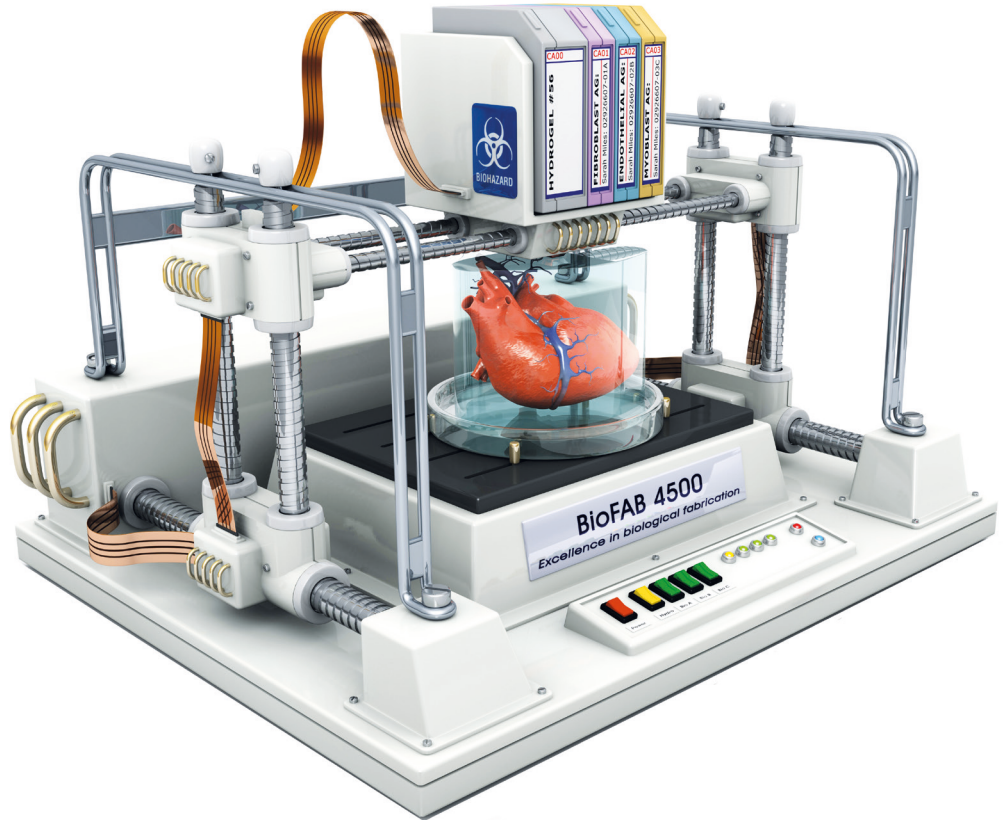


Yapay Organ Üretimi

3 Boyutlu Organ Prototiplenmesine Doğru

Son yıllarda kök hücreler üzerine yapılan başarılı çalışmalar üç boyutlu (3B) organ üretiminin hayal olmadığını gösterdi. Henüz tam anlamıyla işlevsel organlar üretilip hastalara nakledilemiyor, ancak bilimde çığır açıcı nitelik taşıyan bu konunun önemi giderek artıyor. ABD Sağlık ve İnsan Hizmetleri Dairesi'nin verilerine göre şu anda 100.000'den çok hastanın organ nakli için sırada beklediğini göz önüne alırsak, yapay organ üretiminin önümüzdeki yıllarda bilim dünyasında çok önemli bir yeri olacağı kesin. Bilim insanları önümüzdeki on beş yıllık süreçte bu konuda çok önemli sonuçlar alınmasını bekliyor.



Dr. Christopher Barnatt tarafından tasarlanan organ prototipleme kavramı: Hücrelerin 3B yazıcı tarafından, tabandan başlayarak katman katman üretilmesi

Organ Üretimi Ne Demektir, Yapay Organ Üretimi Nasıl Gerçekleştirilebilir?

Yapay organ üretimi insandan alınan kök hücreleri kullanarak, bir organın görevini yerine getirebilecek üç boyutlu, organ benzeri yapıların geliştirilmesidir.

