

DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE YAPAY KEMİK İSKELESİ TASARIMI

Neslihan TOP^{1,*}, İsmail ŞAHİN¹, Harun GÖKÇE²

¹Gazi Üniversitesi, Endüstriyel Tasarım Mühendisliği Bölümü, Ankara Türkiye

²TÜBİTAK Savunma Sanayii Araştırma ve Geliştirme Enstitüsü, Ankara Türkiye

*neslihan@hazi.edu.tr, isahin@hazi.edu.tr, harungokce@yahoo.ca

Özet

Hasarlı kemik yapılarının onarımı için farklı uygulamalar gerçekleştirilse de günümüzde daha çok kemiğin yeniden üretim yöntemlerine odaklanılmıştır. Bu nedenle doku mühendisliği alanında son yıllarda yürütülen çalışmalar yapay kemik iskelesi tasarımı ve üretimi üzerine yoğunlaşmaktadır. Yapay kemik iskelesi üretiminde yüksek gözeneklilik oranı, gözenekler arası bağlar, kullanılan malzemenin dayanımı ve biyouyumlu olması önemli hususlar arasındadır. Doku mühendisliği çalışmalarında kimyasal gaz köpürtme, membran laminasyon, kalıplama, partikül süzme gibi geleneksel yaklaşımlarla yapay kemik üretimi yöntemleri halen yaygın olarak kullanılsa da eklemeli imalat yaklaşımlarının kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Günümüzde hızlı prototipleme teknolojileri ile karmaşık geometrideki yüksek gözenekli kemik iskelesi yapıları, tek işlem basamağında kolaylıkla üretilebilmekte, gözenek sayısı ve boyutlarının kontrolü hassas bir şekilde yapılabilmektedir. Bu çalışmada, doku mühendisliğinde yapay kemik iskelesi tasarım ve üretimi süreçlerinde kullanılan klasik ve yeni nesil yapay kemik iskelesi tasarım yaklaşımları incelenmiştir. Çalışmada, üç boyutlu (3B) baskı teknolojileri ile baskı alınmasında kemik iskelesini oluşturan hücresel birimlerin ve kemik iskele yapılarının oluşturulmasında kullanılan yöntemler ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Doku mühendisliği, Yapay kemik iskelesi, 3B baskı

ARTIFICIAL BONE SCAFFOLD DESIGN IN TISSUE ENGINEERING

Abstract

Although different applications have been carried out for the repair of damaged bone structures, nowadays mostly focus on bone regeneration methods. Therefore,

recent studies in the field of tissue engineering focus on artificial bone scaffolding design and production. High porosity rate, inter-pore bonding, strength and biocompatibility of materials used in artificial scaffold production are among the important issues. Although traditional methods such as chemical gas foaming, membrane lamination, molding, particle leaching and artificial bone production methods are still widely used in tissue engineering studies, the use of additive manufacturing approaches is becoming widespread. Nowadays, high-porous bone scaffolding structures of complex geometry can be produced easily in a single process step and precise control of pore number and dimensions can be made with rapid prototyping technologies. In this study, classical and new generation artificial bone scaffold design approaches used in tissue engineering in artificial bone scaffolding design and production processes are examined. In this study, the methods used to construct the cellular units and bone scaffold structures forming the bone scaffold for printing with three dimensional (3D) printing technologies are discussed.

Keywords; Tissue engineering, Artificial bone scaffold, 3D printing

1. Giriş

Ameliyat, hastalık ya da travmadan dolayı her yıl milyonlarca hasta kemik dokusu kaybetmektedir. Sadece ABD'de 20 milyondan fazla hasta, kemik, kırık, bağ dokusu kusurları ve diyabet gibi hastalıklar sebebiyle kemik dokusu kaybetmektedir. Kemik doku kayıplarının tedavisi amacıyla yılda yaklaşık sekiz milyon cerrahi işlem yapılmaktadır ve 7.000'den fazla kişi nakil beklemektedir [1].

Gelişen teknoloji ve yapılan çalışmalar ile birlikte kusurlu kemiğin iyileştirilmesinden ziyade, kemiğin sentezlenmesi ve yeniden üretimine odaklanılmıştır. Kemiğin sentezi ve yeniden üretimi süresinde yapılan çalışmalar kemik doku mühendisliğinin bir alanı haline gelmiştir. Doku mühendisliği, makine mühendisliği, genetik, klinik tıp, malzeme bilimi gibi alanları içinde barındıran çok disiplinli bir yaklaşımdır. Doku mühendisliği, tedavi sürecindeki zorluk ve sınırlandırmaların üstesinden gelmeyi hedeflemekte ve kaybolan doku fonksiyonlarının yeniden onarımı ve değiştirilmesini amaçlamaktadır [2].

Organ ve dokuların yenilenmesi için 3B iskeleler kullanılmaktadır. Gözenekli yapıda olan bu iskeleler dokunun oluşturulması için bir şablon görevi görür ve büyüme faktörleriyle tohumlanarak biyofiziksel uyarıcılara maruz bırakılır [3].

Kemik iskelesi, hücre işlevlerinin sürdürülmesini ve hücrelerin büyümesi için gerekli temas noktalarının meydana gelmesini sağlar. Hastalık, kaza gibi durumlarda, iskele kendi kendine iyileşir ancak bazı özel kusurlu durumlarda iskelenin kendi başına iyileşmesi mümkün değildir. Bu gibi durumlarda kemik grefti ya da kemiği başka bir vücut bölümüne hareket ettirme yöntemi yaygın olarak uygulanır [4, 5]. Bu tedavi yöntemleri ile bağışıklık reddi, donör bulma zorluğu ve patojen transferi sorunlarından kurtulmak mümkün olabilmektedir [4]. Geleneksel tekniklerle işlenen yapı iskelelerinde hücre göçü ve doku büyümesi genellikle lokalize, üniform olmayan bir doku oluşumu ile sonuçlanan çevresel bölge ile sınırlıdır [6].

Günümüzde yapay iskeleler, hasar görmüş doku veya organların onarımı sürecinde destekleyici bir yapı olarak uygulanmış ve kullanılmıştır [7]. Eklemeli imalat yöntemlerinin doku mühendisliği uygulamalarındaki avantajlarının keşfedilmesiyle kemik iskelesi üretiminde hızlı prototipleme teknolojilerine doğru bir yönelme olmuştur. Bu teknolojilerin kullanılabilmesi ile tıbbi görüntüleme, Bilgisayar Destekli Tasarım (Computer Aided Design-CAD) ve 3B baskı teknolojilerini birleştirerek hastaya özel kemik iskelesi üretmek mümkün hale gelmiştir.

Bu çalışmada, doku mühendisliğinde yapay kemik iskelesi tasarım süreci ele alınmıştır. Bu kapsamda öncelikle kemik iskelesi tasarımı ve üretimine yönelik kullanılan geleneksel yaklaşımlara değinilmiştir. Çalışmada kemik iskelesi tasarımında kullanılan yeni yaklaşımlara geniş bir şekilde yer verilmiştir. Son yıllarda oldukça yoğun çalışmalar yapılan hızlı prototipleme teknolojileri ile yapay kemik iskelesi üretimi sürecinde kullanılan yeni tasarım stratejileri incelenmiştir.

