmaktadır. Keratoprotez ve donör doku kullanımıyla ilişkili sorunların üstesinden gelmek için, çeşitli alternatif tedavi stratejilerinin oluşturulması gereklidir. Bu doğrultuda, kornea doku mühendisliği amacıyla çeşitli 3B biyobasım yaklaşımları kullanılmaktadır.

Üç boyutlu basım sistemleri hastaya özel kornea stroması üretebilecek ve stromanın iç organizasyonunu oluşturabilecek özelliklere sahiptir. Bu nedenle çalışmalar bu yönde de hızlanmıştır. Isaacson ve ark. tarafından 2018'de yapılan bir çalışmada, ekstrüzyon temelli biyobaskı tekniği kullanılarak doğal insan kornea stromasını taklit eden bir yapının geliştirilmesi incelenmiş ve bu nedenle insan keratosit hücreleri aljinat-metakrile kol-

lajen tip I biyomürekkebine yüklenmiştir.^[33] Basılı yapılarda, doğal kornea stromasına benzer 3B geometriler elde edilmiş ve biyobasımdan sonraki yedi gün boyunca yüksek düzeyde hücre canlılığı gözlenmiştir. Ancak hücrelerin fenotipi doğal kornea stromasında olduğu gibi dendritik morfoloji sergilememiş, yuvarlak olarak kalmıştır. Elde edilen basılı yapıların saydam olduğu görülmüştür. Sorkio ve ark. tarafından 2018 yılında yapılan bir çalışmada, lazer destekli biyobasım tekniği kullanılarak doğal kornea dokusunun iki katmanını (epitel ve stroma) taklit eden 3B basılı doku iskelesi geliştirilmesine odaklanılmıştır.^[34] Çalışmada epitel kök hücrelere ve keratositlere farklılaşma kapasitesi gösteren insan embriyonik kök hücrelerinden ve rekombinant ve insan kaynaklı malzemelerden geliştirilen biyomürekkeplerin kullanımı önerilmiştir. İlk olarak ayrı ayrı basılan epitel ve stroma katmanları, daha sonrasında her iki katmanı da içeren bir yapı iskelesi olarak birlikte basılmıştır. Sonuç olarak, çalışmada kullanılan lazer destekli biyobasım tekniğinin ve insan kök hücrelerinin başarılı bir şekilde 3B kornea yapısı tasarlamaya yönelik uygulanabilirliği gösterilmiştir. Bununla birlikte, elde edilen yapı stroma tabakasının şekil kaybını önlemek için gerekli olan destekleyici tabaka nedeniyle orta düzeyde saydamlık göstermiştir. Üç boyutlu biyobasım ile kornea doku iskelesi tasarımı için ışık geçirgenlik ve mekanik özellikler çok önemli olduğundan dolayı bu yolla elde edilen yapılar üzerine daha fazla araştırma gerekmektedir. Kılıç Bektaş ve Hasırcı tarafından 2020'de yapılan bir çalışmada, 3B basılı kornea keratosit hücreleri yüklü metakrile jelatin (GelMA) hidrojelleri kornea stroması eşleniği olarak geliştirilmiştir.^[35] Çalışmada kullanılan 3B basılı doku iskeleleri pnömatik ekstrüzyon temelli biyoyazıcı kullanılarak üretilmiş ve bu yapıların stromanın katmanlı yapısındaki paralel liflerden ve birbirine 90° açı ile yerleşmiş ardışık katmanlardan oluşması sağlanmıştır. Elde edilen yapının oldukça yüksek ışık geçirgenliği, yeterli mekanik özellikleri, iyi düzeyde hücre canlılığı ve çoğalması sağlanınca kornea stromasının mikro yapısını taklit edebildiği gösterilmiştir.

