Çoc. Cer. Derg. 2020;34(3):79-84
doi:10.5222/JTAPS.2020.78095

Özgün Araştırma / *Research Article*

Üç boyutlu biyo-üretim: İlk izlenimlerimiz ve Çocuk Cerrahisindeki potansiyeli

Three-dimensional biofabrication: Our first impressions and its potential in Pediatric Surgery

Emil Mammadov[1,2], Ersin Aytaç[2], Ali Türk[2], Nurullah Akkaya[2], Görkem Say[2]
Berk Yılmaz[2], Gökhan Bürge[2], Tolga Yırtıcı[2], Ertunç Kırgül[2]

[1]Yakın Doğu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Lefkoşa, KKTC
[2]Yakın Doğu Üniversitesi, DESAM Enstitüsü, NEU3D Laboratuvarı, Lefkoşa, KKTC

ÖZ

Amaç: *Çalışmanın amacı, katmanlı üretim araçlarından biri olan 3B biyo-yazıcıyı tasarlayıp üretmek ve çocuk cerrahisi alanında potansiyel kullanım alanlarını değerlendirmektir. Üç eksende hareket etme yetisine sahip, bilgisayar kontrollü kod ile koordinat verilebilen ve kartuş içeriğinin hareketsiz tablaya baskısını yapan cihazın tasarım ve üretimi üniversitenin 3B tasarım ve baskı laboratuvarı tarafından yapılmıştır. Programlama için araştırmacılar tarafından geliştirilen "Ferret" programlama dili kullanılmıştır. Dış tasarım standart laminer kabin ebatlarına göre yapılmıştır. Üç boyutlu biyo-baskı testleri için %20 jelatin (Sigma Aldrich, MI, ABD) çözeltisi kullanılmıştır. Test baskıları için doku mühendisliği alanında kullanılan üç boyutlu iskele modeli, açık yara için deneysel örtü modeli ve organ benzeri yapı olarak kulak modeli seçilmiştir. İskele yapısı Solidworks (Dassault Systemes, Velizy-Villacoublay, Fransa) yazılımı ile tasarlanmış, açık yara örtü modeli için Fusion360 (Autodesk Inc, CA, ABD) yazılımı kullanılmıştır. Organ benzeri model olarak ise Synapse3D (Fujifilm, Tokyo, Japonya) yazılımı ile bilgisayarlı tomografi görüntülerinden kulak yapısı segmente edilmiş ve ".stl" uzantılı dosya haline getirilmiştir. Cihazımız x,y ve z ekseninde hareket edebilen ve steril enjektör içeriğini Petri kabına üç boyutlu basabilen bir makine olarak üretilmiştir. Doku mühendisliği alanında kullanılan iskele baskısı, yara fotoğrafı üzerinden yapılan örtü modeli ve BT taraması ile elde edilen kulak modelinin üç boyutlu baskıları başarıyla tamamlanmıştır. Çocuk cerrahisi alanındaki doku mühendisliği çalışmalarında, üç boyutlu biyo-yazıcıların büyük bir potansiyelinin olduğunu ve araştırmalarımıza yepyeni bir boyut kazandıracağını düşünmekteyiz. Özellikle doku takviyesi ihtiyacı olan nüks hipospadias olguları, diafragma ve karın ön duvarı defektlerinin öncelikli çalışma alanları olabileceğinin kanısındayız.*

Anahtar kelimeler: *Üç boyutlu biyo-üretim, üç boyutlu yazıcılar, doku mühendisliği, biyo-yazıcılar*

ABSTRACT

Objective: *The objective of the study was to design and produce a 3D bioprinter and to evaluate its potential uses in the field of Pediatric Surgery. The design and production of the device whose coordinates could be given with computer-controlled code and having the ability to move in three axes and print the contents of the cartridge on the stationary print bed were realized at the university 3D design and printing laboratories. The Ferret programming language was used for programming and exterior design was made according to the standard laminar cabin dimensions. A 20% gelatin (Sigma Aldrich, MI, USA) solution was used for three-dimensional bioprinting tests. For test bioprints scaffold model used in the field of tissue engineering, for open wound experimental dressing model and for organ-like structures ear model were selected. Scaffold structure was designed with Solidworks (Dassault Systemes,Velizy-Villacoublay, FR) software and open wound experimental dressing model was designed in Fusion360 (Autodesk, CA, USA) software. As an organ-like model, the ear structure has been segmented from the computed tomography images with Synapse3D (Fujifilm, Tokyo, JP) software and converted into ".stl" file. Our device was produced as a machine that can move in the x, y and z axes and can press the sterile syringe contents into the Petri dish in three dimensions. The three-dimensional prints of the scaffold, the experimental wound dressing model obtained from the wound photo and organ model obtained from the CT scan were successfully bioprinted. We think that three-dimensional bioprinters have a great potential in tissue engineering studies in the field of pediatric surgery and will add a brand-new dimension to our research capabilities. We conceive that recurrent cases of hypospadias which especially need tissue reinforcement, diaphragmatic and anterior abdominal wall defects seem to be the primary areas of study.*