2. Doku Mühendisliği

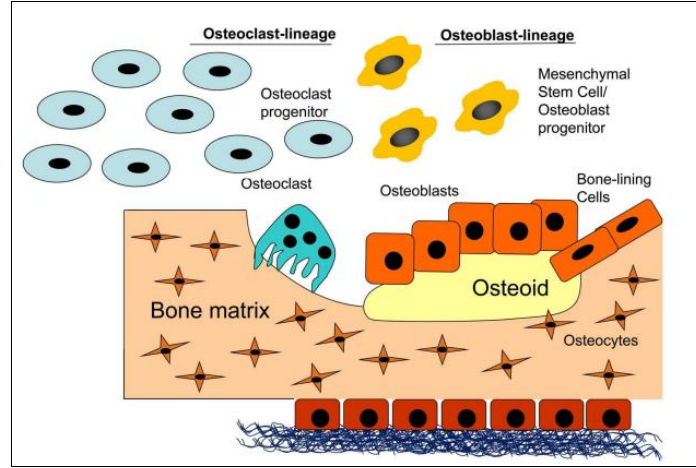
“Doku mühendisliği” teriminden ilk defa 1987 yılında ABD Ulusal Bilim Vakfı’nda yapılan bir toplantıda bahsedilmiş olsa da dokuyu başka bir doku ile değiştirme ameliyatı 16. yüzyılda Bologna Üniversitesi Cerrahi ve Anatomi Profesörü olan Gasparo Tagliacozzi tarafından yapılmıştır [8].

Doku mühendisliği; normal ve patolojik memeli dokularında, hasar gören dokunun işlevini devam ettirmek, iyileştirmek veya eski haline döndürmek amacı ile mühendislik disiplinlerinde var olan veya yeni geliştirilebilecek yöntemlerin uygulanmasıdır. Çok disiplinli bir alan olarak doku mühendisliği, biyolojik dokuları iyileştirmek veya değiştirmek için bir hücre, mühendislik ve malzeme yöntemlerinin kombinasyonundan oluşur [9]. Klinik tıp, makine mühendisliği, malzeme bilimi ve genetik başta olmak üzere mühendislik ve yaşam bilimlerinin uzmanlığı doku mühendisliğinde tanımlanan problemlerin çözümü için bir araya getirilir. Bu özellikleri ile doku mühendisliği son yıllarda hasarlı dokuları onarmak için alternatif bir yöntem olarak öne çıkmıştır. Öyle ki doku mühendisliği ve kök hücre çalışmaları için 2011 yılı verilerine göre yıllık 3,5 milyar dolarlık bir bütçe ayrılmaktadır [10].

3. Kemik Dokusu Yapısı

Kemik dokusu, süngerimsi kemik ve kortikal kemik adı verilen iki farklı yapıdan oluşmaktadır. Süngerimsi kemik %50-90 oranında gözenekli yapıya sahip iken, kortikal kemik %10'dan daha az gözeneğe sahiptir. Sağlıklı bir kemiğin korunmasından sorumlu olan osteosit, osteoblast ve osteoklast adı verilen hücrelerin arasındaki etkileşimler, süngerimsi ve kortikal kemiğin kontrol edilmesini sağlar [11, 12]. Hastanın yumuşak ve sert yapıdaki dokularından elde edilebilen bu hücreler kültür içinde genişleyebilir. Osteoblast yeni kemik oluşumundan sorumlu iken, osteoklast eski kemiğin emilmesinden sorumludur. Osteositler, kemik yüzeyi oluşturur ve fosfat metabolizması ve mineralizasyonu için önemli olan İlave Hücreli Matris (Extracellular matrix - ECM) yani hücreler arası ortam proteinlerinin üretimine katılır. Şekil 1'de kemik ECM bileşenleri görülmektedir [13].

Büyük boyuttaki kemik kusurlarının iyileştirilmesi dışında, kemiğin kendi kendini iyileştirebilme özelliği vardır. Büyük boyuttaki sorunlar için dışarıdan bir müdahale işlemi gereklidir [14, 15]. Bu müdahale işlemleri, ölen bir kişinin kemik dokusunun kullanılması (allograft) veya kusurlu kemiğe sahip bir kişinin vücudundan alınan başka bir kemiğin kullanılmasıdır (autograft) [16, 17].



Şekil 1. Kemik matrisinin bölümleri [13]

4. Kemik İskelesinin Özellikleri

Kemik doku mühendisliğinin en önemli kısmı, 3B ve biyouyumlu yapıdaki kemik iskeleleridir. İskeleler, kemik dokusu oluşumu sürecinde uyarıyı sağlar, hücresel aktivite ve protein üretiminin sağlanmasının yanında mekanik destek de sağlayan ECM'nin özelliklerini taklit eder ve hücre bağının oluşumunda görev alır [18-20].

İskele performansını, gözenek hacmi, gözenek büyüklüğü ve mekanik dayanım etkiler [15]. Kemik dokusunun sürekli büyümesi için en önemli özellik, birbirine bağlı gözenekliliktir. Birbirine bağlı olan gözenekler; atık madde uzaklaştırılmasını, damar oluşumunu (vaskularizasyon), hücre büyümesini ve iskelenin iç kısmına besin iletimini sağlar. Ayrıca birim hacim başına düşen yüzey alanının artırılması için de yüksek gözeneklilik önemlidir [15, 17, 21].

İdeal bir kemik yapısının oluşumu için 3B iskeleler çok gözenekli olmalı ve bu gözenekler birbirine iyi bağlanmış olmalıdır. Ayrıca, hücre göçü ve infiltrasyonu için yeterli gözenek büyüklüğü olmalıdır [22].

Doku mühendisliğinde kalitesi yüksek iskeleler oluşturabilmek için dikkat edilmesi gereken hususlar aşağıdaki gibi belirtilebilir [23]:

1. İç gözenekli yapılar, ara bağlantıların oluşumu ve yüksek gözenekliliğin oluşturulabilmesi için önemlidir.
2. İskele yapımında kullanılacak malzemenin biyouyumlu olması ve kontrol edilebilir şekilde biyobozunur olması gereklidir.

3. Oluşturulan yapının vücut tarafından desteklenebilmesi için mekanik dayanım seviyesi iyi olmalıdır.
4. Besinlerin ve metabolik atıkların dağıtımını kolaylaştırmak için geniş bir yüzey alanı olmalıdır.

5. Kemik İskelesi Tasarımı

Gözenekli kemik iskele tasarım ve üretiminde kimyasal gaz köpürtme, çözücü dökümü, partikül / tuz süzme, dondurarak kurutma, termal olarak tetiklenen faz ayrımı, köpük jel, fiber bağ, membran laminasyon, kalıplama, elektrospınleme, biomineralizasyon gibi klasik yaklaşımlar yoğun olarak kullanılmaktadır [7]. Fakat klasik yöntemler ile iskele mimarisi, gözenek şekli, boyutu ve birbirine olan bağılıklarının kontrol edilmesi ve özel kusurlu kemik yapıları için gereken özel gözeneklerin üretilmesi zordur [24,25]. Bu durum tutarsız ve daha az örülü olan iskelelerin oluşmasına sebep olur.