ÜÇ BOYUTLU BASIMIN KEMİK DEFİKTLERİNE UYGULANMASI

Kendi kendine iyileşme yeteneğine sahip olan kemik dokusunda, özellikle kritik boyutlardaki defektlerde ve çoklu kırıklarda, rejenerasyon kapasitesi yetersiz kalabilir. Bu gibi kemik hasarlarının tedavisinde doğal iyileşmeyi sağlamak amacıyla doku bütünlüğünün ve mekanik desteğin sağlanması için hasarlı bölgenin doldurulması gerekir. Bu amaçla yapay ve doğal implantlar kullanılmaktadır. Üç boyutlu olarak üretilen biyomalzemeler doku iyileşmesine katkı yapmaya ek olarak sabitleme ve destek sağlama açılarından bu implantlar arasına katılabilirler.^[36]

Biyouyumlu, yapay ve doğal, biyobozunur ya da bozunmaz, polimer, seramik ve metal gibi biyomalzemeler kullanılarak defekte uygun ve üç boyutlu, mekanik açıdan dayanıklı kemik doku mühendisliği ürünleri üretilebilir. Bunların önemli özellikleri arasında;

- Doğal kaynaklı implantlar gibi immün yanıt riski taşımamaları ve ekstra cerrahi işlem gerektirmemeleri,
- Büyüklükten bağımsız olarak defekte tam uyan şekilde ve hücrelerin tutunabilmesi için istenilen gözenek boyutunda üretilebilmeleri,
- Defekt bölgesine hücre göçü sağlamak ve hücre çoğalması ile iyileşmeyi desteklemek amacıyla çeşitli büyüme faktörleri, ilaç ve hücre taşıyabilmeleri,
- Uygun malzeme seçimiyle kompozit veya alaşım hazırlanabilmesi, kaplanmaları ve benzeri modifikasyonlar vardır.^[36-38]

Dolayısıyla kemik defekt tedavilerine yönelik çalışmalar bu yönde ivme kazanmıştır.

Örneğin; bir çalışmada biyobozunur poli(ϵ -kaprolakton) kullanılarak silindirik diskler basılmış ve iyi tanımlanmış gözenek boyutuna sahip, kontrol edilebilir yüzey hidrofilitliği ve osteokondüktifliği olan, mekanik açıdan güçlü bir implant oluşturulmuştur. Yapısına katılan nano-hidroksiapatit ve poli(propilen fümarat) ile bu özellikleri daha da iyileştirilmiştir. Tavşan kemik iliği kök hücreleri ekilerek tavşan femurlarına implante edilen bu doku mühendisliği ürünlerinin sekiz hafta sonunda yüksek doku rejenerasyonu gösterdiği ve mekanik özelliklerinin sağlıklı kemik dokusuna çok yakın olduğu gözlenmiştir.^[39]

Başka bir çalışmada, lomber dejeneratif hastalığı veya deformitesi olan 93 yetişkin hastada omurga füzyonu ameliyatlarında 3B basılmış gözenekli titanyum implantı SiCaP (silisyum katkılı kalsiyum fosfat) ile doldurularak etkinliği denenmiş ve bilgisayarlı tomografi sonuçlarına göre 12 ay sonunda %98,9 düzeyinde füzyon sağlandığı gösterilmiştir.^[40]

Başka bir çalışmada ise, BMP2 salımı yapan poli(ϵ -kaprolakton) ve poli(laktid-ko-glikolid)-ko-polieterimid polimerlerinden üretilmiş bir implant kullanılmıştır. Bu yapıya yüksek düzeyde kök hücre tutunduğu, çoğalma ve osteojenik farklılaşmayı desteklediği *in vitro* koşullarda gösterilmiştir. *In vivo* çalışmada ise hücre içermeyen implantlar farelere uygulanmış ve altı ay sonunda yüksek bir kemik mineral yoğunluğu ve kemik oluşumu gözlenmiştir.^[41]