Keywords: *Three-dimensional biofabrication, three-dimensional printers, tissue engineering, bioprinters*

© Telif hakkı Türkiye Çocuk Cerrahisi Derneği'ne aittir. Logos Tıp Yayıncılık tarafından yayınlanmaktadır.
Bu dergide yayınlanan bütün makaleler Creative Commons Atıf-GayriTicari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.
© Copyright Turkey Association of Pediatric Surgery. This journal published by Logos Medical Publishing.
Licenced by Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0)

Alındığı tarih: 03.06.2020
Kabul tarihi: 20.10.2020
Yayın tarihi: 30.12.2020

Atıf vermek için: Mammadov E, Aytaç E, Türk A. Üç boyutlu biyo-üretim: İlk izlenimlerimiz ve Çocuk Cerrahisindeki potansiyeli. Çoc. Cer. Derg. 2020;34(3):79-84.

Emil Mammadov
Yakın Doğu Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi
Anabilim Dalı,
Lefkoşa, KKTC
dremilmammadov@gmail.com
ORCID: 0000-0001-8143-1643

ORCID Kayıtları

E. Aytaç 0000-0002-7124-4438
A. Türk 0000-0003-3188-0242
N. Akkaya 0000-0002-4070-7444
G. Say 0000-0001-5317-2349
B. Yılmaz 0000-0002-7020-3343
G. Bürge 0000-0003-2789-2013
T. Yırtıcı 0000-0002-8861-6461
E. Kırgül 0000-0001-6100-3617

Bu çalışma, 15-19 Ekim 2019 tarihlerinde Ankara'da yapılan 37. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresi'nde sunulmuş ve Prof. Dr. İhsan Numanoğlu Deneysel Araştırma Ödülü'ne layık görülmüştür. Yazarlar bu çalışma için çıkar çatışması olmadığını açıklarlar.

Giriş

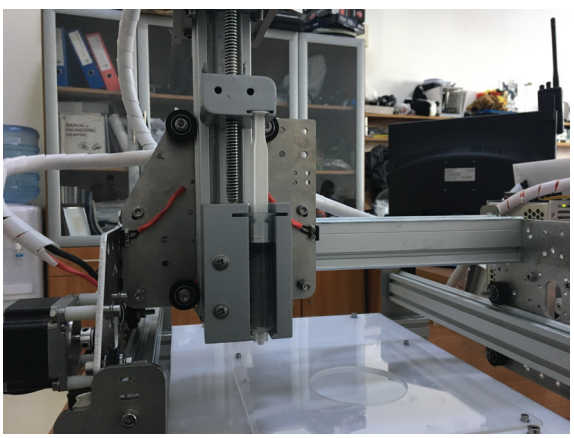
Üç boyutlu yazıcıların tıp dünyasında kullanımı, son yıllarda üzerinde en çok durulan ve gelecekte doku ve organ üretimi için umut vadeden konuların başında gelmektedir [1-5]. Tüm üç boyutlu yazıcıların çalışma prensibi temelde basittir. Üç boyutlu yazıcı, üç eksende (x,y,z) hareket yeteneğine sahip ve bilgisayar tarafından verilen koordinatlarla yapılan tasarımı üç boyutlu olarak üretebilen bir cihazdır. Başlangıçta yalnızca hızlı prototipleme ve küçük çapta seri plastik parça üretimi için kullanılan bu yazıcılar, materyal çeşitliliğinin artmasıyla yazıcı teknolojileri de evrim geçirmiş ve böylece üç boyutlu biyo-üretim kavramı da ortaya çıkmıştır. Bu çalışmamızın amacı, rejeneratif cerrahi alanında kullanılabilecek mikro ekstrüzyon bazlı 3B biyo-yazıcıyı üretip, araştırma merkezleri arasında iş birliğine açık bir 3B biyo-üretim (3D biofabrication) platformu oluşturmak ve Türk çocuk cerrahisi camiasının da 3B biyo-üretim alanına adım atmasını sağlamaktır.

