

KİM 458

Biyoteknolojinin Temelleri

Doku Mühendisliđi, Kök Hücre Teknolojileri

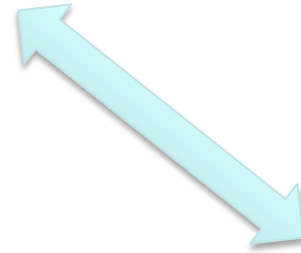
Prof. Dr. Y. Murat ELÇİN

Doku Mühendisliđi” kavramı ilk olarak 1993 yılında Langer ve Vacanti tarafından bir iskele ile veya iskele olmadan hücre transplantasyonu ile yeni doku ve organların oluşturulması süreci için kullanılmıştır.

Hücreler

İskele

**Yardımcı
biyomoleküller**



Biyomalzeme

Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek ya da desteklemek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemeler olup, sürekli olarak veya belli aralıklarla vücut akışkanlarıyla (örneğin kan) temas ederler.

İnsanların dokularında olan kayıpların (kaza, hastalık, doğumdan, yaşlanma, vb) karşılanması için biyomalzemeler önem taşımaktadır.

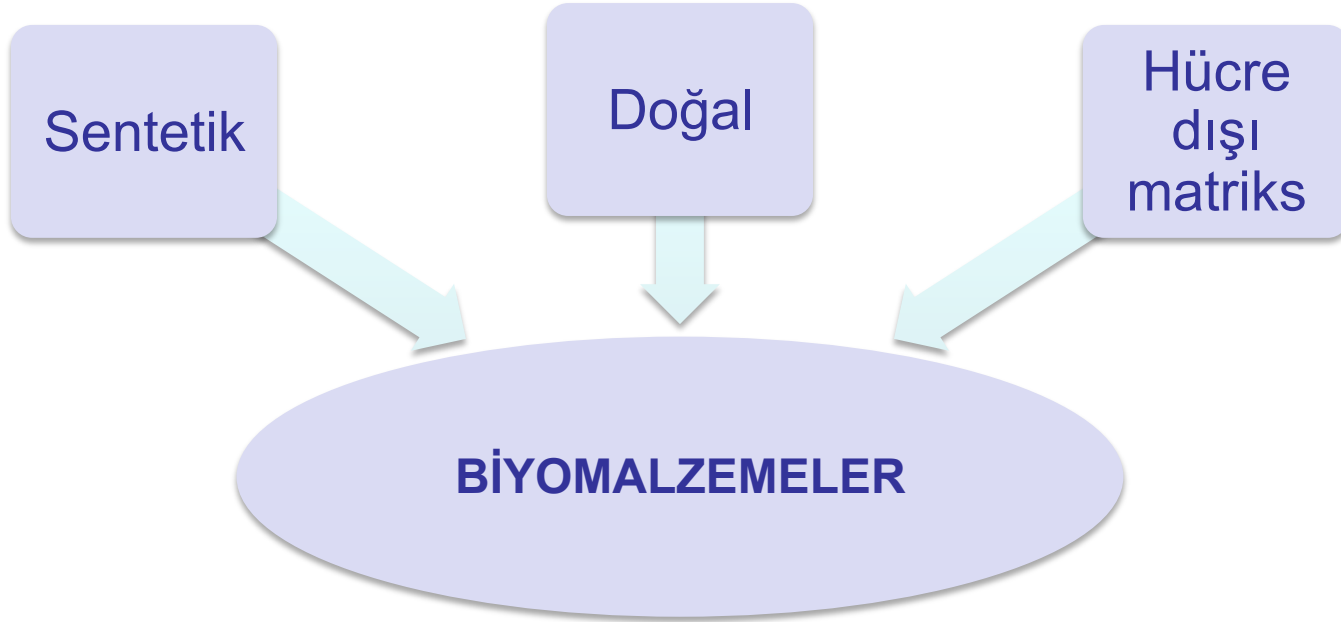
Kişinin kendisinden (Otogreft, riskli, acılı,yetersiz)

Başka bir kişiden (Allogreft, donör az, reddedilme, enfeksiyon kapma)

Başka türden (Ksenogreft, uyum sorunu)

Biyomalzemeler doku mühendisliği stratejilerinde anahtar bir role sahiptir. Biyomalzeme, hücreler için fiziksel destek sağlamanın yanı sıra işlevsel dokuların oluşumu için gerekli olan kimyasal ve biyolojik özellikleri taşımalıdır.

