



ULUSLARARASI 3B YAZICI TEKNOLOJİLERİ  
VE DİJİTAL ENDÜSTRİ DERGİSİ

INTERNATIONAL JOURNAL OF 3D PRINTING  
TECHNOLOGIES AND DIGITAL INDUSTRY

ISSN:2602-3350 (Online)

URL: <https://dergipark.org.tr/ij3dptdi>

## DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE 3 BOYUTLU BİYO-BASKI İÇİN BİYOFONKSİYONEL MÜREKKEPLER

**Yazarlar (Authors):** Hilal Gülsena Nur Akkuş<sup>ID</sup>, Büşra Ece Günaydın<sup>ID</sup>, Cem Bülent Üstündağ<sup>ID\*</sup>

**Bu makaleye şu şekilde atıfta bulunabilirsiniz (To cite to this article):** Akkuş H.G.N., Günaydın B.E., Üstündağ C.B., "Doku Mühendisliğinde 3 Boyutlu Biyo-Baskı İçin Biyofonksiyonel Mürekkepler" *Int. J. of 3D Printing Tech. Dig. Ind.*, 4(3): 285-294, (2020).

DOI:10.46519/ij3dptdi.795922

Derleme Makale/ Review Article

Erişim Linki: (To link to this article): <https://dergipark.org.tr/en/pub/ij3dptdi/archive>

# DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE 3 BOYUTLU BİYO-BASKI İÇİN BİYOFONKSİYONEL MÜREKKEPLER

Hilal Gülsena Nur Akkuş<sup>a</sup>, Büşra Ece Günaydın<sup>a</sup>, Cem Bülent Üstündağ<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Metalurji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü, Davutpaşa Kampüsü İstanbul

\* Sorumlu Yazar: [cbustun@yildiz.edu.tr](mailto:cbustun@yildiz.edu.tr)

(Geliş/Received: 16.09.2020; Düzeltme/Revised: 22.11.2020; Kabul/Accepted: 18.12.2020)

## ÖZ

Günümüzde doku mühendisliği ve rejeneratif tıpta en çok kullanılan yöntemlerden biri 3 boyutlu biyo baskı yöntemidir. 3 boyutlu biyobaskı baskı, yaralı veya hastalıklı doku ve organların yerini alacak doku ve organ yapılarının yapımında çeşitli uygulamalara sahip gelişmekte olan bir teknolojidir. Bu yöntemde hücreler, büyüme faktörleri ve biyomalzemeler birleştirilir ve 3B baskı teknikleri kullanılarak yapay dokular ve organlar üretilir. 3 boyutlu baskının en önemli bileşenlerinden biri biyofonksiyonel mürekkeplerdir. Biyofonksiyonel mürekkepler, 3 boyutlu biyo baskı işleminde kullanılan, biyolojik olarak yazdırılabilir malzemelerdir. Üretilen organ ve dokunun özellikleri ve basım tekniği göz önünde bulundurularak uygun biyomürekkebi seçmek oldukça önemlidir. Farklı biyofonksiyonel mürekkep çeşitleri arasından uygun özelliklere sahip biyofonksiyonel mürekkep çeşidini seçmek basılan ürünün başarı şansını artırır. Bu derlemede biyoyazıcı çeşitlerine, uygun biyoyazıcı seçmek için gereken kriterlere, biyofonksiyonel mürekkeplerin özelliklerine, seçim kriterlerine, biyofonksiyonel mürekkep çeşitlerine ve doku mühendisliğinde kullanıldığı alanlara yer verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** 3 Boyutlu Biyobaskı, biyoyazıcılar, biyofonksiyonel mürekkepler, doku mühendisliği, biyomateryaller, rejeneratif tıp

## ABSTRACT

Nowadays, one of the most popular used methods in tissue engineering and regenerative medicine is the 3D bioprinting method. 3D bioprinting is an emerging technology that is used to produce tissue and organ structures to replace injured or diseased tissues and organs. In this method, cells, growth factors and biomaterials are combined and artificial organs and tissues are produced using 3D printing techniques. There are 3 types of printing techniques used in bioprinting. Biofunctional inks are one of the most important components of 3D printing. Biofunctional inks are bioprintable materials used in this process. It is very important to choose the appropriate biofunctional inks, considering the characteristics of the organ and tissue to be produced and the printing technique. Using the proper type of biofunctional inks increases the success rate of production. In this review it was examined types of bioprinters, selection criteria of bioprinters, properties of biofunctional inks, selection criteria of bioinks, types of biofunctional inks and the areas used in tissue engineering.

**Keywords:** 3D Bioprinting, bioprinters, biofunctional inks, tissue engineering, biomaterials, regenerative medicine

## 1.GİRİŞ

3 Boyutlu yazıcılar birçok alanda kullanıldığı gibi doku mühendisliği ve rejeneratif tıpta da sıkça kullanılır. Dünya genelinde artan organ nakli ihtiyacının karşılanması için de 3B yazıcılar oldukça önemlidir. 3 boyutlu baskı tekniğinden genellikle biyomimikri, kendiliğinden kurulma (self assembly) veya küçük doku blokları oluşturma yöntemleri kullanılır. Yapılan son çalışmalarda da bu yöntemler geliştirilerek doku ve organ işlevine uygun biyolojik ve mekanik özelliklere sahip 3 Boyutlu, işlevsel, canlı insan doku ve organlarını üretmek için kullanılıyor [1].