Cihaz Tasarımı ve Test Modeli Seçimi

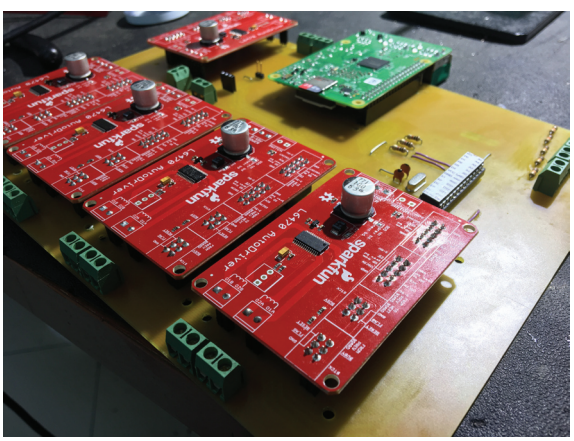
Cihazımız, küçük ölçekli bir ortamda (azami 20x20x15 cm) baskı yapabilecek ve mikro ekstrüzyon teknolojisi ile çalışan bir yazıcı olarak tasarlanmıştır. Cihazdaki hareketler beş stepper motor tarafından sağlanmaktadır. Ekstruder diye tabir ettiğimiz kısım Luer kilitli enjektörü (Braun Omnifix Solo 10 cc, Braun GmbH, Frankfurt, Almanya) tutan ve belli basınçla enjektör içeriğini tablaya akıtan bir parçadır. Cihazın en önemli parçası olmakla birlikte, pompa sistemi de stepper motorlar tarafından hareket ettirilmektedir. Test baskıları için rejeneratif tıp çalışmalarında üç faklı alanda kullanılan modeller seçilmiştir. İlk model olarak doku mühendisliği alanında kullanılan üç boyutlu 20x20x4mm iskele (scaffold) modeli Solidworks (Dassault Systemes, Velizy-Villacoublay, Fransa) yazılımı ile tasarlanmıştır. Bir diğer model ise araştırmacıların bugünlerde üzerinde çalışmakta olduğu açık cerrahi yara sağaltımında kullanılma potansiyeli olan üç boyutlu yara örtüsü modelidir. Bu modelin tasarımı için cerrahi arşivimizde bulunan açık yara fotoğrafları Fusion360 (Autodesk Inc, CA, ABD) yazılımına aktarılmış ve üç boyutlu yara örtüsü modeli oluşturulmuştur. Tam organ modeli olarak ise küçük boyutta olması nedeniyle kulak seçilmiş olup, Synapse3D (Fujifilm, Tokyo, Japonya) yazılımı ile hastane arşivindeki bilgisayarlı tomografi görüntülerinden hasta gizliliği korunarak kulak yapısı segmente edilmiş ve ".stl" uzantılı üç boyutlu dosya haline getirilmiştir. Tüm modellerin üç boyutlu biyo-baskı testleri için %20 jelatin (Sigma Aldrich, MI, ABD) çözeltisi hazırlanmış ve kullanılmıştır.

Cihaz Üretimi ve Test Baskıları

Cihazımız x,y ve z ekseninde hareket edebilen ve steril enjektör içeriğini Petri kabına üç boyutlu basabilen bir makine olarak üretilmiştir (Resim 1). Biyo-yazıcının ana beyni olarak Teensy 3.6 platformu ile istenilen x, y, z eksenlerinde rahat hareket yeteneğini sağlamak için toplam 5 adet stepper motor kullanılmıştır. Teensy platformu ile stepper motor sürücüleri olan L6470 arasındaki haberleşme SPI protokolü ile sağlanmıştır (Resim 2). Stepper motor sürücüleri araştırmacılar tarafından geliştirilen mikroişlemci programlama dili olan "Ferret" ile kontrol edilmiştir. Yine aynı programlama dilinde biyo-yazıcıya SD kart-

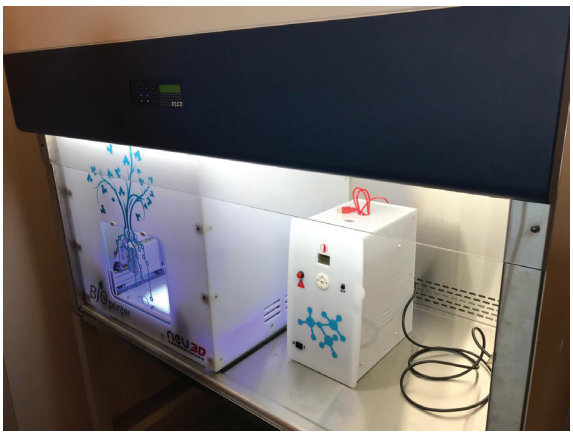


Resim 1. Cihazın mekanik tasarımı.