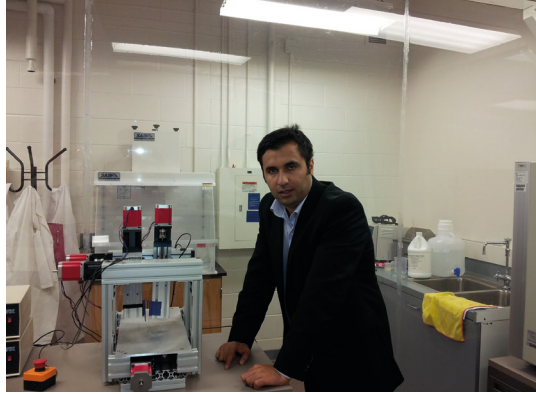
İşlevini çeşitli nedenlerden ötürü (örneğin kanser ve benzeri hastalıklar veya organ yaralanmaları) yitiren organların yerini alabilecek, tam anlamıyla olmasa da en önemli işlevini yerine getirebilecek, mevcut organın yerine nakledilebileceği gibi vücudun başka yerlerinde de konumlandırılacak organ veya organcık dediğimiz yapıların biyo-üretimine organ üretimi denir.

Organ üretimi araştırmalarında kullanılan kök hücreler, insanların çeşitli dokularından (örneğin kemik iliği) elde edilip hücre kültürlerinde sınırsız olarak çoğaltılabilen ve özelleşmiş hücrelere dönüşebilen yapılardır. Kök hücrelerin vücutta hasar gören dokuya nakledilerek dokuyu işlevsel olarak onarma özelliği yaygın olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda 3B hızlı prototipleme tekniğiyle kök hücrelerden özelleşen canlı hücrelerin biyo-malzeme içinde organ şeklinde prototiplenmesi ve doku kaynaşmasından sonra işlevsel yeterliliğe ulaşması, organ üretimi için en temel ögedir. Organ prototiplemesi gerçekleştirildikten sonra üretilen organ yapısı hücre ve doku kaynaşması için belli bir süre biyo-reaktörde bekletilir, aksi takdirde üretilen yumuşak yapı entegre olamaz ve çökmeye başlar. Yapıda meydana gelen bu çöküş hücreler üzerinde mekanik yük yaratır ve ölümlerine neden olur. Biyo-reaktör hücre bölünmesini ve doku kaynaşmasını hızlandıran, vücut ortamının özelliklerine benzer bir ortamı olan bir mekanizmadır. Organ prototiplendikten sonra çeşitli kriterlere bağlı olarak belli bir süre biyo-reaktör içerisinde barındırılır. Bu süre pek çok etkene (hücre çeşitleri, yapıda kullanılan biyo-malzeme, çözelti ve sıcaklık gibi) bağlı olarak değişim gösterir.

3B Hızlı Prototipleme Tekniği ve Biyomedikal Alandaki Kullanımı

3B hızlı prototipleme tekniği kendine özgü avantajlarından ötürü son yıllarda biyomedikal alanında çok rağbet görmeye başladı. 3B hızlı prototipleme, bilgisayar ortamındaki üç boyutlu tasarımlardan doğrudan fiziksel modeller elde etmemizi sağlayan bir imalat tekniği. Bu yöntemde, fiziksel modeller tabandan başlayarak yüzeylerin üst üste eklenmesiyle oluşturulur. Basılan her katman bir sonraki katman için temel işlevi görür. Geleneksel yöntemlerde, birden çok bileşene sahip bir model oluşturmak için her bileşeni ayrı ayrı üretim montajlamak gerekirken, bu yöntemle bütün model bir parça halinde, tek seferde ve çalışır durumda imal edilebiliyor. Örneğin binlerce bileşenden oluşan, her bir bileşeni farklı özelliklerdeki tezgâhlarda işlenip büyük montaj hatlarında birleştirilen bir otomobilin tek seferde, tek bir tezgâhta imal edildiğini düşünün. Bu teknoloji o kadar gelişmedi, ancak avantajları onu bir çok alanda bir adım öne çıkarıyor. Diğer üretim teknikleriyle üretilmeyen karmaşık yapıların, hızlı prototipleme tekniği ile üretimi ve biyo-malzemelere kolayca şekil verilerek bu yapı-

ları oluşturulması 3B hızlı prototipleme tekniğinin biyomedikal alanında da rağbet görmesini sağladı. Sentetik ve doğal birçok biyo-malzeme hızlı prototipleme tekniği ile geçici ve kalıcı implantların yapımında kullanılıyor. Bunun haricinde, hızlı prototipleme tekniği canlı hücrelerin biyomalzeme içine karıştırılarak, biyo-malzeme içerisinde basılmasının önünü açmış durumda.