Biyobasım teknolojisi ile biyoaktif moleküller, hücreler, biyomalzemeler veya hücre kümeleri bir yapı üretmek için basılır. Bu teknoloji ile istenilen karmaşık yapılar geliştirilerek doku ve organları taklit etmek amaçlanır. Basılan yapıların porozitesi, geçirgenliği ve mekanik özellikleri ayarlanabildiği için bilgisayar destekli programlar ile birlikte kişiye özel fonksiyonel dokuların tasarlanmasını mümkün kılar [2].

3B baskı teknolojisinde istenilen dokular üç ana fabrikasyon stratejisi ile üretilir. Bunlar inkjet biyoyazıcılar, mikroektrüzyon biyoyazıcılar ve lazer destekli biyoyazıcılardır. Kullanılacak malzemeye ve hücre çeşidine göre basım tekniği belirlenir. Her bir tekniğin diğerlerine göre avantajları ve dezavantajları vardır. Inkjet biyobasım en eski basım metotlarından biridir. Biyofonksiyonel mürekkep damlacıklarının temassız olarak birikimine dayalı olan bu metod; termal, piezoelektrik ve mekanik olarak üçe ayrılır. Bu basım tekniği genellikle hücre ve malzemelerle uyumluluğu, yüksek basım hızı, yüksek hücre canlılığı ve düşük maliyeti sebebiyle tercih edilir. Yüksek viskoziteli materyaller kullanımını sınırlandırır. Diğer bir teknik olan mikroektrüzyon biyobasım teknolojisi, mürekkebin mekanik kuvvet ile veya pnömatik olarak (bir gaz veya basınçla) basılmasına dayanır. Bu metod yüksek viskoziteli materyallere uyumlu olmasının yanında yüksek hücre yoğunluğu ile basım yapabilmeye avantajları sağlar. Düşük maliyetlidir ve kolay basım sağlar. Viskozite düştükçe artırılan basınç hücre canlılığını olumsuz olarak etkiler. Lazer destekli biyobasımda ise hücreler, kontrollü hızlarda titreşen bir lazer ışınıyla basılır. Inkjet biyobaskı metodunun aksine bu metodda geniş viskozite aralığındaki materyaller basılabilir. Ayrıca bu metodda nozül bulunmadığı için diğer tekniklerde karşılaşılan sorunlardan biri olan nozül tıkanması olmaz. Bu metodun dezavantajları ise oldukça pahalı olması ve yüksek çözünürlük için jelleşme hızının yüksek olmasının gerekmesidir [1],[3].

3 Boyutlu yazıcıların ana bileşenlerinden birisi biyofonksiyonel mürekkeplerdir. Biyofonksiyonel mürekkepler, 3B biyo-baskı işleminde kullanılan biyolojik olarak yazdırılabilir malzemelerdir. Biyofonksiyonel mürekkepler iskele tabanlı ve iskelesiz olarak iki ana başlıkta incelenebilir. İlk ve en çok kullanılan çeşit olan iskele tabanlı biyofonksiyonel mürekkeplerde hücreler; hidrojellere, mikro taşıyıcılara veya hücreleştirilmiş matriks bileşenlerine yüklenerek istenilen doku 3 Boyutlu olarak basılır. Burada iskele biyomateryali, dokuları belli bir şekilde geliştirmek için bir ortam oluşturur. Enkapsüle edilmiş canlı hücreler, basılması istenilen dokunun şeklini alarak çoğalırken biyomalzeme zamanla degrade olur. İskelesiz biyofonksiyonel mürekkeplerde ise canlı hücreler embriyonik gelişimi taklit edebilecek şekilde direkt olarak basılır. Bu biyo-baskı sürecinde hücreler ilk önce neo-dokulara dönüştürülür. Ortaya çıkan yeni dokular daha sonra belirli modellerde/kalıplarda daha büyük ölçekli fonksiyonel dokuların üretimi için olgunlaştırılır. Doku sferoidleri, hücre topakları (cell pellets) ve doku şeritleri (tissue strands) bu yaklaşımda büyük ölçekli fonksiyonel üretimin yapılması için kullanılır [4],[5]. Biyofonksiyonel mürekkep çeşitlerinin avantajları, dezavantajları ve kullanım alanları *Çizelge 1'de* özetlenmiştir [5]. Bu makalede biyofonksiyonel mürekkeplerin özellikleri ve kullanılan farklı biyomateryallerin hücre çoğalması, basılabilirlik gibi parametrelere etkisi literatür taraması yapılarak derlenmiştir.