Biyomalzeme



- Biyouyumlu olmalı
- Biyobozunur olmalı
- Uygun yüzey kimyasına sahip olmalı
- Hücrelere mekanik destek sağlamalı
 - Gözenekli yapıya sahip olmalı

Üç boyutlu biyomalzeme yapı iskeleleri, hücrelerin bağlanma substratı olarak hizmet etmektedirler. İskelelerin mimari yapısıyla, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin, hücre canlılığının korunmasında, morfogenezinde ve hücresel işlevlerin temin edilmesinde önemi büyüktür. Bu yapılar, vücudun belirli bir bölgesine hücrelerin naklinde bir aktarım aracı olarak tasarlanmakta, ayrıca inşa edilen yeni dokuların, yeterli düzeyde mekanik bütünlüğe ulaşana kadar geçecek süre içerisinde *in vivo* mekanik etkilere dayanmasını sağlamaktadırlar.

İskele (Scaffold)

Üç boyutlu iskeleler, hücrelere yapısal destek sağlayarak, hücrelerin tutunmasını ve çoğalmasını sağlar.

- Hücre tutunması ve göç edebilmesi için ortam sunar
- Hücrelerin ve biyokimyasal moleküllerin iletimini gerçekleştirir
- Hücreler için gerekli besinlerin difüzyonunu sağlar
- Hücre davranışını değiştirmek ya da kontrol edebilmek için bazı mekanik ve biyolojik etkiler sağlar

İskele (Scaffold)

- Biyomalzeme iskele materyalleri
 - Doğal makromoleküller
 - *Kitosan, alginat, vb.*
 - *Köpük, hidrojel, fiber, ince film tabakalar*
 - Doğal
 - *Kollajen, elastin, fibrin, vb.*
 - *Hidrojel*
 - Seramik
 - *Kalsiyum fosfat temelli malzemeler*
 - *Gözenekli yapılar*
 - Sentetik malzemeler (polimerler)
 - *Poly(glikolik asit) (PGA), poly(laktik asit) (PLA), poly(laktik asit-ko- glikolik asit) (PLGA), poly(propylene fumarate) (PPF) , vb.*

Hücreler

- 1.Otogreft Hücre: Hastanın kendisinden alınıp hastaya implante edilen hücreler.
- 2.Allogreft hücre: Başka insandan alınıp hastaya implante edilen hücreler.
- 3.Zenogreft Hücre: Hayvanlardan alınıp hastaya implante edilen hücreler.
- 4.Kök Hücre: Kök hücreler, organizmadaki her hücre, doku ve organın kaynağıdır.

Kök Hücreler

Kök hücre, mitoz bölünmeyle özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilen ve kendini yenileme yeteneğine sahip olan, bütün çok hücreli canlıların doku ve organlarını oluşturan ana hücre türleridir.

Kök Hücreler

Kök hücre basitçe düşünülüğünde yaşamın kaynağıdır. Patolojinin öncülerinden Dr. Rudolph Virchow'un dediğı gibi "her hücre bir hücreden meydana gelir (omnis cellula e cellula)". Bu zincirin en başında da döllenmiş ovum bulunur. İki haploid gamet hücrelerinin çok özgün biraraya gelişiyile (singami) meydana gelen ve zigot adını alan bu oluşum, canlılardaki en yetkin farklılaşma kapasitesine (totipotent) sahip olan hücredir; kısa süre içinde önce embriyona ve daha sonra da tüm dokuların oluşmasına öncülük eder. Embriyonda erken günlerde germinal kök hücreler (primordiyal germ hücreleri) ortaya çıkar ve ileride gamet hücreleri olan ovosit veya spermatozoona dönüşürler. Öte yandan somatik hücreler yetişkinde doku yenilenmesini sağlamak üzere saklı tutulan kök hücrelerce sağlanır. Kök hücre bir yandan kendi yedeğini meydana getirirken, bir yandan da yenilenecek dokunun gereksinimi olan ve farklılaşma yönünde ilerleyecek hücrelere dönüşür.