Bu tür tutarsızlıklar ve zorluklar alternatif iskele tasarım ve imalat yöntemlerini gündeme getirmiştir. Hızlı prototipleme teknolojilerinin yapay kemik üretimi alanında kullanımı bu yöntemlerin en popüler olanıdır. Hızlı prototipleme teknolojileri ile geleneksel yöntemlerle üretilenlere göre yüksek gözenekli yapılar inşa etmek mümkündür [26].

İskele tasarımı ve üretimi sürecinde iskele yapısının meydana getirilebilmesi ve büyümenin sağlanabilmesi için önemli hususlar, biyouyumluluk, biyoçözünürlük, mekanik özelliklerin sağlanması, iskele tasarımı ve üretim teknolojisidir. Bu hususlar üzerinde dikkat edilmesi gereken kritik noktalar şu şekildedir [27];

- Biyouyumluluk: Yapı iskelesi için ilk şart biyolojik açıdan uyumlu olmasıdır. Hücrelerin yapışması, normal bir biçimde çalışabilmesi, iskeleden geçmesi ve yeni bir matris koymadan önce çoğalmaya başlaması gereklidir.
- Biyoçözünürlük: İskele, hücrelerin kendi hücre dışı matrislerini üretmelerine izin verecek şekilde biyolojik olarak çözünebilir olmalıdır [28].
- Mekanik özellikler: İskelenin öncelikle uygulanacağı bölgeye uygun mekanik özelliklere sahip olması gerekir ve cerrahi operasyonda kullanılacak kadar da dayanıklı olması gerekir [4]. İskele mimarisi: İskele mimarisi ve bileşimi, başlangıç hücre uzamsal dağılımını ve dolayısıyla kemik dokusu oluşumunu belirleyen önemli

parametrelerdir [29]. İskeleler, hücrel penetrasyonu ve hücre dışı matrise ve yapıdaki hücrelere yeterli miktarda difüzyonunu sağlamak amacı ile çok gözenekli olmalıdır [27]. İskeleler, vaskülarizasyon, yeni doku oluşumu ve yeniden yapılanma için boş hacim sağlamalıdır. Böylece implantasyon sırasında konak doku entegrasyonunu kolaylaştırır [30].

- Üretim teknolojisi: Oluşturulan iskelenin hem klinik hem ticari olarak uygulanabilmesi adına, laboratuvarında her seferde bir taneden küçük seri üretime kadar ölçek büyütmenin mümkün olması gerekir [31].

İskele yapısının tasarımı, kemiğin mekanik özelliğini ve hücre davranışlarını etkilemektedir [32]. 3B iskelenin baskısı alınmadan önce iskele tasarımı aşamasında aşağıdan yukarıya doğru bir yaklaşım izlenir. Bu yaklaşımda önce hücrel birimler oluşturulur ve ardından bu birimler iskele haline getirilir. Bu sayede iskelenin mekanik özelliği üzerinde istenilen değişiklik sağlanabilir. Bu süreç 3 temel aşamayı kapsar:

- Hücrel birim tasarımı
- Yapısal iskelenin oluşturulması
- Damar oluşumu / damarlanma / vaskülarizasyon

5.1. Hücrel Birim Tasarımı

Sık ve birbirine bağlı gözenekli, kontrol edilebilirliği yüksek 3B kemik iskelesi baskısı alabilmek için, sadece bir birim hücrenin temel geometrisini oluşturabilecek, yaklaşık olarak 20 çokyüzlü bir şekil seçilir. Her bir birimin gözenek boyutu ve dikme boyutu parametreleri ile oynamak mümkündür. Her çoklu ünite tekrarlanabilir, yani modüler olmalıdır ve blok oluşturmak üzere boyutlandırılabilir [33-35].

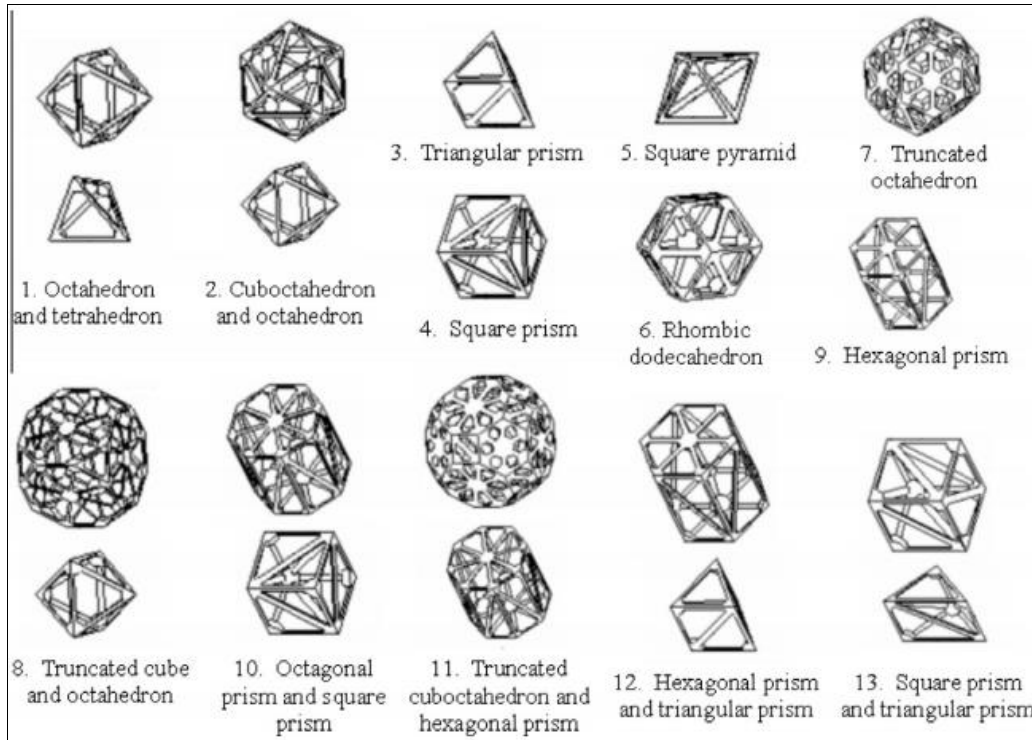
Basit bir iskele modeli elde etmek için öncelikle her yöne doğru periyodik olarak tekrar eden hücrel birim tasarlanmalıdır. Kemik iskelelerin tipik geleneksel tasarımı, CAD, görüntü tabanlı tasarım (Image-Based Design - IBD) ve kapalı yüzey modelleme (Implicit Surface Modelling - ISM) yöntemlerini içerir [36].