**Çizelge 1.** Biyofonksiyonel Mürekkep Çeşitlerinin Avantajları, Dezavantajları ve Kullanım Alanları

	Avantajları	Dezavantajları	Kullanım Alanları	
ISKELESİZ	Doku Şeritleri (Tissue Strands)	• Dokuyu taklit etme özelliği ve hücre-hücre etkileşimleri yüksek, ölçeklenebilir	Biyobasımı zor, düşük baskı çözünürlüğü ve doğruluğu, tek hücre kontrol edilebilirliği düşük, ticari kullanılabilirliği yok	• Doku Mühendisliği, transplantasyon
	Hücre Topakları (Cell Pellets)	• Yüksek hücre-hücre etkileşimi	Kalıp ile desteklenmesi gerekir, düşük baskı çözünürlüğü, tek hücre kontrol edilebilirliği düşük, ticari kullanılabilirliği yok	• Doku Mühendisliği, ilaç testleri
	Doku Sferoidleri	• Dokuyu taklit etme özelliği ve hücre-hücre etkileşimleri yüksek	Düşük çözünürlük ve doğruluk, biyobasımı zor ve uzun, tek hücre kontrol edilebilirliği düşük	• Doku Mühendisliği, transplantasyon, ilaç testleri, kanser araştırmaları
ISKELE TABANLI	Mikro Taşıyıcılar	• Çok iyi mekanik özellik, ekonomik, yüksek hücre ekim kapasitesi ve hücre konsantrasyonu, biyobasım süresi kısa	Düşük çözünürlük ve doğruluk, degradasyon ile ilgili sorunlar, tek hücre kontrol edilebilirliği düşük	• Doku Mühendisliği, hücre proliferasyonu, ilaç testleri
	Hüresizleştirilmiş ECM	• Dokuyu taklit edilebilirlik, hücre çoğalması ve farklılaşması, hücre canlılığı ve basım sonrası hücre etkileşimleri yüksek	İş gücü fazla ve pahalı, tek hücre kontrol edilebilirliği düşük, yapısal olarak zayıf, ticari kullanılabilirliği yok	• Doku Mühendisliği, transplantasyon, ilaç testleri
	Hidrojel	• Geniş kullanım alanı, yüksek çözünürlük ve doğruluk, kolay biyobasım, tek hücre kontrol edilebilirliği yüksek, biyobasım süresi kısa	Degradasyon ile ilgili sorunlar, sınırlı hücre-hücre etkileşimleri	• Doku Mühendisliği, transplantasyon, ilaç testleri, kanser araştırmaları

## 2. BİYOFONKSİYONEL MÜREKKEPLER

### 2.1 Biyofonksiyonel Mürekkeplerin Özellikleri

3 B Biyobaskı günümüzde organ/doku üretimi alanında en çok kullanılan yöntemlerden biri haline gelmiştir. Bu yöntemin başarılı sonuçlar elde etmesi için gereken en büyük etkenlerden biri de uygun biyofonksiyonel mürekkep seçimidir. Farklı biyofonksiyonel mürekkep çeşitleri arasında uygun özelliklere sahip biyofonksiyonel mürekkep çeşidini seçmek basılan ürünün başarı şansını artırır. Uygun biyofonksiyonel mürekkep seçilmediği durumlarda ortaya istenmeyen problemler çıkabilmektedir. Uygun özelliklere sahip mürekkep seçimi basılan organ veya dokunun birçok özelliğini de belirler. İdeal bir biyofonksiyonel mürekkepte biyolojik özellikler, malzeme özelliği, fiziksel ve mekanik birçok özelliğin bulunması gerekir [6]. Biyofonksiyonel mürekkeplerin bu özellikleri basılan ürünün baskı zamanı, basılan malzemenin morfolojik yapısı ve dayanıklılığı, ürünün yüzey alanı ve yüzey özelliğini, baskı süresi, basılabilirliği, hücre büyümesi veya farklılaşması, doku canlılığı, doku iyileşmesi, degrade olma süresi ve biyoyoumluluğunu etkiler [7].

Biyofonksiyonel mürekkeplerin kullanılacağı alana ve basılan ürüne göre değişiklik gösteren dikkat edilmesi gereken bazı özellikler vardır (*Şekil 1*). En önemli özelliklerden biri mekanik özelliklerdir [8]. Biyofonksiyonel mürekkebin sahip olduğu mekanik özellik, degradasyon oranı, geçirgenliği gibi özelliklerini basılan ürünün basılabilirliği, hücre canlılığını, basılan ürünün sahip olacağı mekanik özellikleri olumlu veya olumsuz anlamda etkiler. Ayrıca mürekkebin viskozitesi de basılan doku ya da organın çeşitli mekanik özelliklerini belirler [6].

Seçilen mürekkebin hidrofilik olması ve yüzey özellikleri de basılan ürünün bir canlıya uygulandığında hücre büyümesinde rolünü ve hücre büyümesindeki başarısını etkiler [6]. Biyofonksiyonel mürekkepler, sağladığı oksijen alışverişi, toksik özellikleri ve hücre yenilenmesine etkisi gibi birçok biyolojik özellik

taşır. Sentetik veya doğal biyofonksiyonel mürekkep seçiminin biyolojik özellikler üzerinde direkt etkisi vardır. Biyofonksiyonel mürekkep seçimi sırasında ayrıca çözünme özellikleri, jelleşme prosesi, biyoyumluluğu ve yüzey özellikleri de dikkat edilmesi gereken özellikler arasındadır [6].



Şekil 1. İdeal Biyofonksiyonel Mürekkep Seçiminde Dikkat Edilmesi Gereken Özellikler

## 2.2 Biyomürekkepler için Biyomalzemeler

3B basılan yapının mekanik, kimyasal ve morfolojik özellikleri hedeflenen doku ile benzer olmalıdır. Ayrıca biyobasım sırasında hücreleri etkileyen yüksek sıcaklık, organik solventler, çapraz bağlayıcı ajanlar gibi olumsuz etkilerden koruyacak bir ortam oluşturulmalıdır. Biyofonksiyonel mürekkepler bu özellikler için öncü bir role sahiptir. Bu sebeple biyofonksiyonel mürekkepler için biyomalzeme seçimi, istenilen doku/organın başarılı bir şekilde basılması için oldukça önemlidir. Kullanılabilecek biyomalzemeler içinde seramikler, polimerler, elastomerler, hidrojel ve lipidler sayılabilir [2]. İdeal bir biyofonksiyonel mürekkep seçiminde basılabilirlik, stabilite, biyoyumluluk, degradasyon süresi, biyolojik yanıt oluşturmaması ve viskozitesi dikkat edilmesi gereken başlıca özelliklerdir.