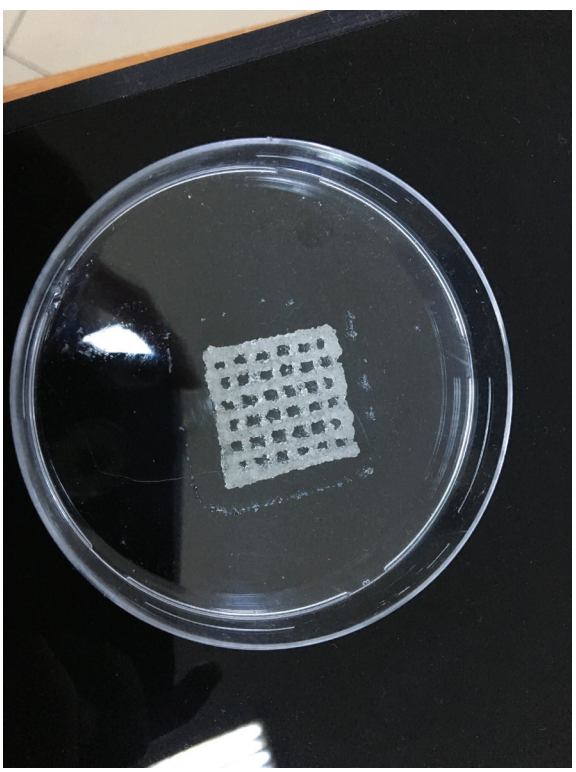


Resim 2. Devre ve motor sürücüleri.

tan okunan g-code yorumlanmıştır ve o hassasiyette yön verilmiştir ki bu hassasiyet 100 mikron seviyesindedir. Aynı zamanda gerekli ayarların yapılması için ekran kurulmuş ve kullanılabilmesi için menü oluşturulmuştur. Bu menüde gerekli hız ayarının yapılması, başlangıç noktasına dönüş, baskıyı durdurma, hangi baskının çıkarılacağını seçme gibi özellikler bulunmaktadır. Dış kutunun tasarlanması için ölçülerin sınırını belirleyen faktörlerden olan biyo-yazıcının içine konulacağı laminer akım kabininin ölçüleri alınmış ve taslak halinde çizilmiştir. Cihazın ön kapağı şeffaf yapılarak içerideki işlemlerin görünmesi planlanmıştır. Ön şeffaf kapak istenildiği zaman takılıp çıkarılabilir şekilde üretilmiştir (Resim 3).

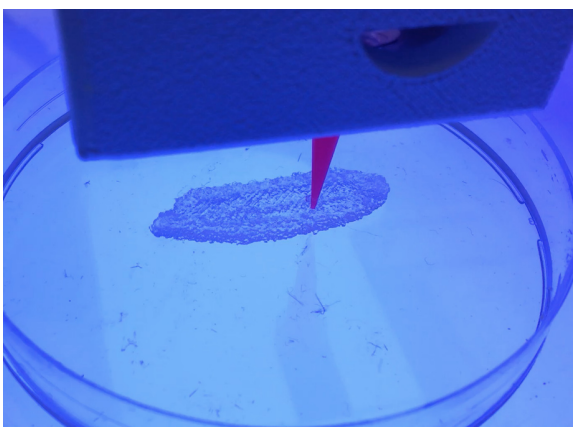


Resim 3. Cihazın dış tasarımı (laminer akım kabini içinde).