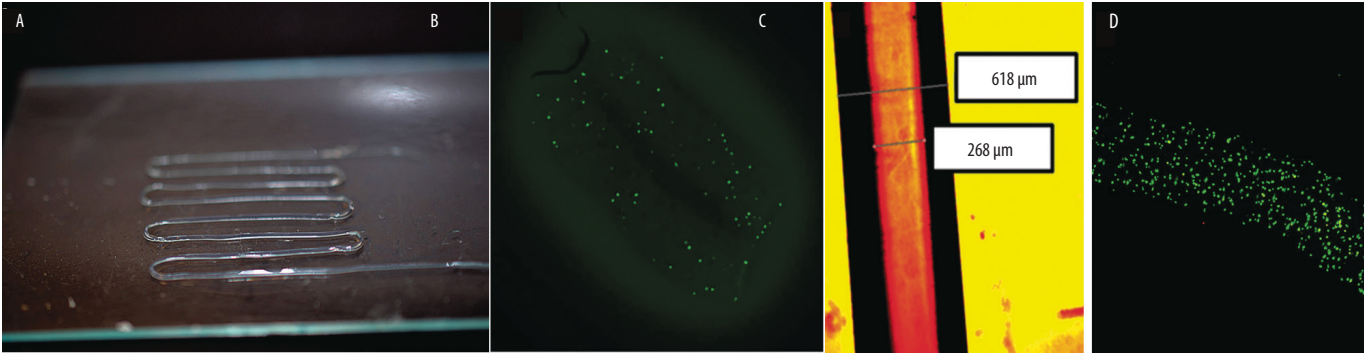


Dr. Özbolat'ın Biyo-üretim laboratuvarında geliştirilmekte olan çift kollu prototipleme robotu, aynı anda hem damar dokuyu hem de pankreas hücrelerinden oluşan ve insülin salgılayan dokuyu prototipleme üzerine tasarlandı.

Organ Üretiminde Hangi Noktadayız?

Dr. İbrahim Tarık Özbolat ABD'de yapay organ üretimi konusunda çalışıyor. Projelerinden biri yapay pankreas üretimi. Embriyo kök hücrelerinden değişerek insülin salgılayabilme özelliği kazanan hücrelerin, 3B prototipleme tekniğiyle montajını ve kaynaşmasını sağlayarak yeterli düzeyde insülin salgılayan pankreas yapısı üretimi üzerinde çalışmalar sürüyor. Üretilen 3B pankreas benzeri yapı, ileride insan vücudunun ana damarlarından birine yakın herhangi bir yerine nakledilebilecek ve insülin salgılayarak kandaki şeker oranını dengeleyebilecek bir mekanizmada önemli yer edinecek. Şu anki araştırmalar pankreasın insülin salgılayma işlevinde önemli bir yer tutan beta hücrelerine odaklanmış durumda. Ancak ilerleyen yıllarda doğal bir pankreasın sahip olduğu diğer hücre çeşitlerini de kapsayan heterojen bir yapının elde edilmesi planlanıyor.

Iowa Üniversitesi Hastanesi Klinik Laboratuvarları'nda, insülin üreten kök hücreler konusunda uzman olan Dr. Nicholas Zavazava ile ortak olarak yürütülen çalışmada, Biyo-Üretim Laboratuvarı'nda yapay pankreas üretimi için özel olarak tasarlanmış, damar benzeri mikro-akışkan yapılar geliştirildi. Kök hücrelerden oluşan canlı yapının canlılığını sürdürebilmesi için gereken damar benzeri yapıların geliştirilmesi çalışmaları devam ediyor. Kolojen, kitosan ve hyaluronik asit gibi doğal, yarı geçirgen biyo-malzemelerden yapılan mik-



Birden fazla kollu biyo-prototipleme platformunda üretilen, mikron büyüklüğündeki biyo-malzemedan oluşan damar benzeri yapılar ve içlerindeki kök hücreler (Zhang ve ark. 2012)