### 2.2.1 Polimerik Biyofonksiyonel Mürekkepler

Biyofonksiyonel mürekkep olarak kullanılan en önemli malzemelerden biri polimerlerdir. Polimerlerin sıkça kullanılma sebebi maliyetinin düşük olması, biyoyumlu olması ve basımının güvenli olmasıdır. Ayrıca şekil vermek kolay olduğu için basımında avantaj sağlar. Suyun içinde hacmi 10 kat genişleyebilen ve hidrofilik olan polimerler hidrojel olarak bilinir. Farklı biyomateryaller arasında hidrojel oldukça önemlidir. Hücrelere tutunma özelliği, değiştirilebilir kimyasal yapısı, ayarlanabilir mekanik ve biyodegradasyon özelliği, basım sırasında iyi bir çözünme sağlaması bunun sebeplerindendir. Kimyasal konfigürasyonu sebebiyle hücre çoğalması için uygun ortam sağlar [9]. Doku mühendisliği uygulamalarında doğal, sentetik veya semi-sentetik (doğal+sentetik) polimerlerden oluşmuş hidrojel kullanılır. Doğal polimerler, ECM nin doğal bileşenlerini taklit ederek bir hücre ortamı sağlar ancak sentetik polimerlerin çoğu, hücre yapışmasını veya yaşayabilirliğini teşvik eden uygun işlevleri içermez. Bu yüzden genellikle doğal ve sentetik polimerler karıştırılarak kullanılırlar. 3B Baskıda biyofonksiyonel mürekkep olarak kullanılan temel polimerler kollajen, fibrin, ipek, kitosan, aljinat, jelatin, hyaluronik asit, agaroz, polietilen glikol (PEG) ve jelatin metakrilattır. Çizelge 2 'de yaygın olarak kullanılan polimerlerin avantajları, dezavantajları ve doku mühendisliğindeki kullanım alanları özetlenmiştir.

### 2.2.1.1 Kollajen

Kollajen, ekstraselüler matriksin (ECM) ana bileşenidir. Memelilerde en çok bulunan proteindir. Tüm proteinlerin % 25'ini ve cildin % 70-80 'ini oluşturur. Kollajen, dokularda yapısal bir iskele görevi görür [10]. Yapısında glisin, prolin ve hidrokisprolin bulunan üçlü heliks yapısına sahiptir. 3B biyoyazıcılarda biyofonksiyonel mürekkep olarak hem tek başına hem de diğer polimerlerle birlikte kullanılır. Jelleşmesi veya çapraz bağlanması (crosslinking) için en az 30 dakika ve 37 °C sıcaklık gereklidir. Dolayısıyla kollajen direkt olarak kullanıldığında serttir. Diğer materyallerle birlikte kullanılması mekanik özelliklerini geliştirerek 3B basımını kolaylaştırır [11-12]. Farklı çalışmalarda kollajen; cilt, kemik, kıkırdak, kardiyovasküler, karaciğer, kornea ve sinir sistemi doku mühendisliği uygulamalarında biyofonksiyonel mürekkep olarak kullanılmış ve etkisi kanıtlanmıştır [13]. Albanna vd. [14] tarafından (2019) yapılan deneylerde biyofonksiyonel mürekkep olarak kollajen ve fibrinojen; dermal fibroblastlar ve epidermal keratinositler ile 3B olarak basılmıştır. Sonucunda oluşturdukları iskelenin yara iyileşmesini ve epitelizasyonu hızlandırdığı görülmüştür. Diğer bir çalışmada ise Yang vd. (2017) [15] kollajen ve sodyum aljinatı 3B yapılar geliştirebilmek için biyofonksiyonel mürekkep olarak kondrositlerle birlikte kullandılar. Sonucunda kıkırdak doku mühendisliği uygulamalarında kollajen ve aljinat kombinasyonunun tercih edilebileceği görülmüştür.

### 2.2.1.2 Aljinat

Aljinat, kahverengi su yosunlarından elde edilen doğal ve anyonik bir polisakkarittir. Biyoyumlu, düşük maliyetli ve farklı basım tekniklerine uygun olması önemli özelliklerindedir. Lineer bir kopolimer olan aljinat,  $\beta$ -(1-4)-D-mannuronik asit (M) ve  $\alpha$ -(1-4)-L-guluronik asit (G) monomerlerinden oluşur [16]. Aljinatın yapısı elde edildiği bölgeye göre değişir. M, G veya M ve G bloklarının birarada bulunduğu zincir konformasyonları görülebilir. Yapısındaki monomerlerin oranı ve sırası, polimerin özelliklerini etkileyen parametrelerdir. Örneğin G bloğunun fazla olması jelleşmeyi artırırken, M bloğunun fazla olması jelleşme kapasitesini azaltır. Aljinatın bir diğer özelliği de su ve diğer molekülleri kılcal kuvvetler ile absorbe edebildiği gibi tekrar dışarıya yayılmasına izin verebilmesidir. Bu özellik aljinatı biyofonksiyonel mürekkepler için ideal kılar [17]. Aljinat biyomürekkepler ayrıca çeşitlilikleri ve mekanik özelliklerinin uyarlanabilmesi sayesinde kök hücreler, fibroblastlar, nöronlar ve hepatositler dahil olmak üzere çok çeşitli hücre tiplerinin basımı için kullanılabilir. Kıkırdak, kemik ve vasküler doku mühendisliği uygulamalarında en çok tercih edilen polimerlerden biridir. Aljinat yapılarının basım kolaylığı göz önüne alındığında, hücre büyümesi ve davranışı üzerindeki etkileri sebebiyle tek başına veya farklı polimerlerle birlikte kullanılabilir [18].