KLİNİK DENEME AŞAMASINDAKİ GELİŞMELER

Üç boyutlu basım teknolojisi 2000'li yıllarda daha yaygın kullanılmaya başlansa da bu teknoloji çerçevesinde gerçekleştirilmiş ve gerçekleştirilmekte olan az sayıda klinik denemeler mevcuttur ve bunlar protez, tıbbi cihaz ve ameliyat planlama ve ameliyat modelleri ile ilgilidir.^[42] Ayak bileği ve ayak ortezleri ve radius başı protezi, çene ameliyatında kullanılacak hastaya özel titanyum plakalar, kişiye özel 3B basılmış takma dişler ve 3B basılmış kemik implantı ortopedi alanında geliştirilmiş ve klinik denemeleri gerçekleştirilmekte olan ürünlerdir. Bunların yanı sıra son yıllarda omurga cerrahisi, çene cerrahisi, ayak ve bilek cerrahisi ve pelvis cerrahisinde gerçekleştirilmiş ve vaka raporu olarak literatüre geçmiş klinik çalışmalar da bulunmaktadır.

SONUÇ

Bütün bu çalışmalar göstermektedir ki tıp alanında yeni ve yüksek teknolojiler ağırlıklı ortopedi ve travmatoloji alanında olmakla birlikte diğer alanlarda da önemli katkılar yapmaya başlamıştır. Doku mühendisliği, elektro-eğirme ve 3B basım yöntemleri bu etkiyi en fazla gösteren yaklaşımlardır. İnsan yaşam kalitesi bunlar aracılığıyla daha da yükselmektedir. Biyomalzeme alanındaki araştırmacılar katkılarıyla bu iyileşmede önemli rol oynamayı sürdüreceklidir.

KAYNAKLAR

1. Ngo TD, Kashani A, Imbalzano G, Nguyen KTQ Hui D. Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. *Compos Part B Eng* 2018;143:172-96. [Crossref](#)
2. Tamay DG, Dursun Usal T, Alagoz AS, Yucel D, Hasirci N, Hasirci V. 3D and 4D Printing of polymers for tissue engineering applications. *Front Bioeng Biotechnol* 2019;7(164):1-22. [Crossref](#)
3. Mazzoli A, Ferretti C, Gigante A, Salvolini E, Mattioli-Belmonte M. Selective laser sintering manufacturing of polycaprolactone bone scaffolds for applications in bone tissue engineering. *Rapid Prototyp J* 2015;21:386-92. [Crossref](#)
4. Arslan-Yildiz A, El Assal R, Chen P, Guven S, Inci F, Demirci U. Towards artificial tissue models: Past, present, and future of 3D bioprinting. *Biofabrication* 2016;8(1):014103. [Crossref](#)
5. Xu N, Wei F, Liu X, Jiang L, Cai H, Li Z, et al. Reconstruction of the upper cervical spine using a personalized 3D-printed vertebral body in an adolescent with ewing sarcoma. *Spine* 2016;41(1):E50-4. [Crossref](#)
6. Lee JW, Wen HB, Battula S, Akella R, Collins M, Romanos GE. Outcome after placement of tantalum porous engineered dental implants in fresh extraction sockets: a canine study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2015;30(1):134-42. [Crossref](#)
7. Zhang L, Yang G, Johnson BN, Jia X. Three-dimensional (3D) printed scaffold and material selection for bone repair. *Acta Biomater* 2019 15;84:16-33. [Crossref](#)