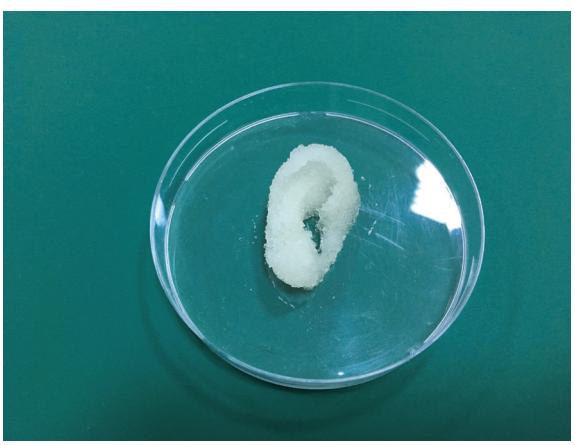


Resim 4. Üç boyutlu iskele (scaffold) modeli.

Üç boyutlu biyo-üretim aşamasında cihazımızın montajı üniversitemizin Hücre ve Doku Kültürü Laboratuvarına yapılmış ve tüm baskı testleri laminer akım kabini içinde oda ısısında gerçekleştirilmiştir. Baskı hızı olarak 10 mm/s seçilmiş, baskı "z" katman yüksekliği 100 mikron, dış çeper 1 adet, iç dolgu yoğunluğu %20 ve dolgu düzeni lineer olarak ayarlanmıştır. Uç (nozzle) olarak 25 G konik plastik uçlar ve künt uçlu iğneler kullanılmıştır. İskele yapısının (Resim 4) baskısı 2 dk., yara örtüsü modelinin baskısı 6 dk. (Resim 5) kulak yapısının (Resim 6) baskısı ise 13 dk. sürmüştür. Her üç test modelinin baskısı beş kez yinelenmiş olup, baskı sürelerinde ve modellerin makroskopik görünümünde anlamlı bir fark gözlenmemiştir.



Resim 5. Deneysel yara örtüsü modeli.



Resim 6. Kulak modeli.

Tartışma

Üç boyutlu biyo-yazıcılar çeşitli teknolojiler ile çalışmakta olup, inkjet baskı, valf bazlı baskı, ışık işleme, lazer bazlı baskı ve ekstrüzyon (pnömatik, vida) yöntemleri bunların başında gelmektedir [6-15]. Yöntemin karmaşıklığı arttıkça baskı maliyetleri artmakta ancak sonuçlar da canlı dokuya daha yakın olmaktadır. Şu anda dünyada birçok merkez bu konuda yoğun bir çalışma içindedir ve bu merkezlerin bir kısmı kendi biyoyazıcılarını üretmiştir. Her yıl dünya çapında yaklaşık 30.000 üç boyutlu yazıcı satılmaktadır ve akademik kurumlar doku ve organ mühendisliği araştırmalarında üç boyutlu biyo-üretim teknolojisini giderek daha fazla alıp uygulamaktadır. Endüstriyel biyo-yazıcılar çok daha yüksek maliyetlidir, ancak yazdırabilecekleri malzemede daha iyi çözünürlük, hız, konumsal kontrol ve daha fazla esnekliğe sahiptir.

Üç boyutlu biyo-yazıcılar sayesinde yalnızca doku ve organ üretimi değil, ilaçların organ ve dokulara etkisinin araştırılması hayvan modelleri kullanmaksızın yapılabilmektedir. Tüm bu çalışmaların amacı, ilaç araştırmaları için hayvan kullanımını minimize etmek, hücre doku ilişkisini daha iyi anlamak ve sonuçta nakle uygun tam fonksiyonel doku veya organ üretmektir. Bugünlerde exvive3D Liver ve exvive3D Kidney adında, karaciğer ve böbrek üç boyutlu doku modelleri piyasaya sürülmüş olup ilaç çalışmalarında testlerine başlanmıştır [16].