Aljinat biyomürekkebin tek başına kullanımında hücre büyümesini desteklemesi için düşük miktarda M bloğu içermesine dikkat edilir. Vasküler doku mühendisliğinde kullanımında oksijen ve besinleri hücrelere taşıyan kanalların olmaması durumunda koaksiyel baskı püskürtme uçları kullanılarak basım gerçekleştirilir [19]. Aljinat, doğal polimerlerden jelatin, agaroz, kollajen, hyaluronik asit ve sentetik polimerlerden polietilen glikol (PEG), pluronik F-127 gibi polimerlerle birlikte basılmıştır [19]. Ayrıca nöral doku mühendisliğinde de agaroz, karboksimetil kitosan gibi polimerlerle birlikte kullanılmıştır [4]. Kemik doku mühendisliği uygulamalarında düşük mekanik özelliklerin iyileştirilmesi için hidroksiapatit ve polikaprolakton ile birlikte kullanıldığı çalışmalar yapılmıştır. Kıkırdak doku mühendisliği için ekstraselüler matriksi taklit etmesi için polikaprolakton 3B yapılarla, nanofibrillenmiş selüloz ile kullanıldığı; düşük ekstraselüler matriks oluşması durumunda ise polikaprolakton+büyüme faktörleri ile birlikte kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Ayrıca kıkırdak doku mühendisliği uygulamalarında aljinat sülfatın basılabilirlik özelliğini yükseltmek amacıyla nanoselüloz ile kombine halde kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır [19].

### 2.2.1.3 Kitosan

Kitinin deasetilasyonu ile oluşan kitosan biyolojik olarak parçalanabilir, biyoyumlu, düşük maliyetli ve antibakteriyel özellikte olması sebebiyle kitosan hidrojelleri kemik, deri ve kıkırdak doku mühendisliği uygulamalarında tercih edilen doğal polimerlerden biridir. Çalışmalar kitosan hidrojinin hücre çoğalmasında artırdığını göstermektedir [20]. Ürkmez vd. [21], HS2 insan keranosit hücre hattını; jelatin, aljinat ve kitosandan elde edilen hidrojelde birlikte 3 Boyutlu olarak basarak epidermis benzeri bir yapı üretmişlerdir. Deneyler sonucunda, üretilen biyofonksiyonel mürekkebin deri doku mühendisliğinde kullanım potansiyeli olduğu görülmüştür. Demirtaş vd. (2017) [22] yaptığı çalışmada

MC3T3-E1 pre-osteoblast hücresi kitosan, kitosan-hidroksiapatit ve aljinat, aljinat-hidroksiapatit hidrojenlerine yüklenerek karşılaştırmaları yapılmıştır. Tüm grupların viskoelastik özelliğe sahip olduğu ve çözeltilerinin viskozite değerlerinin 3B yazıcıda kullanılabilir aralıkta olduğu görülmüştür. Basıldıktan sonra tüm gruplarda hücre canlılığı devam etmiştir. Sonucunda kitosan hidrojenlerin en yaygın çözüm olan aljinattan daha üstün olduğu, hücre çoğalması, proliferasyon ve osteojenik farklılaşmayı geliştirdiği görülmüş olup kemik doku mühendisliği uygulamalarında tercih edilebileceğini göstermiştir. Ayrıca Lee vd. (2017) [23] 'de kemik doku mühendisliği için kitosan-jelatin-hidroksiapatit ile iskele oluşturmuşlardır. Başka bir çalışmada ise He vd. (2020) [24] kitosanın modifiye edilmesiyle uygun mekanik özelliklerde elde edilen karboksimetil kitosan ve kondrosit hücreleri ile oluşturulmuş biyofonksiyonel mürekkebin kıkırdak doku mühendisliği için 3B biyobaskıda kullanılmaya uygun olabileceği sonucuna varılmıştır.

#### 2.2.1.4 İpek

İpek, çoğunluğu fibroinden oluşan protein yapılı bir malzemedir. Genellikle böceklerin (ipek böcekleri veya örümcekler) larvalarının içinde büyüdüğü kozalardan elde edilir. Bu genelde dut ipek böceği larvalarının kozalarıdır[6]. Çok kuvvetli mekanik özellikler sahip olduğu için üzerinde çalışmak çok kolaydır. Biyoyumumluluğu, hücre geçirgenliği ve doku uyumluluğu nedeniyle rejeneratif tıpta ve doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılır. İpek protein konsantrasyonunun basit ayarlanmasıyla ayarlanabilir sertlik sağlar. Ayrıca hücre doku canlılığı açısından da önemli avantaj sağlar. Nadiren tek başına kullanılsa da genellikle aljinat veya jelatin gibi malzemelerle karıştırılarak degrade olabilen iyi mekanik özelliklere sahip ürünler oluştururlar. Ayrıca PEG ile karıştırılması da yaygın kullanım yöntemlerinden biridir [7].

#### 2.2.1.5 Fibrin

Fibrin hidrojenler protein yapıda olan malzemelerdir. Trombin ve fibrinojenlerin enzimatik reaksiyonu sonucu meydana gelirler. İnsan vücudunda kanın içinde bulunurlar ve pıhtılaşmaya destek olurlar[7]. Biyoyumumluluk, biyodegradasyon ve jelleşme yönünden büyük avantaj sağlar. Ancak zayıf mekanik özellikleri nedeniyle dezavantaj oluştururlar. Bu dezavantajı ortadan kaldırmak amacıyla genelde hyaluronik asit gibi diğer polimerlerle karıştırılarak kullanılırlar [25]. Karıştırılan hyaluronik asit miktarı arttıkça viskozite artar. Bu tür karışımlar genelde vasküler uygulamalar sırasında kullanılırlar. Genellikle inkjet yöntemiyle basılan malzemelerde kullanılırlar [7].