5.1.1. Bilgisayar destekli tasarım

Hücrel birimin tasarımı sürecinde, CAD programlarının içinde hazır olarak bulunan küp, altıgen, küre ve silindir gibi standart katı birimlerin çıkarma, kesişme ve birleşme işlemlerine tabi tutulması ile periyodik devam eden basit iskele geometrileri elde edilebilmektedir [37]. Bu duruma benzer olarak, tasarım sürecini kısaltmak adına doku mühendisliği için bilgisayar destekli tasarım (Computer-Aided System for Tissue

Scaffolds - CASTS) sistemi de kullanılabilir. Bu sistemde, yaygın olarak kullanılan çokyüzlülerin parametrik kütüphanelerinden faydalanılır [33, 34, 36, 38, 39] (Şekil 2). Bu kütüphane, fonksiyonel dereceli iskeleleri oluşturmak için kullanılan çokyüzlü katıları da içerir [33, 34, 40, 41]. CASTS, hedef doku / organın anatomik, biyolojik ve mekanik gereksinimlerini karşılamaya çalışır [42]. CASTS kütüphane sistemi programlanmış algoritma kullanılarak yapı iskelesine monte edilebilecek 13 farklı çokyüzlü ünitelerden oluşur (Şekil 2) [33-35, 43]. CASTS sistemi, iskele tasarım sürecini otomatik bir hale getirmeyi amaçlar.

Biyomimetik tasarımlar, kemik iskelelerinin mekanik performansını iyileştirmek ve iskele kütüphanesini zenginleştirmek için bir alternatiftir [44-46]. Diğer CAD tabanlı yaklaşımlar da iskele tasarımında kullanılabilir [47]. Bu yaklaşımlarda, standart temel eleman kütüphaneleri (Küp, silindir, altıgen, küre vb.) kullanılarak kemik iskeleleri tasarlanır. Tasarım işlemi temel elemanların ekleme, çıkartma ve kesiştirme gibi boolean operasyonlarına tabi tutulması ile gerçekleştirilir.

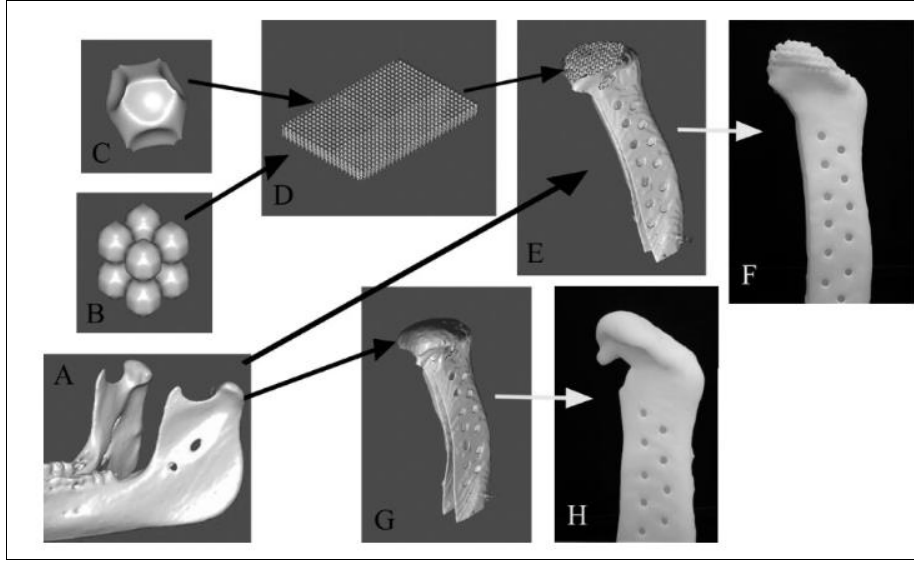


Şekil 2. CASTS sistemindeki çeşitli çokyüzlüler [48]

5.1.2. Görüntü tabanlı tasarım

IBD yaklaşımında, kusurlu kemiğin bulunduğu bölgeye yeni bir iskele inşa etmek için hesaplanmış tomografi (Computed Tomography - CT) veya manyetik

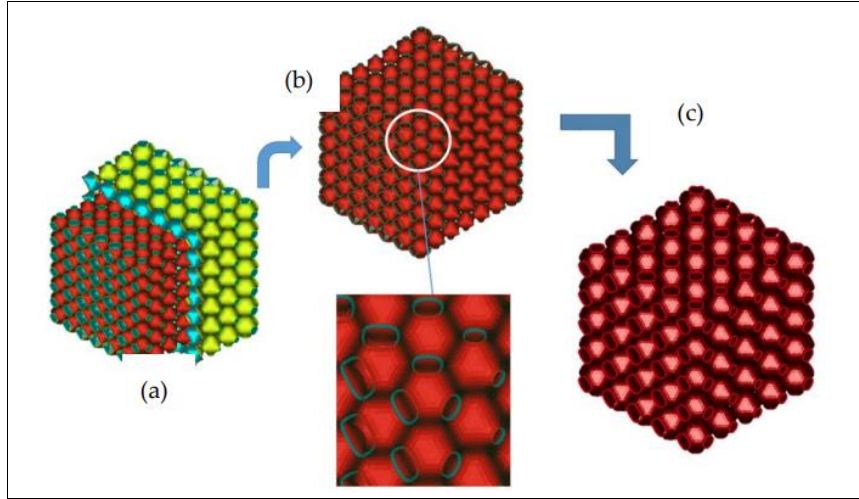
rezonans görüntüsü (Magnetic Resonance Image - MRI) verilerinden faydalanılır. 3B iskele oluşumu için kusurlu görüntü ve mimari görüntü Boolean operasyonu ile birleştirilir [49-53]. Bu yöntemi kullanmanın avantajı, 3B cerrahi bir model oluşturulabilmesidir. Bu sistem ile kemik iskelesi oluşturabilmek için spesifik anatomik geometriler tanımlanmıştır [52, 53]. IBD sisteminde, CT taramasından yapı iskelesinin üretimine kadar olan bütün prosedür Şekil 3'te gösterilmiştir.



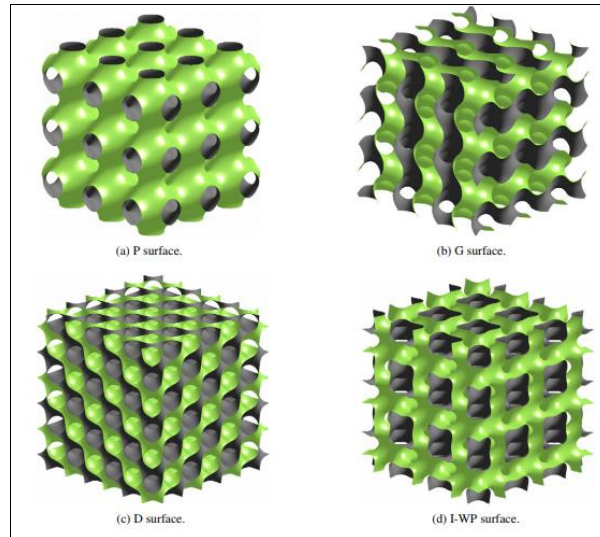
Şekil 3. Mandibular kondil (MK) iskelesi için IBD işlemi: (A) CT taraması, (B - D) Gözenekli mimari veri tabanları, (E) MK iskelesinin nihai görüntü tasarımı, (F) MK iskele mimari tasarımı ve (G) MK iskelesinin son görüntü tasarımı [50]