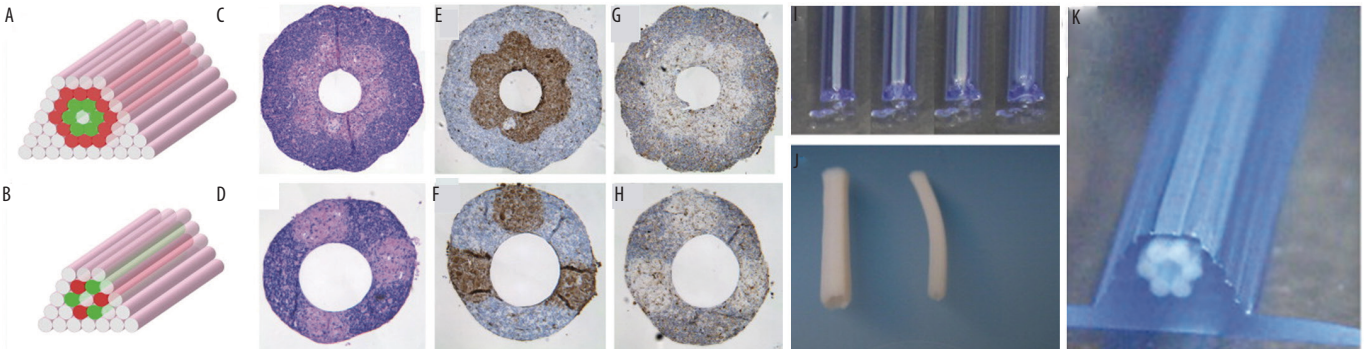
ro-akışkan kanallar, canlı hücrelerin besin, oksijen ve su ihtiyacını karşılama ve hücre topluluğunda oluşan metabolizma atıklarının sistemden uzaklaştırma görevini yerine getiriyor. Bu kanallar hızlı prototipleme tekniği ile özel bir sistem geliştirilerek üretiliyor. “Geçici” olan bu kanallar hücreler tarafından, biyo-malzeme türü ve konsantrasyonuna bağlı olarak belli bir zaman sonra, örneğin bir ay gibi bir sürede eritilip yok ediliyor. Geliştirilen özel bir 3B hızlı prototipleme tekniği aynı zamanda kök hücrelerin basılmasına da olanak sağlıyor. Şekilde görülen mikro-akışkan kanallar içinde kök hücreler kolayca basılıyor ve laboratuvar ortamında çoğaltılıp büyütülebiliyor. Bu kanalları insülin salgılayan hücreler ile beraber eş zamanlı olarak üretebilecek bir sistem geliştiren Biyo-üretim Laboratuvarı’ndaki araştırmacılar, sistemin otomasyonunu geliştirmek için farklı projeler üzerinde çalışıyor. Yukarıdaki şekilde pankreas üretim çalışmalarının yürütüldüğü, birden fazla kolu olan biyo-prototipleme platformunda üretilen damar yapıları gösterilmektedir.

Bu alandaki önemli gelişmelerden bir diğeri de Güney Carolina Üniversitesi Tıp Fakültesi Yenileyici Tıp ve Hücre Biyolojisi Bölümü’nden Dr. Vladimir Mironov ve Missouri Üniversitesi Fizik Bölümü’nden Dr. Gabor Forgacs tarafından üretilen birden fazla canlı hücreden oluşturulan damar yapıları. Yine 3B hızlı prototipleme tekniği ile üretilen yapay damar yapıları, doku kürelerinin geometrik olarak yan yana sıralanması ile oluşturulmuş. Binlerce kök hücre kullanılarak özel bir üretim tekniği ile küre biçiminde üretilen doku küreleri, damar yapılarının oluşumunu ve hücrelerin kaynaşmasını kolaylaştırıyor. Bu teknik, organın üretiminin ileri ki aşamalarında doğan, “hücreleri mekanik yük altında canlı tutabilme sorununu” bir nebze olsun azaltmış ve şu anda bilim insanları tarafından farklı organ ve dokuların biyo-üretiminde kullanılmak üzere araştırma konusu olmuş. Bu grup ayrıca laboratuvarında yapay et geliştirmek için farklı projeler üzerinde de çalışmalarını sürdürüyor. Laboratuvar ortamında üretilen yapay etle hayvan kesiminin azaltılması hedefleniyor.