#### 2.2.1.6 Hyaluronik Asit

Hyaluronik asit (HA) ECM içinde bulunan bir polisakkarit polimerdir. Kıkırdak ve bağ dokularında çok miktarda bulunur. Hücre adezyonu (hücre yapışması) özelliği 3B baskı için kullanılmasında büyük avantaj sağlar[7]. Ancak bu polimerde de tek başına kullanıldığında zayıf mekanik özellikleri ve uzun jelleşme süresi büyük dezavantaj sağlarlar[26]. Bu dezavantajları ortadan kaldırmak için genellikle bir başka polimerle karıştırılarak veya kimyasal olarak değiştirilerek kullanılırlar[8]. HA fibrinden başka PEG (Polietilen Glikol) ile karıştırılarak menisküs benzeri yapıların basılmasında kullanılır. Bir diğer kullanıma yöntemi de kimyasal çapraz bağlama (crosslinking) ile modifiye edilerek daha stabil bir yapı oluşturulur [5].

#### 2.2.1.7 PEG (Polietilen Glikol)

PEG doku mühendisliğinde en çok kullanılan sentetik malzemelerden biridir. PEG tek başına hidrojel olmadığı için biyo mürekkep alanında genellikle PEG-DA ve PEG-MA çeşitleri tercih edilir [7]. En önemli dezavantajı tek başına bir hücreye bağlanmasının zor olmasıdır. Bioinert bir malzemedir [1]. Hüresel etkileşimleri arttırmak amacıyla fibronektin, kollojen, elastin gibi biyopolimerlerle karıştırılarak kullanılabilir. Yapılan çalışmalarda ipek/PEG biyo mürekkep jellerinin hücre basımı ve işlevi için uygun iskele ortamı sağlayabileceği görülmüştür [27]. Ayrıca PEG, ayarlanabilir mekanik özellikleri sayesinde kullanıldığı alanda büyük avantaj sağlar [28]. FDA onaylı ticari bir polimerdir bu sebeple diğer biyo-uyumlu biyomateryaller için uygun bir katkı maddesidir. Birçok fiziksel (doğrusal, çok kollu, farklı moleküler ağırlıklarda) ve kimyasal varyasyonları bulunduğu için ideal bir çapraz bağlayıcıdır. Düşük polimer fraksiyonlu mürekkeplerin yazdırılabilir olmasını sağlamaya yardımcı olabilir [29].

### 2.2.1.8 Pluronik

Pluronik sentetik bir poloksomerdir [6]. Mükemmel biyouyumluluğu, hücre uyumluluğu ve miyotoksisitesinin az olması sebebiyle tercih edilen bir malzemedir. Ancak çok stabil olmamasından dolayı genellikle baskı sırasında destekleyici olarak kullanılır [25].

**Çizelge 2.** Biyofonksiyonel Mürekkep için Kullanılan Polimerlerin Genel Özellikleri

POLİMER	AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI	KULLANILDIĞI ALANLAR	REF
KOLLAJEN	Biyouyumluluk Hücre Adezyonu	Çok sert Uzun İşlem Süresi	Cilt, kemik, kırık, kardiyovasküler doku mühendisliği, karaciğer, kornea üretimi	[12], [13]
ALJİNAT	Biyouyumluluk Ucuz Maliyet Difüzivite	Biyoinert	Kırık, kemik ve vasküler doku mühendisliği	[19]
KİTOSAN	Biyouyumluluk Düşük Maliyetli Antibakteriyel	Su hassasiyeti	Kemik, deri ve kırık doku mühendisliği	[20]
İPEK	Biyouyumluluk Kuvvetli Mekanik Özellik Doku Uyumluluğu	Çok Sert Zayıf Hücre Canlılığı	Deri, kırık ve kemik doku mühendisliği, kan damarı üretimi	[26], [30]
FİBRİN	Biyouyumluluk Biyodegradasyon	Zayıf Mekanik Özellikler	Kardiyovasküler doku mühendisliği ve doku iskeleti üretimi	[25]
HYALURONİK ASİT	Hücre Adezyonu	Zayıf Mekanik Stabilite Uzun Jelleşme Süresi	Kemik ve kırık doku mühendisliği, menisküs benzeri yapıların üretimi	[5], [7]
PEG	Zayıf Hücre Etkileşimi Ayarlanabilir Mekanik Özellik	Bioinert	Vasküler, kırık ve kemik doku mühendisliği	[28]
PLURONİK	Biyouyumlu Suda Çözünebilen	Baskı için stabilitesi düşük	Vasküler doku mühendisliği	[25]



### 3. SONUÇ

#### 3.1 Değerlendirme

Günümüzde doku mühendisliği ve rejeneratif tıpta en çok kullanılan yöntemlerden biri 3 boyutlu biyo baskı yöntemidir. 3 B biyobaskının yaygınlaşması ile beraber biyofonksiyonel mürekkepler üzerine yapılan çalışma sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Bu durumda bize eşsiz bir bilgi kaynağı sunar. Bu bölümde 3B biyobaskı üzerine yapılan literatür taramasının önemli noktaları değerlendirilmiştir. 3B baskı teknolojisinde istenilen dokular üç ana fabrikasyon stratejisi ile üretilir. Bunlar inkjet biyoyazıcılar, mikroektrüzyon biyoyazıcılar ve lazer destekli biyoyazıcılardır [1]. 3 Boyutlu yazıcıların ana bileşenlerinden birisi biyofonksiyonel mürekkeplerdir. Biyofonksiyonel mürekkepler, 3B biyobaskı işleminde kullanılan biyolojik olarak yazdırılabilir malzemelerdir[4]. Biyofonksiyonel mürekkepler iskele tabanlı ve iskelesiz olarak iki şekilde incelenebilir[5].