8. Stancu IC, Lungu A, Iovu H. Hydrogels for bone regeneration, *Biomater Bone Reg* 2014;270:62-86. [Crossref](#)
9. Seitz H, Rieder W, Irsen S, Leukers B, Tille C. Three-dimensional printing of porous ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res B App Biomater* 2005;74(2):782-8. [Crossref](#)
10. Zhang Q, Wu W, Qian C, Xiao W, Zhu H, Guo J, et al. Advanced biomaterials for repairing and reconstruction of mandibular defects. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2019;103:109858. [Crossref](#)
11. Zaszczynska A, Moczulska-Heljak M, Gradys A, Sajkiewicz P. Advances in 3D Printing for Tissue Engineering. *Materials (Basel)* 2021;14(12):3149. [Crossref](#)
12. Miracle AC, Mukherji SK. Conebeam CT of the head and neck, part 2: Clinical applications. *AJNR Am J Neuroradiol* 2009;30:1285-92. [Crossref](#)
13. Kumar M, Shanavas M, Sidappa A, Kiran M. Cone beam computed tomography-know its secrets. *J Int Oral Health* 2015;7:64-8.
14. Aditya A, Lele S, Aditya P. Current status of knowledge, attitude, and perspective of dental practitioners toward cone beam computed tomography: A survey. *J Oral Maxillofac Radiol* 2015;3:54-7. [Crossref](#)
15. Frizziero L, Santi GM, Liverani A, Napolitano F, Papaleo P, Maredi E, et al. Computer-aided surgical simulation for correcting complex limb deformities in children. *Applied Sciences* 2020;10(15):5181. [Crossref](#)
16. Bartnikowski M, Vaquette C, Ivanovski S. Workflow for highly porous resorbable custom 3D printed scaffolds using medical grade polymer for large volume alveolar bone regeneration. *Clin Oral Implants Res* 2020;31(5):431-41. [Crossref](#)
17. Yu N, Nguyen T, Cho YD, Kavanagh NM, Ghassib I, Giannobile WV. Personalized scaffolding technologies for alveolar bone regenerative medicine. *Orthod Craniofac Res* 2019;22:69-75. [Crossref](#)
18. Goh BT, Teh LY, Tan DB, Zhang Z, Teoh SH. Novel 3D polycaprolactone scaffold for ridge preservation– a pilot randomised controlled clinical trial. *Clinical Oral Implants Research* 2015;26(3):271-7. [Crossref](#)
19. Noeaid P, Salih V, Beier JP, Boccaccini AR. Osteochondral tissue engineering: scaffolds, stem cells and applications. *J Cell Mol Med* 2012;16(10):2247-70. [Crossref](#)
20. Tamaddon M, Wang L, Liu Z, Liu C. Osteochondral tissue repair in osteoarthritic joints: clinical challenges and opportunities in tissue engineering. *Biodes Manuf* 2018;1(2):101-14. [Crossref](#)
21. Datta P, Dhawan A, Yu Y, Hayes D, Gudapati H, Ozbolat IT. Bioprinting of osteochondral tissues: A perspective on current gaps and future trends. *Int J Bioprint* 2017;3(2):007
22. Fu L, Yang Z, Gao C, Li H, Yuan Z, Wang F, et al. Advances and prospects in biomimetic multilayered scaffolds for articular cartilage regeneration. *Regen Biomater* 2020;7(6):527-42. [Crossref](#)
23. Bittner SM, Smith BT, Diaz-Gomez L, Hudgins CD, Melchiorri AJ, Scott DW, et al. Fabrication and mechanical characterization of 3D printed vertical uniform and gradient scaffolds for bone and osteochondral tissue engineering. *Acta Biomaterialia* 2019;90:37-48. [Crossref](#)
24. Kilian D, Sembdner P, Bretschneider H, Ahlfeld T, Mika L, Lütznert J, et al. 3D printing of patient-specific implants for osteochondral defects: workflow for an MRI-guided zonal design. *Biodes Manuf* 2021;4:1-5. [Crossref](#)
25. Sherwood JK, Riley SL, Palazzolo R, Brown SC, Monkhouse DC, Coates M, et al. A three-dimensional osteochondral composite scaffold for articular cartilage repair. *Biomaterials* 2002;23(24):4739-51. [Crossref](#)
26. Yang X, Wang Y, Zhou Y, Chen J, Wan Q. The application of polycaprolactone in three-dimensional printing scaffolds for bone tissue engineering. *Polymers* 2021;13(16):2754. [Crossref](#)
27. Critchley S, Sheehy EJ, Cunniffe G, Diaz-Payno P, Carroll SF, Jeon O, et al. 3D printing of fibre-reinforced cartilaginous templates for the regeneration of osteochondral defects. *Acta Biomaterialia* 2020;113:130-43. [Crossref](#)
28. Sommer AC, Blumenthal EZ. Implementations of 3D printing in ophthalmology. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2019;257:1815-22. [Crossref](#)
29. Kilic Bektas C, Hasirci V. Cell loaded GelMA:HEMA IPN hydrogels for corneal stroma engineering. *J Mater Sci Mater Med* 2020;31(1):2. [Crossref](#)
30. Ruiz-Alonso S, Villate-Beitia I, Gallego I, Lafuente-Merchan M, Puras G, Saenz-del-Burgo L, et al. Current insights into 3D bioprinting: An advanced approach for eye tissue regeneration. *Pharmaceutics* 2021;13:308. [Crossref](#)
31. Wong KH, Kam KW, Chen LJ, Young AL. Corneal blindness and current major treatment concern-graft scarcity. *Int J Ophthalmol* 2017;10:1154-62.
32. Ahearne M, Fernández-Pérez J, Masterton S, Madden PW, Bhattacharjee P. Designing scaffolds for corneal regeneration. *Adv Funct Mater* 2020;30:1908996. [Crossref](#)
33. Isaacson A, Swioklo S, Connon CJ. 3D bioprinting of a corneal stroma equivalents. *Exp Eye Res* 2018;173:188-93. [Crossref](#)
34. Sorkio A, Koch L, Koivusalo L, Deiwick A, Miettinen S, Chichkov B, et al. Human stem cell based corneal tissue mimicking structures using laser-assisted 3D bioprinting and functional bioinks. *Biomaterials* 2018;171:57-71. [Crossref](#)
35. Kilic Bektas C, Hasirci V. Cell loaded 3D bioprinted GelMA hydrogels for corneal stroma engineering. *Biomaterials Science* 2020;8:438-49. [Crossref](#)
36. Yilgor P, Yilmaz G, Onal MB, Solmaz I, Gundogdu S, Keskil S, et al. An in vivo study on the effect of scaffold geometry and growth factor release on the healing of bone defects. *J Tissue Eng and Regen Med* 2013;687-96. [Crossref](#)
37. Haleem A, Javaid M, Khan RH, Suman R. 3D printing applications in bone tissue engineering. *J Clin Orthop Trauma* 2020;11:S118-24. [Crossref](#)