5.1.3. Kapalı yüzey modelleme

ISM sistemi, potansiyel olarak karmaşık yüzeylerden hücresel yapıların oluşumunu sağlayan bir araçtır [54]. Bu sistem kullanılarak iskele yapıları tek bir denklem ile kolayca oluşturulabilir. Bu durum gözenek şekli ve boyutu konusunda özgürlük getirir. ISM ile iskele tasarımı sürecinde, üçlü periyodik minimal yüzeyler (Triply Periodic Minimal Surfaces - TPMS) kullanılır. TPMS, sıfır eğime sahip olan ve üç bağımsız kartezyen yönde periyodik devam eden yüzeylerdir. Böcek kabukları, kelebek kanatları ve kabuklu iskeletler gibi biyolojik dokularda yaygın olarak bulunurlar [55]. ISM sisteminin aşamaları Şekil 4'te verilmiştir. Yaygın olarak kullanılan dört TPMS birimi Şekil 5'de gösterilmiştir.



Şekil 4. Değişken mimariye sahip bir iskelenin modellenme aşamaları: (a) Belirli bir kübik yapıya iskele yüzeyinin modellenmesi ve ölçeklendirilmesi, (b) Belirli bir kalınlıkta ofset verme ve (c) Düzlemsel kesitler ve iskele yüzeyinin kapanması [56]

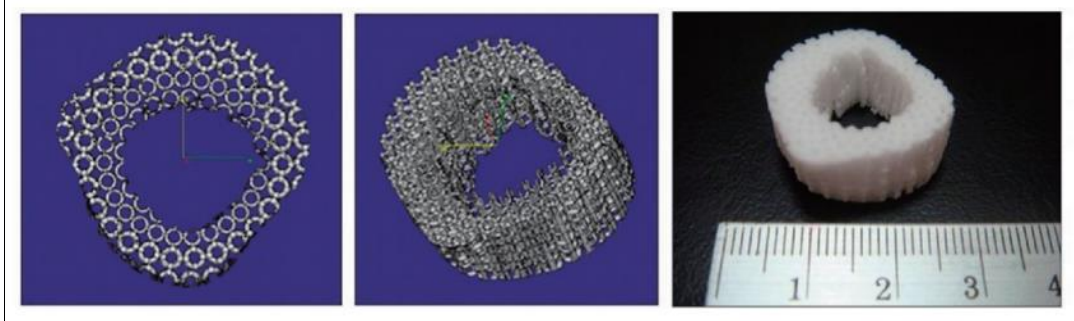


Şekil 5. Yaygın olarak kullanılan TPMS birimleri [57]

5.2. Yapısal İskelenin Oluşturulması

Kemik yapısı, gradyan gözenekli bir yapıdadır. Bu yüzden tasarlanan iskele yapısıyla hedef dokudaki yapının mekanik mukavemet ve sertliğin eşleşmesi önemlidir [58]. Kemiklerde, uzun kemiklerdeki radyal gradyan ve kısa kemiklerde lineer gradyanlar olmak üzere iki tip sertlik gradyanı vardır. Chua, Leong, Sudarmadji, Liu ve Chou yaptıkları çalışmada, silindirik yapıdaki hüresel birimleri konsantrik bir biçimde düzenleyerek merkezden yayılan biçimde (radyal) gradyan tasarımı elde etmişlerdir. Böylece gözeneklilik, doğrusal olarak merkezden çevreye doğru azalır. Bu doğrusal gradyan, gradyan doğrultusu boyunca dikme (payanda) çapının değiştirilmesi ile oluşur.

Bir insanın mandibular süngerimsi kemik iskelesi ve febur kemiği iskelesini, bu düzenlemeyi uygulayarak başarı ile üretmişlerdir (Şekil 6) [59]. Gözeneklilik-sertlik ilişkisi ayarlanarak, CASTS iskeleleri için sertlik varyasyonları oluşturulabilmektedir.



Şekil 6. Mandibular süngerimsi kemik iskelesi ve febur kemiği iskelesi [59]

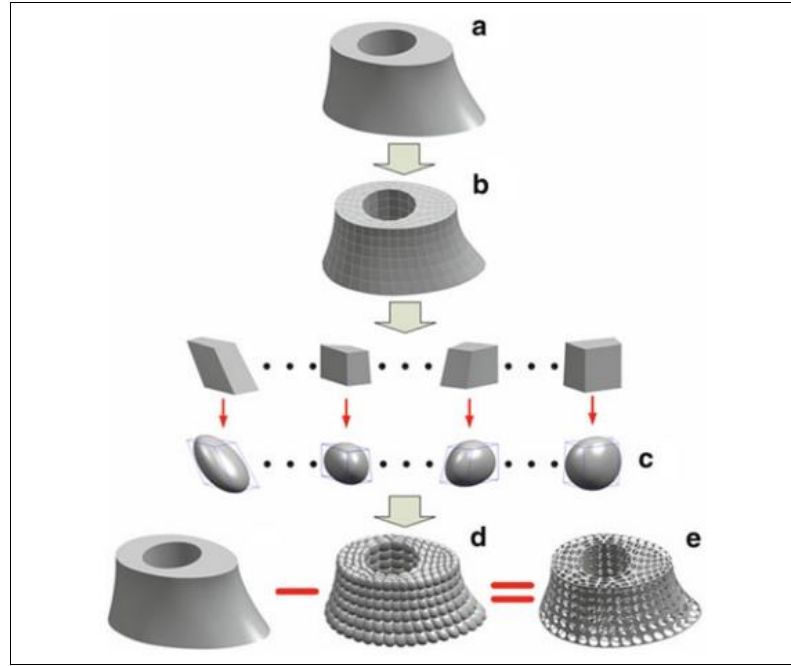
Hücre yapısının tasarlanması için bir başka yöntem ise 3B altı yüzlü mesh üretimine dayanmaktadır [60]. Bu yöntemde kesilen bir kemik, alt bölümlere ayrılır ve çeşitli düzensiz altıgen elemanlar ile temsil edilir. Düzensiz gözeneklerin birleşimi ile tüm gözenek modeli oluşturulur (Şekil 7).

Sigmoid fonksiyonları (Sigmoid Functions - SF) ve Gauss Radyal Temel Fonksiyonları (Gaussian Radial Basis Functions - GRBF) yöntemlerine dayanan yeni bir yöntemle de hücresel yapılar oluşturulabilmekte ve elde edilen modellerin dosyaları STL (STereoLithography) formatında alınarak üç boyutlu basılabilmektedir. SF yöntemi, transfinit enterpolasyonunda (sonlu ötesi iç değerlendirme) iyileşme göstermeyi sağlarken, GRBF yöntemi ile piksel ve voksel durumları kontrol edilebilmiştir [61].