İdeal bir biyofonksiyonel mürekkepte biyolojik özellikler, malzeme özelliği, fiziksel ve mekanik birçok özelliğin bulunması gerekir [6]. Biyofonksiyonel mürekkeplerin bu özellikleri basılan ürünün baskı zamanı, basılan malzemenin morfolojik yapısı ve dayanıklılığı, ürünün yüzey alanı ve yüzey özelliğini, baskı süresi, basılabilirliği, hücre büyümesi veya farklılaşması, doku canlılığı, doku iyileşmesi, degrade olma süresi ve biyoyumluluğunu etkiler [7]. İdeal bir biyofonksiyonel mürekkep seçiminde basılabilirlik, stabilite, biyoyumluluk, degradasyon süresi, biyolojik yanıt oluşturmaması ve viskozitesi dikkat edilmesi gereken başlıca özelliklerdir. Biyofonksiyonel mürekkepler için biyomalzeme seçimi, istenilen doku/organın başarılı bir şekilde basılması için oldukça önemlidir. Kullanılabilecek biyomalzemeler içinde seramikler, polimerler, elastomerler, hidrojeller ve lipidler sayılabilir [2].

Biyofonksiyonel mürekkep olarak kullanılan en önemli malzemelerden biri polimerlerdir. Polimerlerin sıkça kullanılma sebebi maliyetinin düşük olması, biyoyumlu olması ve basımının güvenli olmasıdır. Ayrıca şekil vermek kolay olduğu için basımında avantaj sağlar. 3B baskıda biyofonksiyonel mürekkep olarak kullanılan temel polimerler kollajen, fibrin, ipek, kitosan, aljinat, jelatin, hyaluronik asit, agaroz, polietilen glikol (PEG) ve jelatin metakrilattır[5]. Çalışmanın içerisinde bu polimerlerin avantajları, dezavantajları ve doku mühendisliğindeki kullanım alanları özetlenmiştir.

#### 3.2 Tartışma

3B biyobaskı doku mühendisliğinde; hedef dokunun/organın istenilen yapıda ve özelliklere sahip olarak üretilmesi için ihtiyaç duyulan ve gelişmekte olan bir teknolojidir. Hedef doku veya organ üretilirken öncelikle kullanılacak malzemeye ve hücre çeşidine göre basım tekniği belirlenir. Biyomürekkepler, biyobaskının ana bileşenidir. İstenilen dokuya özgü hücre hatları kullanılarak; kontrol edilebilir degradasyon, mekanik özellik ve esneklikteki biyoyumlu yapıların oluşturulmasını sağlar. Bu da biyofonksiyonel mürekkeplerin doku mühendisliği uygulamalarında yaygın olarak kullanılma sebeplerindedir. Belirli hücreleri içeren biyomateriyallerden oluşabildiği gibi doku sferoidleri, hücre topakları ve doku şeritlerinden de oluşabilir. İskele olarak farklı doğal (aljinat, kollajen vb.) ve sentetik (PCL, PEG vb.) polimerlerden oluşabilir. Bunun yanında hücreleştirilmiş ECM ve mikro-taşıyıcılarla da basılabilir.

Dünya çapında biyofonksiyonel mürekkeplerle ilgili çalışmalar devam etmekte olup istenilen dokunun/organın oluşturulması ve kişiye özgü tasarımlar için umut vaat etmektedir. Bu makalede 3B biyobaskım tekniklerine, biyofonksiyonel mürekkep seçimindeki kriterlere, yaygın olarak kullanılan biyofonksiyonel mürekkep çeşitlerine ve doku mühendisliğindeki uygulama alanlarına yer verilmiştir. Doku mühendisliği çalışmalarında fayda sağlaması amaçlanmaktadır.

### 4. KAYNAKLAR

1. Hacıoğlu, A., Yılmaz, H., Ustundag, C.B., "3D Printing for tissue engineering applications", Journal of Polytechnic, Vol. 21, Issue 1, Pages 221-227, 2018.
2. Mobaraki, M., Ghaffari, M., Yazdanpanah, A., Luo, Y., Mills, D.K., "Bioinks and bioprinting: A focused review", Bioprinting, Vol. 18, e00080, 2020.