38. Roseti L, Parisi V, Petretta M, Cavallo C, Desando G, Bartolotti I, et al. Scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and new perspectives. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2017;78:1246-62. **Crossref**
39. Buyuksungur S, Tanir TE, Buyuksungur A, Bektas EI, Kose GT, Yucel D, et al. 3D printed poly (ϵ -caprolactone) scaffolds modified with hydroxyapatite and poly (propylene fumarate) and their effects on the healing of rabbit femur defects. *Biomater Sci* 2017;5(10):2144-58. **Crossref**
40. Mokawem M, Katzouraki G, Harman CL, Lee R. Lumbar inter-body fusion rates with 3D-printed lamellar titanium cages using a silicate-substituted calcium phosphate bone graft. *J Clin Neurosci* 2019;68:134-9. **Crossref**
41. Rahman M, Peng XL, Zhao XH, Gong HL, Sun XD, Wu Q, et al. 3D bioactive cell-free-scaffolds for in-vitro/in-vivo capture and directed osteoinduction of stem cells for bone tissue regeneration. *Bioact Mater* 2021;6(11):4083-95. **Crossref**
42. Kumar Gupta D, Ali MH, Ali A, Jain P, Anwer MK, Iqbal Z, et al. 3D printing technology in healthcare: Applications, regulatory understanding, IP repository and clinical trial status. *J Drug Target* 2021;10:1-20. **Crossref**