5.3. Damar Oluşumu

Damar oluşumu, doku mühendisliğindeki uygulamalarda karşılaşılan zorluklardan biridir. İmplantasyonun gerçekleştirilmesinden sonra ilk aşamada yeterli kan temini sağlanamayabilir. Yetersiz damarlanma, yanlış hücre entegrasyonuna veya hücre ölümüne neden olabilmektedir. Özellikle büyük ve kalın dokuların oluşumunda, vaskülarizasyon oldukça önemlidir [61]. Araştırmalara göre 250 mikron veya daha fazla ölçüdeki gözenek boyutlarının kan damarlarının büyümesini daha fazla desteklediği tespit edilmiştir [62]. Ayrıca gözenekler arasında çok az bağlantı varsa, yüksek gözenekliliğin daha fazla damarlanmaya yol açmayacağı belirlenmiştir. Damarlanmayı arttırmak ve hızlandırmak adına birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemler arasında

iskele tasarımı, anjiyojenik faktörlerin dahil edilmesi, in-vivo ön vaskülarizasyon ve in-vitro ön vaskülarizasyon bulunur [61].



Şekil 7. (a) Kesik kemik modeli, (b) Çeşitli düzensiz altı yüzlü elemanlarla temsil edilen alt bölümlere ayrılmış kemik, (c) Çeşitli düzensiz gözenek elemanları, (d) Düzensiz gözenek elemanlarının Boolean operasyonu ile birleştirilmesinden sonraki tüm gözenek modeli ve (e) katı model ile tüm gözenek modeli arasındaki Boolean operasyonu farkından sonra çeşitli düzensiz gözenekler içeren sonuçta elde edilen kemik iskelesi [60]

İskele tasarımı ve anjiyojenik faktörlerin dahil edilmesi yöntemlerinin her ikisinde de var olan implantasyonun tamamlanmasından sonra anında damarlanma görülebilir. Çünkü, eklenen yapı, mikrocerrahi olarak var olan damarlara bağlanır. Bunun sebebi in-vivo uygulamaların canlı ortam ya da yaşayan koşullar kullanılarak gerçekleştirilmesidir. İmplantasyonun tamamlanmasından önce çevredeki damarlardan eklenen yapının içine kendiliğinden damarlanma gösterdiği için belirli bir süre geçmesi gereklidir. In-vitro yönteminde ise var olan damarlar eklenen yapının içine doğru büyümek zorunda olduğu için anında damarlanma görülmez [61].

In-vivo uygulamalar, doğal hücresel koşullar altında direkt olarak canlı hücre içerisinde gerçekleştirilir. In-vitro uygulamalarda ise hücre, doku ve organlar kontrollü yapay ortamlar içerisinde bulundurulur işlemler yürütülür [63]. Doku mühendisliği çalışmalarında hasar görmüş kusurlu bir dokunun onarımının direk olarak vücut içinde

gerçekleştirilmesi in-vivo uygulamayı temsil ederken, kusurlu dokunun in-vitro geliştirilen doku ile değiştirilmesi de bir diğer seçenektir [64].

6. Sonuçlar ve Tartışma

Doku mühendisliği çalışmaları kapsamında yapay kemik iskelesi üretiminde kullanılan geleneksel üretim teknikleri ile gözenek kontrolünün hassas bir şekilde gerçekleştirilmesi ve oluşturulan yapının üretimi oldukça zordur. Ayrıca geleneksel tekniklerle işleme tabi tutulan yapı iskelelerinde hücre göçü ve doku büyümesi genellikle üniform olmayan doku oluşumlarına neden olmaktadır. Bu durum, tutarsız ve daha az örülü olan iskelelerin oluşmasına sebep olmaktadır. Gözenek sayısının artırılması ve tutarsız iskele oluşumunu engellemeye yönelik olarak doku mühendisliği uygulamalarında yeni ve alternatif bir üretim tekniği olan hızlı prototipleme teknolojileri önemli avantajlar sunmaktadır. Hızlı prototipleme teknolojileri veya diğer ismi ile 3B baskı yöntemleri ile gözenek boyutu ve sayısının kontrolü daha kolay olmakla birlikte karmaşık geometrideki kemik iskelesi yapılarının tek bir işlem basamağında üretimi de mümkündür. Doku mühendisliği uygulamalarında hızlı prototipleme teknolojileri ile üretim sürecinde iskele tasarımı önemli bir aşamadır. Üretilen iskelenin fiziksel ve mekanik özellikleri tasarım aşamasında oluşturulmaktadır. İskele tasarım süreci hücresel birim tasarımı, yapısal iskelenin oluşturulması ve damarlanmayı içeren üç aşamalı bir işlemdir. Çalışma kapsamında yapılan araştırma sonucu hücresel birim ve yapısal iskelenin tasarımında CAD tabanlı sistemlerin yoğun bir şekilde kullanıldığı görülmüştür. CASTS yöntemiyle, özellikle hızlı prototipleme yöntemi ile üretilen kemik iskeleleri için önemli bir veri kaynağı sağlanmaktadır. 3B yazıcılarla üretilen iskelelerin mimarisi CAD yazılımları ile etkin bir şekilde modellenabilmektedir. Bu sistemlerle üretilen yapay kemik iskelelerinin tasarım verileri CAD tabanlı sistemlerle elde edilebilmektedir. CASTS sistemlerinin yanı sıra görüntü tabanlı tasarım sistemler de yapay kemik iskele tasarımında önemli fırsatlar sağlamaktadır. CT/MRI taramaları ile hasarlı dokuların verileri elde edilerek IBD yöntemi ile 3B cerrahi bir model oluşturabilmek mümkündür. ISM yöntemi ile ise iskele yapıları tek bir denklem ile kolayca oluşturulmaktadır. TPMS'lerle oluşturulan hücresel yapılarla başarılı bir şekilde kemik iskeleleri oluşturulabilmektedir.

Yapay kemik iskelesi tasarımı sürecinde kullanılan yöntemlerin incelenmesine yönelik yapılan bu çalışmada, kemik iskele tasarımında yaygın olarak kullanılan CASTS, IBD ve ISM yöntemlerinin hızlı prototipleme teknolojileri ile iskele üretimi için önemli fırsatlar sağladığı görülmüştür. Çalışma kapsamında yapılan detaylı araştırma sonucunda IBD ve CASTS sistemlerinin birleştirilmesinin kemik iskelesi tasarımı için daha esnek bir ortam sağlayacağı öngörülmüştür. CT/MRI taramaları ile elde edilen nokta bulutları ile CAD tabanlı sistemlerde kemik iskelesi modelleme aşaması daha esnek bir hale getirilebilecektir. Böylece iskele tasarımında modelleme zamanı minimize edilirken, hasarlı kemiklerin birebir modellenmesi mümkün olabilecektir. Kemik iskelelerinin hızlı prototipleme teknolojileri ile oluşturulması aşamasında, hücre ve iskele yapılarının oluşturulması için hibrit yöntemlerin denenmesi bu konudaki çalışmalara önemli bir katkı sağlayacaktır.