3. Noh, S., Myung, N., Park, M., Kim, S., Zhang, S.U., Kang, H.W., “3D Bioprinting for tissue engineering”, Kim, B.W. (Editors), *Clinical Regenerative Medicine in Urology*, Pages 105–123, Springer. Singapore, 2017.
4. Gopinathan, J., Noh, I., “Recent trends in bioinks for 3D printing”, *Biomaterial Research*, Vol. 22, Number 11, 2018.
5. Hospodiuk, M, Dey, M, Sosnoski, D, Ozbolat, I.T., “The Bioink: A comprehensive review on bioprintable materials”, *Biotechnology Advances*, Vol.35, Issue 2, Pages 217-239, 2017.
6. Williams, S.K., Hoying, J.B., “Bioinks for bioprinting”, Turksen, K. (Editors), *Bioprinting in regenerative medicine*, Pages 1-31, Springer. Switzerland, 2015.
7. Camacho, P., Busari, H., Seims, K.B., Tolbert, J.W., Chow, L.W., “Materials as bioinks and bioink design” Güvendiren, M. (Editors), *3D Bioprinting in medicine technologies, bioinks, and applications*, Pages 67-100, Springer, Switzerland, 2019.
8. Zhang, L.G., Fisher, J.P., Leong K., “3D Bioprinting and nanotechnology in tissue”, *Engineering and Regenerative Medicine*, Elsevier, 2015.
9. Lei, M., Wang, X., “Biodegradable polymers and stem cells for bioprinting”, *Molecules*, Vol. 21, Issue 539, 2016.
10. Brett, D., “A review of collagen and collagen based wound dressings”, *Wounds*, Vol. 20, Issue 12, Pages 347-356, 2015.
11. Mori, H., Shimizu, K., Hara, M., “Dynamic viscoelastic properties of collagen gels with high mechanical strength”, *Material Sciences and Engineering*, Vol. 33, Issue 6, Pages 3230–3236, 2013.
12. Smith, C.M., Stone, A.L., Parkhill, R.L., Stewart, R.L., Simpkins, M.W., Kachurin, A.M., Warren, W.L., Williams, S.K, “Three-dimensional bioassembly tool for generating viable tissue-engineered constructs”, *Tissue Engineering*, Vol. 10, Issue (9–10), Pages 1566–1576, 2004.
13. Yang, X, Lu, Z, Wu, H, Li, W, Zheng, L, Zhao, J. “Collagen-alginate as bioink for three-dimensional (3D) cell printing based cartilage tissue engineering”, *Material Science and Engineering*, Vol. 83, Pages 195-201, 2018.
14. Osidak, E.O., Kozhukhov, V.I., Osidak, M.S., Domogatskiy, S.G., “Collagen as bioink for bioprinting: A comprehensive review”, *International Journal of Bioprinting*, Vol.6, Issue3, 2020.
15. Albanna, M., Binder, K. W., Murphy, S.V., Kim, J., Qasem, S. A. , Zhao, W., Tan, J., El-Amin, I.B., Dice, D. D. , Marco, J., Green, J., Xu, T., Skardal, A., Holmes, J.H., Jackson, J. D., Atala A., Yoo J.J., “In situ bioprinting of autologous skin cells accelerates wound healing of extensive excisional full-thickness wounds”, *Scientific Report*, Vol. 9, 2019.
16. Pahlevanzadeh, F., Mokhtari, H., Bakhsheshi-Rad, H.R., Emadi, R., Kharaziha, M., Valiani, Poursamar, A.S., Ismail, A.F., Ramakrishna, S., Berto F., “Recent trends in three-dimensional bioinks based on alginate for biomedical applications”, *Materials*, Vol.13, Issue 18, 2020.
17. Tezcan, F., “Aljinat/ kil biyopolimer nanokompozit filmlerin eldesi ve karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2008.
18. Piras, C.C., Smith, D.K., “Multicomponent polysaccharide alginate-based bioinks”, *Journal of Materials Chemistry B*, Issue 36, Pages 8171-8188, 2020
19. Axpe, E, Oyen, M.L. “Applications of alginate-based bioinks in 3D bioprinting”, *Internatioanl Journal of Molecular Science*, Vol.17, Issue 12, Article:1976, 2016.

20. Uslu, B., Arbak, S., “Doku “mühendisliğinde kitozanın kullanım alanları”, Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, Cilt: 1,Sayı: 3, Sayfa 128-135, 2010.
21. Şendemir, Ü.A., Seçkin, U., Görgün, C., Uyanıkgil, Y., “Deri doku mühendisliği amaçlı üç boyutlu biyobaskı ve keratinosit kültürü”, Dicle Tıp Dergisi / Dicle Medical Journal, Cilt 45, Sayı 1, Sayfa 9 – 18, 2018.
22. Demirtaş, T., Irmak, G., Gümüşderehoğlu, M., “A bioprintable form of chitosan hydrogel for bone tissue engineering”, Biofabrication, Vol. 9, Issue 3, 2017.
23. Lee, C.M., Yang, S.W., Jung, S.C., Kim, B.H., “Oxygen plasma treatment on 3D printed chitosan/gelatin/hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering”, Journal of Nanoscience and Nanotechnology, Vol.17,Issue 4, Pages 2747–2750, 2017.
24. He, Y., Derakhshanfar, S., Zhong, W., Li, B., Lu, F., Xing, M., Li, X., “Characterization and application of carboxymethyl chitosan-based bioink in cartilage tissue engineering”, Journal of Nanomaterials , 2020.
25. Shirwaiker,R.A., Purser, M.F., Wusk,R.A., “Scaffolding hydrogels for rapid prototyping based tissue engineering”, Rapid Prototyping of Biomaterials Principles and Applications, Pages 176-200, 2014.
26. Gungor-Ozkerim, P.S., Inci, İ., Zhang, Y.S., Khademhosseini, A., Dokmeci, M.R., “Bioinks for 3D bioprinting: an overview”, Biomater Science, Vol.1, Issue 6, Pages 915–946, 2018.
27. Zheng, Z., Wu, J., Liu, M., Wang, H., Li, G., Wang, X., Kaplan, D.L., Rodrugiez, M.J., “3D bioprinting of self-standing silk-based bioink”, Advanced Healthcare Materials, Vol.7, Issue 6, 2018.
28. Shen, Ji S., Guvendiren, M, “Recent advances in bioink design for 3D bioprinting of tissues and organs”, Front Bioeng Biotechnol, Vol.5, Issue 23, 2017.
29. Rutz, A.L., Hyland, K.E., Jakus, A.E., Burghardt, W.R., Shah, R.N., “A multimaterial bioink method for 3D printing tunable”, Cell-Compatible Hydrogels, Advanced Materials, Vol.27, Issue 9, Pages 1607–1614, 2015.
30. Chawla, S., Midha, S., Sharma, A., Ghosh, S., “Silk-based bioinks for 3D bioprinting”, Advanced Healthcare Materials, Vol. 7, Issue 8, 2018.