Üç boyutlu biyo-üretim için kullanılan teknolojilerin farklı özellikleri; yüzey çözünürlüğü, hücre canlılığı ve baskı için kullanılan biyolojik materyaller ışığında göz önüne alınmalıdır. En yaygın ve uygun fiyatlı 3D biyoyazıcılar mikro ekstrüzyon yöntemini kullanmaktadır. Mikro ekstrüzyon biyo-yazıcıları genellikle, sıcaklık kontrollü bir malzeme taşıma ve dağıtım sisteminden oluşan ve x, y, z eksenleri boyunca hareket edebilen cihazlardır. Piyasadaki bazı sistemler, yeniden malzeme yüklemeye gerek kalmadan birkaç malzemenin seri baskısını kolaylaştırmak için çoklu ekstruder kullanır. Mikro ekstrüzyon biyobaskı teknolojisinin temel avantajı, çok yüksek hücre yoğunluklarını biriktirme yeteneğidir. Doku mühendisliğinde organlarda fizyolojik hücre yoğunluklarının elde edilmesi, biyo-üretim alanı için ana amaçtır. Bununla beraber, mikroekstrüzyon biyo-baskıdaki hücre canlılığı, mürekkep püskürtmeli biyo-baskıdan daha düşüktür ve hücre sağkalım oranları %40-86 arasındadır [14]. Mikro ekstrüzyon ile biriken hücrelerin canlılığının azalması, yüksek viskoziteli sıvılarda hücrelere uygulanan kayma gerilmelerinden (shear stress) kaynaklanmaktadır. Dağıtım basıncının hücre canlılığı üzerinde başlık çapından daha önemli bir etkisi olabilir. Hücre canlılığı düşük basınçlar ve kalın uç (nozzle) kullanılarak korunabilir, ancak bu da çözünürlük ve baskı hızı kaybına neden olabilir. Yüksek canlılığı korumak, doku işlevselliğini sağlamak için esastır. Birçok çalışma, baskıdan sonra hücre canlılığını koruduğunu bildirmesine rağmen, araştırmacıların bu hücrelerin yalnızca yaşamda kalmayıp aynı zamanda doku yapısında temel işlevlerini yerine getirdiklerini göstermesi önemlidir. Üretimini tamamladığımız cihaz da mikro ekstrüzyon tekniği ile baskı yapmaktadır. Cihazda kullanılan ekstrüzyon "vida mikro ekstrüzyon" tekniğidir. Bu teknik bize piyasada serbestçe bulunabilen Luer kilitli steril enjektörleri (Braun Omnifix 10cc) kullanmamıza olanak sağlamaktadır. Ayrıca istenildiğinde ekstruder kısmı değiştirilebilmektedir ve böylece pahalı biyomürekkep dolu kartuşlar satın almaya gerek kalmadan, hidrojel ve hücre birleşimini (biyomürekkep) steril şartlarda hazırlamamız daha kolay olmaktadır. Uç (nozzle) olarak ise iç çapı 0.2-1 mm arası değişen kesik uçlu steril iğneler kullanılabilmektedir. Cihazımız üç eksende hareket etmekte ve üç boyutlu hidrojel yapılarını Petri kabı içinde oluşturmaktadır. Baskı volümü bu alanla sınırlı olmayıp aslında 20x20x15 cm boyutundadır. Ancak, rejeneratif tıp çalışmalarında sterilite önceliğimiz olduğundan şu anda yalnızca bir Petri kabı büyüklüğünde bir alanı kullanmaktayız. Cihazın dış tasarımı hem biyolojik materyalleri dış etkenlerden koruma hem araştırmacı güvenliği için laminer akım kabinine uygun şekilde yapılmıştır. Cihazımızın hareket kabiliyeti 100 mikrondur, ancak cihaz ile üretimi yapılan yapıların hassasiyeti baskı yapılan hidrojel ile değişmektedir.

Çalışmamızda kullanılan her üç modelin de 3B biyobaskısının yapılabildiği ve yinelenebilir olduğu gösterilmiştir. Bu modellerin seçilme nedeni son dönemde rejeneratif tıp çalışmalarında en sık kullanılan model tipleri olmasıdır. Doku mühendisliği çalışmalarının adeta sembolü haline gelmiş iskele (scaffold) yapısının temel çalışma prensibi içerisinde bulunan hücrelerin in-vivo ortamda belli bir süre üç boyutlu yapıda kalmasını sağlamak ve böylece canlı ortamda hücreler arasında daha sağlıklı bir ilişki sağlanarak

(ekstrasellüler matris oluşumu, hücreler arası sinyal mekanizmaları vb.) yeni doku oluşturma potansiyelinin arttırılmasıdır. Konuyla ilgili halihazırda birçok çalışma yürütülmektedir. Kök hücre, kas, sinir, kardiyovasküler ve adipoz hücrelerinin üç boyutlu baskısının olası olduğunu gösteren çalışmaların ortak kısıtlılığı, yapı boyutunda 200-300 mikronun üzerine çıkıldığında ciddi oranda hücre ölümü yaşandığı ve bunun da vaskülarizasyon eksikliği nedeniyle olduğu ortaya konmuştur [17]. Yani yalnızca biyo-baskıyı yapabilmek cihazın çalıştığını göstermekle beraber, fonksiyonel bir dokunun veya doku adacığının oluşacağının garantisini vermemektedir.