Kök Hücrelerinin Tanımı ve Kök Hücre Türleri

Zigotun birbirini izleyen beş altı kez bölünmesiyle blastokist oluşur, bu aşamadaki hücreler bütün organları oluşturmak üzere giderek çoğalır, farklılaşır (diferansiyasyon) ve kararlanırlar (determinasyon). İnsanda 4 günlük bir blastokistin iç hücre kitlesinde yer alan hücreler embriyon kök hücresi olarak isimlendirilir. Çünkü bunlar embriyon gövdesine ait bütün hücre tabakalarını ve onlardan köken alacak olan organ sistemlerini oluşturma yetkinliğine sahiptir. Bu aşamada embriyon gövdesi dışına çıkarıldıklarında deneysel yolla farklılaşmaları ve dokulardaki hücrelere benzer hücrelere dönüşebildikleri birçok kez gösterilmiştir. Ancak yüksek telomeraz enzimi etkinliği sonucunda kontrolsüz çoğalmayla tümör hücrelerine dönüşme olasılığı da yüksektir. Öte yandan gelişmekte olan organizmada embriyon kök hücrelerinden söz etmek mümkün değildir. Başta kemik iliği olmak üzere çeşitli organlarda ve bu organların belirli doku bölgelerinde gerektiğinde kendini çoğaltabilen, kararlanabilen ve farklılaşabilen hücreler varlığını sürdürür. Bunlara yetişkin kök hücreler veya dokuya özgü kök hücreler adı verilmektedir. Bu hücreler totipotent özelliğe sahip olmadıkları için daha az sayıda hücre türüne farklılaşırlar, bu özellikleri nedeniyle kimi zaman öncü hücre (prokürsor veya progenitör) olarak da değerlendirilebilirler .

Kök Hücrelerin Genel Özellikleri

- **Farklanma (Plastisite)**

Farklanma, çok hücreli organizmaları oluşturan hücrelerin olgunlaşma ve uzmanlaşma sürecinde geçirdikleri bir dizi değişimi tanımlamak için kullanılır. Farklanma sitokinlerin, büyüme ve farklanma faktörlerinin, hücre dışı matriks proteinlerinin ve hücrelerarası iletişimlerin kombine etkisiyle başarılan karmaşık olaylar bütünüdür. Farklanma aşamasına giren hücre, bir yandan bölünmeyi durdururken diğer yandan çevresinden gelen sinyallere yanıt vermeye hazırlanır. Bunun için genellikle enzim-bağımlı yüzey ve hücre içi reseptörler ve aktivasyon yolları ortaya çıkararak hücrede uzun erimli olayların başlamasını tetikler. Bazı hücrelerde HIV virüsüyle de farklanma uyarılabilir. Buna karşın bazı onkogen ürünleri farklanmayı geriye çevirebilir; bu yolla yetişkin bir hücre pluripotent özellik kazanıp malign tümör hücrelerine dönüşebilir.

Kök Hücrelerin Genel Özellikleri

- **Köklülük (Stemness)**

“Köklülük” terimi kök hücrelerini diğer hücrelerden ayırt eden hücresel ve moleküler özellikleri tanımlamak için kullanılır. Kök hücrelerin moleküler imzası olarak da bilinen bu özellikler, özgün gen ifadeleri veya translasyon sonrası bir dizi değişimler olup bunlar sayesinde kök hücreler farklanmaksızın özgün yapılarını ve işlevlerini korurlar.