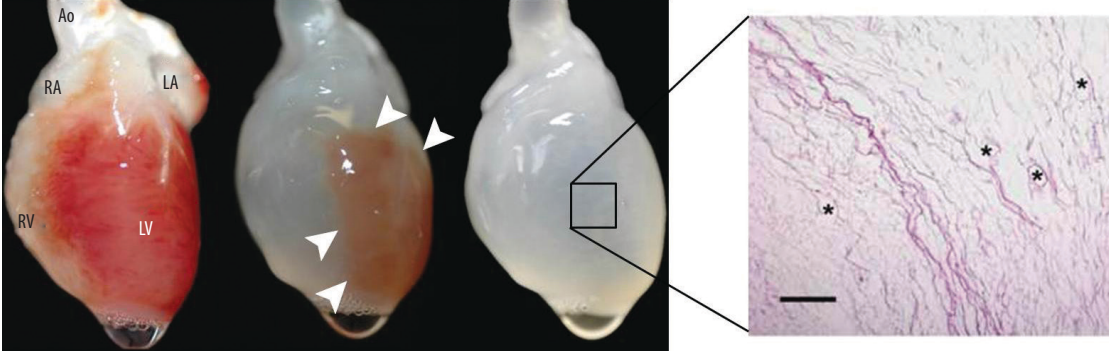
Diğer bir organ üretim çalışması da Minnesota Üniversitesi Kök Hücre Enstitüsü’nde Dr. Doris Taylor ve grubu tarafından sürdürülüyor. Dr. Taylor ve grubu hızlı prototiplemeden farklı bir yöntem kullanarak yapay kalp geliştirdi. İşlevini kaybeden bir fare kalbini bir çözelti içinde hücrelerinden arındırdıktan sonra artı kalan, kolojenden oluşan bağ dokusuna yeni canlı hücreler enjekte ettiler. Enjekte edilen hücreler çoğaltılıp kaynaştırıldıktan dört gün sonra elde edilen kalbin kasılma işlevini, sağlıklı bir kalbin % 2’si oranında gerçekleştirdiğini gözlemlədiler.

Organ Üretiminde Karşılaşılan Zorluklar

Organ prototiplemesinde en önemli unsur üretilen organın işlevsel olmasıdır. Örneğin bir kalbin yerine geçmesi için üretilen kalbe benzer yapının işlevsel anlamda çalışıyor olması başlıca gereksinimdir. Üretilen yapay kalp doğal kalp gibi kasılma ve gevşeme hareketlerini yapmalı, vücuda kan pompalama gö-



Missouri Üniversitesi Fizik Bölümü’nde birden çok hücre çeşidi kullanılarak hızlı prototipleme tekniği ile elde edilen, heterojen damar benzeri yapılar (Norotte ve ark. 2009)



Minnesota Üniversitesi Kök Hücre Enstitüsü'nde işlevini kaybetmiş fare kalbi çözelti ile hücrelerinden arındırıldıktan sonra elde edilen bağ dokusu ve damarlar. Bu yöntem başka organlar için de (örneğin akciğer) hayvanlar üzerinde test ediliyor (Ott ve ark. 2008).



Dr. İbrahim Tarık Özbolat Orta Doğu Teknik Üniversitesi Endüstri ve Makina mühendisliklerinden çift anadal ile mezun olduktan sonra 2007'de ABD'deki Buffalo Üniversitesi'nde doktora eğitimine başladı. Doktora çalışmalarını hibrid doku modellenmesi ve biyo-üretimi üzerine yapan Dr. Özbolat, 2011'de ABD'deki Iowa Üniversitesi'ne öğretim üyesi olarak katıldı. Biyo-üretim Laboratuvarı ve İleri Düzey İmalat Teknoloji Grubu'nu kuran Dr. Özbolat çalışmalarının bir çoğunu canlı organ prototipleme üzerine sürdürüyor.

revini yerine getirmelidir. Aksi takdirde üretilen sadece et yığınının başka bir şey olmayacaktır. Organ üretiminde önemli olan diğer bir husus da doğal organlarda görülen heterojen yapıdır. Heterojen yapının oluşması için gerekli olan birden fazla hücre çeşidi ve bunların organ yapısı içindeki dağılımı ve bağlantıları, tam anlamıyla gerçek bir organ üretimini şimdilik imkânsız kılıyor. Fakat organın gerçekleştirilmesi istenen işlev, sadece bir veya birkaç hücre çeşidi ile sağlanabilirse, çok kompleks bir yapılandırma gereksinimi de azalabilir. Örneğin pankreas üretmekten önce insülin üreten hücrelerden oluşan bir yapı oluşturularak vücudun insülin ihtiyacı karşılanabilir. Organ üretiminde önemli olan diğer bir husus ise kök hücreler alanında gerçekleştirilen bilimsel ilerlemeler. Bilindiği üzere kök hücreler vücudumuzda bütün dokuları ve organları oluşturan ana hücrelerdir. Henüz farklılaşmamış olan bu hücreler sınırsız bölünebilir ve kendini yenileme, organ ve dokulara dönüşebilme yeteneğine sahip. Ancak ilgili organın hücrelerine dönüştürülen kök hücreler hastanın dokusuyla uyum sağlayamayabiliyor. Üretilen organ ile hastanın dokusunun uyuşmamaması ise bütün bu çalışmaların bir şey ifade etmemesi anlamına gelebilir. Bu bağlamda, kök hücreler üzerine yapılan çalışmalar çok önemli bir yer tutuyor.