Çocuk cerrahisi alanında üç boyutlu biyo-üretimin çok büyük potansiyelinin olduğunu düşünmekteyiz. Öncelikli alanlar olarak doku gereksinimi olan rekonstrüktif cerrahi uygulamaları düşünülmüştür. Özellikle hem cilt hem üretra için doku gereksinimi olan nüks hipospadias veya hipospadias sakatı olguları ön plana çıkmaktadır. Bu alanda uzun süredir doku mühendisliği çalışmaları devam etmekte ve çoğunluğu hazır üretilmiş polimer iskele veya hücrelerden arındırılmış doku matrisleri kullanılmaktadır [18]. Bu yapı iskeleleri bugünlerde farklı üretim teknikleri (electrospinning, phase separation, freeze-drying ve gel casting) ile üretilmekte, üç boyutlu biyo-yazıcılar bu alanda şimdilik aktif kullanılmamaktadır. Bunun en önemli nedeni biyo-baskıda kullanılan hidrojellerin yeterli güce ve dayanıma sahip olmamasıdır. Ancak, polimer biliminin hızlı gelişimi sayesinde çok yakın zamanda yeterli güce sahip ve sütürasyona uygun hidrojelleri de görmemiz olası olacaktır. Böylece standart yöntemlerle üretilmiş iskelelere göre hasta seçimi yapmak yerine hastaya özgü üç boyutlu basılmış iskelelerin üretimi yapılabilecektir. Üç boyutlu biyo-üretim yalnızca hastaya özgü yamaların üretilmesine olanak sağlamayacak, bu üretimi hem daha kısa sürede hem daha düşük maliyet ile yapabilmemizi sağlayacaktır. Bu alanda doku takviyesi için hastanın kendi hücrelerini içeren yamalar, üç boyutlu biyo-üretim kullanılarak üretilip 3-4 haftalık inkübasyon sonrası hastaya nakledilebilir.

Akla gelen diğer kullanım alanları ise karın ön duvarı defektleri ve diyafragma defektleri olan olgulardır. Bu tür defektlerde ise yapısal olarak çok daha güçlü canlı yamalara gereksinim duyulmakta ve devreye bir daha polimer bilimi girmektedir. Bu aşamada daha güçlü biyo-mürekkeplerin geliştirilmesi beklenebilir. Ancak, bir diğer alternatif de bugünlerde var olan güçlü biyobozunur polimerlerin üzerine 3B biyo-yazıcı kullanılarak hücre ve hidrojel ekimi yapılarak inkübe edilmesi ve matüre olmuş haliyle implante edilmesidir. Bu yöntemin bir benzeri 2006 yılında Atala ve ark. [19] tarafından çocuk hastalarda kollajen-poliglikolik asit iskeleleri kullanılarak mesane ogmentasyonu yapılarak kullanılmıştır. Bu çalışmada, her ne kadar biyo-yazıcı kullanılmasa da yazarların bu yaklaşımı benimseyerek sonraki dönemde yaptıkları çalışmalar için biyo-yazıcı üretmiş hatta bu amaçla bir rejeneratif tıp merkezi kurmuştur.

Fikrimizce çocuk cerrahisinde bu iki alandaki çalışmalar ile başlanıp aşama kaydedildikten sonra daha kompleks çok katmanlı tübüler yapılar (özofagus, trakea, ince barsak) ile ilgili araştırmalar planlanabilir. Tabii ki tüm bu yöntemlerin öncelikle deneysel olarak uygulanıp kanıtlanması gerekmektedir. Bu nedenle kurum içi ve kurumlar arası iş birliğine gidilerek projeler planlanabilir. Üç boyutlu baskı sürecinin en önemli özelliklerinden biri tasarım ve karar verme aşaması için araştırmacıların bir arada olma şartının olmamasıdır. Böylece bir merkezde tasarımı yapılan model 3B yazıcının bulunduğu diğer merkezde üretilebilmektedir [20].

Sonuç olarak, üretilmiş olduğumuz 3B biyo-yazıcının hem araştırmacılarımızın doku mühendisliği çalışmaları yapmasına olanak sağlayacağını hem bu alanda yeni araştırmacı yetiştirilmesine katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

Etik Kurul Onayı: Yoktur.
Çıkar Çatışması: Yoktur.
Finansal Destek: Bu çalışma Yakın Doğu Üniversitesi BAP Desteği ile yürütülmüştür (Proje no: SAG-2-2016-038)
Hasta Onamı: Yoktur.