Kök hücre belirteçlerini kullanarak kök hücre tipini belirlemek, günümüzde en yaygın başvurulan yöntemlerden birisidir. Hücrelerin yüzeyinde yer alan, hücrede sinyal yolları üzerinde veya hücre-hücre yapışma molekülleri olarak rol oynayan bu belirteçlerden birçoğu kısaca “CD” (Farklanma Kümeleri=Clusters of Differentiation) olarak bir başlık altında toplanmış olup, hücre türüne göre çok özgün veya çok yaygın olarak bulunurlar

Embriyonik Kök Hücreler

Embriyonik kök hücrelerin, erişkin kök hücrelerde bulunan, (pluripotent özellik ve hematopoetik kök hücrelerin kültürde çoğaltılma zorlukları gibi) bazı dezavantajları olmaması nedeniyle, hücresel tedavi ve doku mühendisliği stratejileri için daha iyi bir kaynak oldukları düşünülmektedir.

Embriyonik Kök Hücre Araştırmalarındaki Başlıca Geliřmeler

1975	Erken memeli gelişiminin incelenmesinde teratoma ve teratokarsinomaların model sistem olarak kullanılması (<i>Martin ve Evans</i>)
1981	Pluripotent fare EKH'lerin izolasyonu ve kültürlerinin sürdürülmesi (<i>Evans ve Kaufman</i>)
1988	Fare EKH'lerin <i>in vitro</i> oęul potansiyelinin korunmasında LIF'in öneminin anlaşılması (<i>Smith vd.</i>)
1996	Somatik ekirdek transferiyle ilk memeli türünün (<i>Dolly</i>) klonlanması (<i>Campbell vd.</i>)
1998	Fare EKH'lerinden terminal farklılaşmış saf hücre popülasyonlarının genetik olarak seçilmesi (<i>Klug; Li vd.</i>)
1998	İnsan EKH dizilerinin laboratuvarıda ilk olarak türetilmesi (<i>Thomson lab.</i>)
2000	Farelerde ekirdek transfer (<i>nt</i>) EKH'lerin oluşturulması (<i>Munsie vd.</i>)
2001	İnsan EKH dizilerinin genetięinin deęiřtirilmesi (<i>Eiges vd.</i>)
2002	Somatik ekirdek transferiyle sığırda uyumlu dokuların oluşturulması (<i>Lanza vd.</i>)
2002	Farede konjenital defektin <i>nt</i> EKH dizileri ve hücre replasmanıyla düzeltilmesi (<i>Rideout vd.</i>)
2002	EKH'lerden farklılaştırılmış dopaminerjik nöronlarla hayvan Parkinson modelinin tedavi edil içi (<i>Kim vd.</i>)
2006	Tek blastomerden insan EKH dizilerinin oluşturulması (<i>Lanza vd.</i>)

Yardımcı Biyomoleküller

Doku oluşumu süresince çeşitli hücresel işlevleri desteklemek amacıyla kullanılır.

(Proteinler, büyüme faktörleri, hücre bölünmesi ve farklılaşmasını sağlayan biyomoleküller, vb.)

Doku Mühendisliđi

- Doku Mühendisliđi, kaybedilmiş veya hastalıklı doku ya da organların geri kazanılması/rejenerasyonu amacıyla yeni biyolojik eşdeğerlerinin geliştirilmesini hedefleyen disiplinlerarası bir rejeneratif tıp alanıdır. İzole edilmiş hücreler (genellikle kök hücreler) üç boyutlu iskeleler üzerinde özel düzenleyici şartlar altında yeniden farklılaştırılarak çoğaltılmaları ve yeni doku benzeri hibrit oluşumların hastaya geri nakledilmesi prensibine dayanmaktadır.

Doku Mühendisliđi Yaklaşımıları

1. Biyomalzeme kullanımı

Yeni dokunun oluşumu için yalnızca biyomalzeme kullanımıdır.
(*Metal kalça, eklem protezleri, porselen dişler vb.*)

2. Hücresel tedavi

Yalnızca hücreleri kullanarak tedaviyi gerçekleştirmeyi amaçlayan yaklaşımdır. Hücre süspansiyonunun veya hücre tabakalarının (cell sheet) ilgili organ veya dokuya iletilmesidir.

3. Biyomalzeme, hücre ve biyomoleküllerin birlikte kullanımı