Bir başka kritik faktör ise üretilen organın içinde yer alacak olan damar ve damar benzeri yapılar. Bu yapılar organın geri kalan kısmındaki hücrelerin büyümesi, bölünmesi ve kaynaşması için oksijeni ve besinleri taşımak ve metabolizma atıklarını hücreden uzaklaştırmakla görevli. Aksi takdirde üretilen yapının içinde sıkışan hücreler yaşamsal işlevlerini devam ettiremez. Diğer önemli husus ise üretilen organ yapısının biyo-reaktör içinde saklanması. Reaktör, hücrelerin ihtiyaç duyduğu oksijeni ve besinleri pompalamak zorundadır. Eğer organın üretildiği ortam biyo-reaktör ortamından farklı bir

yerdeyse, üretilen yapının biyo-reaktöre nakli sırasında sarsıntılar nedeniyle meydana gelen çöküşler hücreler üzerinde mekanik yük yaratır ve bu mekanik yük hücrelerin canlılığını yok eder. Bu sorun, 3B organ prototipleycininin biyo-reaktör içine yerleştirilerek insan faktörünün en aza indirilmesiyle çözülebilir. Son bir husus ise üretilen organ yapısının geometrik karmaşıklığıdır. İçi oyuk olan organlar, örneğin kalp ve akciğer, üretim aşamasında geçici destek yapılar ihtiyacı duyar. Bu destek yapılar için gerekli biyo-malzemenin çeşidi, geometrisi, mukavemeti ve zamana bağlı olarak erimesi göz önüne alınması gereken başlıca parametrelerdir.

Kaynaklar

- Thilmany, J., "Printed Life", *Mechanical Engineering Magazine*, Sayı 134, s. 44-47, 2012.
 Yao, R., Zhang, R., Luan, J., Lin, F., "Alginate and alginate/gelatin microspheres for human adipose-derived stem cell encapsulation and differentiation", *Biofabrication*, Sayı 4, s. 025007, 2012.
 Özbolat, I. T., Koç, B., "Modeling of Spatially Controlled Bio-molecules in Three-dimensional Porous Alginate Structures", *ASME transactions, Journal of Medical Devices*, Sayı 4, s. 041003, 2010.
 Khalil, S., Sun, W., "Bioprinting endothelial cells with alginate for 3D tissue constructs", *ASME transactions, Journal of Biomechanical Engineering*, Sayı 131, s. 111002, 2009.
 Raikwar, S. P., Zavazava, N., "Insulin producing cells derived from embryonic stem cells: Are we there yet?", *Journal of Cellular Physiology*, Sayı 218, s. 256-263, 2009.
 Zhang, Y., Chen, H., Özbolat, I. T., "Characterization of Printable Micro-fluidic Channels for Organ Printing", *International Mechanical Engineering Congress & Exposition (IMECE 2012)*, Houston, Texas, 2012.

- Norotte, C., Marga, F. S., Niklason, L. E., Forgacs, G., "Scaffold-free vascular tissue engineering using bioprinting", *Biomaterials*, Sayı 30, s. 5910-5917, 2009.
 Mironov, V., Trusk, T., Kasyanov, V., Little, S., Swaja, R., Marwald, R., "Biofabrication: a 21st century manufacturing paradigm", *Biofabrication*, Sayı 1, s. 022001, 2009.
 Ott, H. C., Matthies, T. S., Goh, S.-K., Black, L. D., Kren, S. M., Netoff, T. I., Taylor, D. A., "Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart", *Nature Medicine*, Sayı 14, s. 213-221, 2008.
 Mironov, V., Drake, C., Markwald, R. R., "Organ printing: promises and challenges", *Regeneration Medical*, Sayı 3, s. 93-103, 2008.
 Barnatt, C., ExplainingTheFuture.com
<http://www.womenshealth.gov/publications/our-publications/fact-sheet/organ-donation.cfm#1>