Kaynaklar

1. Mironov V, Boland T, Trusk T, Forgacs G, Markwald RR. Organ printing: computer-aided jet-based 3D tissue engineering. Trends Biotechnol. 2003;21(4):157-61. https://doi.org/10.1016/S0167-7799(03)00033-7
2. Mironov V, Reis N, Derby B. Review: bioprinting: a beginning. Tissue Eng. 2006;12(4):631-4. https://doi.org/10.1089/ten.2006.12.631
3. Guillemot F, Mironov V, Nakamura M. Bioprinting is co-

ming of age: Report from the International Conference on Bioprinting and Biofabrication in Bordeaux (3B'09). Biofabrication. 2010;2(1):010201. https://doi.org/10.1088/1758-5082/2/1/010201
4. da Graca B, Filardo G. Vascular bioprinting. Am J Cardiol. 2011;107(1):141-2. https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2010.08.056
5. Dias AD, Kingsley DM, Corr DT. Recent advances in bioprinting and applications for biosensing. Biosensors (Basel). 2014;4(2):111-36. https://doi.org/10.3390/bios4020111
6. Gu BK, Choi DJ, Park SJ, Kim MS, Kang CM, Kim CH. 3-dimensional bioprinting for tissue engineering applications. Biomater Res. 2016;20:12. https://doi.org/10.1186/s40824-016-0058-2
7. Nelson B. 3-Dimensional bioprinting makes its mark: new tissue and organ printing methods are yielding critical new tools for the laboratory and clinic. Cancer Cytopathol. 2015;123(4):203-4. https://doi.org/10.1002/cncy.21543
8. Hong N, Yang GH, Lee J, Kim G. 3D bioprinting and its in vivo applications. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2017. https://doi.org/10.1002/jbm.b.33826
9. Mandrycky C, Wang Z, Kim K, Kim DH. 3D bioprinting for engineering complex tissues. Biotechnol Adv. 2016;34(4):422-34. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.011
10. Zhang YS, Yue K, Aleman J, Mollazadeh-Moghaddam K, Bakht SM, Yang J, et al. 3D Bioprinting for Tissue and Organ Fabrication. Ann Biomed Eng. 2016. https://doi.org/10.1007/s10439-016-1612-8
11. Richards D, Jia J, Yost M, Markwald R, Mei Y. 3D Bioprinting for Vascularized Tissue Fabrication. Ann Biomed Eng. 2016. https://doi.org/10.1007/s10439-016-1653-z
12. Graham DM. 3D bioprinting of human-scale tissues. Lab Anim (NY). 2016;45(5):155. https://doi.org/10.1038/laban.1006
13. Pati F, Gantelius J, Svahn HA. 3D Bioprinting of Tissue/Organ Models. Angew Chem Int Ed Engl. 2016;55(15):4650-65. https://doi.org/10.1002/anie.201505062
14. Murphy SV, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. Nat Biotechnol. 2014;32(8):773-85. https://doi.org/10.1038/nbt.2958
15. Hsieh FY, Hsu SH. 3D bioprinting: A new insight into the therapeutic strategy of neural tissue regeneration. Organogenesis. 2015;11(4):153-8. https://doi.org/10.1080/15476278.2015.1123360
16. Organovo. ExVive ™ Human Tissue Models & Services for Research 2016 [Available from: http://organovo.com/tissues-services/exvive3d-human-tissue-models-services-research/.
17. Ong CS, Yesantharao P, Huang CY, Mattson G, Boktor J, Fukunishi T, et al. 3D bioprinting using stem cells. Pediatr Res. 2018;83(1-2):223-31. https://doi.org/10.1038/pr.2017.252
18. Chan YY, Bury MI, Yura EM, Hofer MD, Cheng EY, Sharma AK. The current state of tissue engineering in the management of hypospadias. Nat Rev Urol. 2020;17(3):162-75. https://doi.org/10.1038/s41585-020-0281-4
19. Atala A, Bauer SB, Soker S, Yoo JJ, Retik AB. Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty. Lancet. 2006;367(9518):1241-6. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68438-9
20. Ovunc SS, Yolcu MB, Emre S, Mammadov E, Celayir S. Constructing low-cost simulation models in pediatric surgery and pediatric urology using 3D printing and hydrogel: Preliminary study. Çoc Cer Derg. 2019;33(1):24-30.