Kaynaklar

- [1] Leppke, S., Leighton, T., Zaun, D., Chen, S. C., Skeans, M., Israni, A. K., Snyder, J. J., Kasiske, B. L. Scientific Registry of Transplant Recipients: Collecting, analyzing and reporting data on transplantation in the United States, *Transplantation Reviews* 2013; 27(2): 50–56.
- [2] Langer, R., Vacanti, J. P. *Tissue Engineering*, Science 1993; 260(5110): 920–926.
- [3] Martin, I., Wendt, D., Heberer, M. The role of bioreactors in tissue engineering, *Trends in Biotechnology* 2004; 22(2): 80-86.
- [4] Hutmacher, D. W. Scaffold in tissue engineering bone and cartilage, *Biomaterials* 2000; 21(24): 2529–2543.
- [5] Wang, Wenhao, and Kelvin WK Yeung. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review, *Bioactive Materials* 2017; 2(4): 224-247.
- [6] Wang, Hongjun, and Clemens A. van Blitterswijk. The role of three-dimensional polymeric scaffold configuration on the uniformity of connective tissue formation by adipose stromal cells, *Biomaterials* 2010; 31(15): 4322-4329.
- [7] Eltom, Abdalla, Gaoyan Zhong, and Ameen Muhammad. Scaffold Techniques and Designs in Tissue Engineering Functions and Purposes: A Review, *Advances in Materials Science and Engineering* 2019.

- [8] O'Brien, F. J. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering, *Materials Today* 2011; 14(3): 88-95.
- [9] Mark E. Furth, Anthony Atala, in *Principles of Tissue Engineering* (Fourth Edition); 2014.
- [10] Jaklenec, Ana, et al. Progress in the tissue engineering and stem cell industry "are we there yet, *Tissue Engineering Part B: Reviews* 2012; 18(3): 155-166.
- [11] Bandyopadhyay, A., Bose, S. *Characterization of Biomaterials* (First Edition), Elsevier Inc., 1,2; 2013.
- [12] Mourino, V., Boccaccini, A. R. Bone tissue engineering therapeutics: controlled drug delivery in three-dimensional scaffolds, *Journal of The Royal Society Interface* 2010; 7(43): 209–227.
- [13] Alford, A. I., Kozloff, K. M., Hankenson, K. D. Extracellular matrix networks in bone remodeling, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2015; 65(1): 20-31.
- [14] Seitz, H., Rieder, W., Irsen, S., Leukers, B., Tille, C. Three-dimensional printing of porous ceramic scaffolds for bone tissue engineering, *Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials* 2005; 74(2): 782-788.
- [15] Jones, A. C., Arns, C. H., Sheppard, A. P., Hutmacher, D. W., Milthorpe, B. K., Knackstedt, M. A. Assessment of bone ingrowth into porous biomaterials using MICRO-CT, *Biomaterials* 2007; 28(15): 2491-2504.
- [16] Rezwan, K., Chen, Q. Z., Blaker, J.J., Boccaccini, A. R. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering, *Biomaterials* 2006; 27(18): 3413-3431.
- [17] Müller, B., Deyhle, H., Fierz, F., Irsen, S., Yoon, J., Mushkolaj, S., Boss, O., Vondran, E., Gbureck, U., Degistrici, Ö. Bio-mimetic hollow scaffolds for long bone replacement, *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering* 2009; 7401.
- [18] Seitz, H., Rieder, W., Irsen, S., Leukers, B., Tille, C. Three-dimensional printing of porous ceramic scaffolds for bone tissue engineering, *Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials* 2005; 74(2): 782-788.
- [19] Rezwan, K., Chen, Q. Z., Blaker, J.J., Boccaccini, A. R. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering,

- Biomaterials 2006; 27(18): 3413-3431.
- [20] Salgado, A. J., Coutinho, O. P., Reis, R. L. Bone tissue engineering: state of the art and future trends, *Macromolecular Science* 2004; 4(8): 743-765.
- [21] Griffith, L. G., & Naughton, G. Tissue engineering--current challenges and expanding opportunities, *Science* 2002; 295(5557): 1009-1014.
- [22] Loh Q. L., Choong, C. Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: Role of porosity and pore size, *Tissue Engineering Part B Reviews* 2013; 19(6): 485–502.
- [23] Guo, Y., Liu, K., Yu, Z. Tetrahedron-Based Porous Scaffold Design for 3D Printing, *Designs* 2019; 3(16): 1-17.
- [24] Cao, H., Kuboyama, N. A biodegradable porous composite scaffold of PGA/ β -TCP for bone tissue engineering, *Bone* 2010; 46 (2): 386–395.
- [25] Yoshikawa, H., Tamai, N., Murase, T., Myoui, A. Interconnected porous hydroxyapatite ceramics for bone tissue engineering. *The Royal Society Interface* 2009; 6(3): 341-348.
- [26] Moroni, Lorenzo, J. R. De Wijn, and C. A. Van Blitterswijk. 3D fiber-deposited scaffolds for tissue engineering: influence of pores geometry and architecture on dynamic mechanical properties, *Biomaterials* 2006; 27(7): 974-985.
- [27] O'Brien, F. J. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering, *Materials Today* 2011; 14(3): 88-95.
- [28] Babensee, J. E., Anderson, J. M., McIntire, L. V., Mikos, A. G. Host response to tissue engineered devices, *Advanced Drug Delivery Reviews* 1998; 33(1-2): 111-139
- [29] Declercq, Heidi A., et al. The role of scaffold architecture and composition on the bone formation by adipose-derived stem cells, *Tissue Engineering Part A* 2013; 20(1-2): 434-444.
- [30] Chan, B. P., and K. W. Leong. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations, *European spine journal* 2008; 17(4): 467-479.
- [31] Partap, S., Lyons, F., O'Brien, F. J. Scaffolds & Surfaces. In: *Basic Engineering for Medics and Biologists, An ESEM Primer on Engineering for Medicine*, Lee, T. C., Niederer, P. (Eds.), IOS Press, Nieuwe Hemweg; 2010. 152, 187.
- [32] Hollister, S. J. Porous scaffold design for tissue engineering, *Nature Materials*

- 2005; 4(7): 518–524
- [33] Cheah, C. M., Chua, C. K., Leong, K. F., Chua, S. W. Development of a tissue engineering scaffold structure library for rapid prototyping. Part 1: Investigation and classification, *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology* 2003a; 21(4): 291-301.
- [34] Cheah, C. M., Chua, C. K., Leong, K. F., Chua, S. W. Development of a tissue engineering scaffold structure library for rapid prototyping. Part 2: Parametric library and assembly program, *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology* 2003b; 21(4): 302-312.
- [35] Cheah, C. M., Chua, C. K., Leong, K. F., Chua, S. W., Naing, M. W. Automatic algorithm for generating complex polyhedral scaffold structures for tissue engineering, *Tissue Engineering* 2004; 10(3-4): 595-610.
- [36] Giannitelli, S. M., Accoto, D., Trombetta, M., Rainer, A. Current trends in the design of scaffolds for computer-aided tissue engineering, *Acta Biomaterialia* 2014; 10(2): 580-594.
- [37] Liebschner, M. A. K. *Computer-Aided Tissue Engineering*, Humana Press. Springer Science+Business Media LLC, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA; 2012.
- [38] Hutmacher, D. W., Sittinger, M., Risbud, M. V. Scaffold-based tissue engineering: rationale for computer-aided design and solid free-form fabrication systems, *Trends Biotechnology* 2004; 22(7): 354-362.
- [39] Sun, W., Starly, B., Darling, A., Gomez, C. Computer-aided tissue engineering: application to biomimetic modelling and design of tissue scaffolds, *Biotechnology and Applied Biochemistry* 2004; 39(1): 49-58.
- [40] Liebschner, M. A., Müller, R., Wimalawansa, S. J., Rajapakse, C. S., & Gunaratne, G. H. Testing two predictions for fracture load using computer models of trabecular bone, *Biophysical journal* 2005; 89(2): 759-767.
- [41] Chantarapanich, N., Puttawibul, P., Sucharitpwatskul, S., Jeamwattanachai, P., Inglam, S., Sitthiseripratip, K. Scaffold library for tissue engineering: a geometric evaluation, *Computational Mathematical Methods in Medicine*, 2012; 40785.
- [42] Sudarmadji, Novella, Chee Kai Chua, and Kah Fai Leong. "The development of computer-aided system for tissue scaffolds (CASTS) system for functionally graded

- tissue-engineering scaffolds." *Computer-Aided Tissue Engineering*. Humana Press, Totowa, NJ, 2012; 111-123.
- [43] Naing, M. W., Chua, C. K., Leong, K. F., Wang, Y. Fabrication of customised scaffolds using computer-aided design and rapid prototyping techniques, *Rapid Prototyping Journal* 2005; 11(4): 249-29.
- [44] Nam, J., Starly, B., Darling, A., Sun, W. Computer aided tissue engineering for modeling and design of novel tissue scaffolds, *Computer-Aided Design Applications*, 2004; 633-640.
- [45] Bucklen, B. S., Wettergreen, W. A., Yuksel, E., Liebschner, M. A. K. Bone-derived CAD library for assembly of scaffolds in computer-aided tissue engineering, *Virtual and Physical. Prototyping* 2008; 3(1): 13-23.
- [46] Sun, W., Starly, B., Nam, J., Darling, A. Bio-CAD modeling and its applications in computer-aided tissue engineering. *Computer-Aided Design* 2005; 37(1): 1097-1114.
- [47] Murr, L. E., Gaytan, S. M., Medina, F., Lopez, H., Martinez, E., MacHado, B. I., Hernandez, D. H., Martinez, L., Lopez, M. I., Wicker, R. B., Bracke, J. Next-generation biomedical implants using additive manufacturing of complex cellular and functional mesh arrays. *Philosophical Transactions of The Royal Society A* 2010; 368(1), 1999-2032.
- [48] Sudarmadji, N., Tan, J. Y., Leong, K. F., Chua, C. K., Loh, Y. T. Investigation of the mechanical properties and porosity relationships in selective laser-sintered polyhedral for functionally graded scaffolds. *Acta Biomaterialia* 2011; 7(2): 530-537.
- [49] Hollister, S. J., Levy, R. A., Chu, T. M., Halloran, J. W., Feinberg, S. E. An image-based approach for designing and manufacturing craniofacial scaffolds. *International Journal of Oral Maxillofacial Surgery* 2000; 29(1): 67-71.
- [50] Smith, M H., Flanagan, C. L., Kemppainen, J. M., Sack, J. A., Chung, H., Das, S., Hollister, S. J., Feinberg, S. E. Computed tomography-based tissue-engineered scaffolds in craniomaxillofacial surgery. *The International Journal of Medical Robotics Computer Assisted Surgery* 2007; 3(3): 207-216.
- [51] Hollister, S. J., Maddox, R. D., Taboas, J. M. Optimal design and fabrication of scaffolds to mimic tissue properties and satisfy biological constraints, *Biomaterials* 2002; 23(20): 4095-4103.

- [52] McGurk, M., Amis, A. A., Potamianos P, Goodger, N. M. Rapid prototyping techniques for anatomical modelling in medicine. *Annals Royal College Surgeons England* 1997; 79 (3): 169-174.
- [53] Berry, E., Brown, J. M., Connell, M. Craven, C. M., Efford, N. D., Radjenović A., Smith, M. A. Preliminary experience with medical applications of rapid prototyping by selective laser sintering. *Medical Engineering and Physics* 1997; 19 (1): 90-96.
- [54] Pasko, A., Fryazinov, O., Vilbrandt, T., Fayolle, P. A., Adzhiev, V. Procedural function-based modelling of volumetric microstructures. *Graphical Models* 2011; 73(5): 165-181.
- [55] Kapfer, S. C., Hyde, S. T., Mecke, K., Arns, C. H., Schröder-Turk, G. E. Minimal surface scaffold designs for tissue engineering, *Biomaterials* 2011; 32(29): 6875-6882.
- [56] Ambu, R., Morabito, A. E. Porous Scaffold Design Based on Minimal Surfaces: Development and Assessment of Variable Architectures, *Symmetry* 2018; 10(9): 361.
- [57] Feng, J., Fu, J., Shang, C., Lin, Z., Li, B. Porous scaffold design by solid T-splines and triply periodic minimal surfaces. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering* 2018; 336 (1): 333-352.
- [58] Leong, K. F., Chua, C. K., Sudarmadji, N., Yeong, W. Y. Engineering functionally graded tissue engineering scaffolds, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 2008; 1(2): 140-152.
- [59] Chua, C. K., Leong, K. F., Sudarmadji, N., Liu, M. J. J., Chou, S. M. Selective laser sintering of functionally graded tissue scaffolds. *MRS Bulletin* 2011; 36(12): 1006-1014.
- [60] Cai, S., Xi, J., Chua, C. K. A novel bone scaffold design approach based on shape function and all-hexahedral mesh refinement, *Computer-Aided Tissue Engineering* 2012; 868(1): 45-55.
- [61] Rouwkema, J., Rivron, N. C., van Blitterswijk, C. A. Vascularization in tissue engineering, *Trends in Biotechnology* 2008; 26(8): 434-441.
- [62] Druecke, D., Langer, S., Lamme, E., Pieper, J., Ugarkovic, M., Steinau, H. U., Homann, H. H. Neovascularization of poly(ether ester) block-copolymer

scaffolds in vivo: Long-term investigations using intravital fluorescent microscopy, Journal of Biomedical Material Research Part A 2004; 68A(1): 10-18.

- [63] In Vitro ve In Vivo Arasındaki Fark. Bilim ve Doğa. [Online] <https://tr.betweenmates.com/difference-between-in-vitro-and-in-vivo-6187>, [Erişim Tarihi: 01.09.2019].
- [64] Yaşar, S., & Aydın, C. Endodontide doku mühendisliği. Türkiye Klinikleri Journal of Dental Sciences Special Topics 2010; 1(3): 58-65.