

DOKU MÜHENDİSLİĞİ

Doku mühendisliği alanında yoğun bir şekilde sürdürülen çalışmalar ve sonuçları, yakın bir gelecekte birçok organın yapay olarak üretiminin mümkün olabileceği konusunda ümit vericidir.

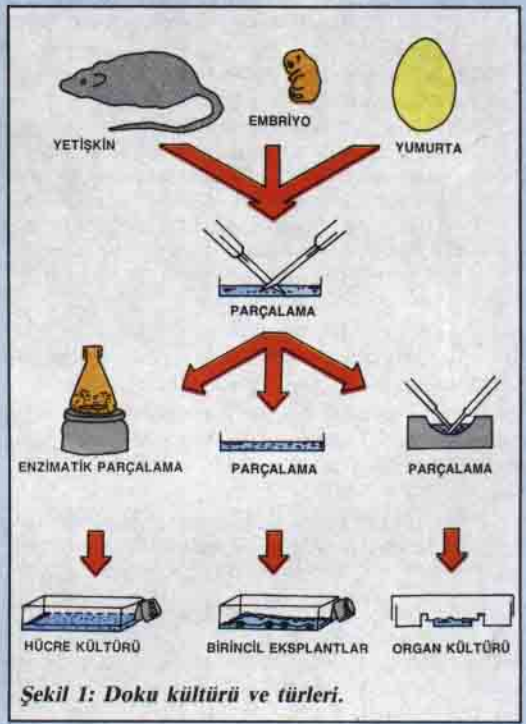
Menemşe KİREMİTÇİ*

Hemen hemen tüm bilim dallarının "mühendislik" ekini alarak teknolojik boyut kazandıkları günümüzde, "doku mühendisliği" (tissue engineering) bu grubun en yeni örneklerinden birini oluşturmaktadır. İlk olarak 1990 yılında ortaya çıkan bu kavram, hücresel biyoloji, protein kimyası ve biyomühendislik dallarının oluşturduğu disiplinlerarası bir teknolojiyi tanımlamaktadır. 1970'li yılların sonunda sözü edilen bu dallar, hücresel fonksiyonların devamı konusunda çalışmalarını yoğunlaştırmışlardır. Kaliforniya'daki Leri Doku Bilimleri Merkezi'nin yöneticisi Ron Cohen, "herkes 12 yıl boyunca kendi enstrümanını çalmayı öğrendi, şimdi bir araya gelerek Mozart'ı çalıyorlar" diyerek, doku mühendisliğini bir orkestra olarak tanımlamıştır.

Harvard Üniversitesi, Massachusetts Teknoloji Enstitüsü (MIT) ve Kaliforniya Üniversitesi, konuyla ilgili yoğun çalışmaların sürdürüldüğü merkezleri oluşturmaktadır. Halen deri, kıkırdak, kemik, karaciğer, bağırsak ve bağ dokusu gibi çeşitli dokular üzerinde çalışılmaktadır ve bazı firmalar tarafından hazırlanan ürünler, ticarî boyut kazandırılarak piyasaya sürülmüştür. Bu uygulamalara geçmeden önce doku mühendisliğinin temelini oluşturan "doku" ve "doku kültürü" kavramlarını açıklamak yerinde olacaktır.

Doku: Dokularla ilgili çalışmaların başlangıcı 1830'ların sonuna doğru Mathias Jacop Schliede ve Theodor Schwann tarafından ortaya atılan hücre kuramına dayanır. Bu kuram, hücreleri canlı sistemlerin örgütlenmesindeki yapısal birim olarak tanımlar. Diğer bir deyişle hücre, canlınin biyolojik aktivite gösteren en küçük birimidir. Farklı yapısal özelliklere ve fonksiyonlara sahip hücreler bir araya gelerek çeşitli dokuları, dokular birleşerek organları, organlar bir araya gelerek sistemleri, sistemler de organizmayı, kısaca canlıyı oluştururlar.

Doku Kültürü (Tissue Culture): Doku kültürü ilk olarak yüzyılımızın başlarında (Harrison 1907, Carrel 1912) dokudaki mevcut sistematik organizasyondan ayrı olarak, hücrelerin serbest haldeki davranışlarının incelenebilmesi amacıyla bir metod olarak geliştirilmiştir. Yöntem, canlıdan izole edilen doku parçaları ya da hücrelerin, yapay olarak hazırlanmış besi ortamlarında ve in-vitro koşullarda üretilmesi esası-



na dayanmaktadır. 1950'li yıllara kadar yapılan çalışmalarda parçalanmamış doku parçaları kullanılmış ve hücrelerin doku içerisindeki hareketliliği engellendiği için üremeleri de sınırlı kalmıştır. Daha sonra konuya çeşitlilik kazandırılarak, "organ kültürü" ve "hücre kültürü" kavramları geliştirilmiştir. Her iki kavram da doku kültürünün türlerini oluştururlar ve aralarındaki farklılık Şekil 1'de açıkça görülmektedir. İşlem yukarıda da açıklandığı gibi, üretilmesi istenilen doku ya da hücrenin canlıdan izole edilmesi ve yapay olarak hazırlanmış koşullarda canlılığının devam ettirilmesi şeklinde gerçekleşir. Canlı, bir yetişkin, embriyo ya da yumurta olabilir. Organ kültüründe, doku üç boyutlu yapısı bozulmayacak şekilde sıvı/gaz ara yüzeyinde üretilir ve böylelikle dokudaki histolojik düzen, kültürde de aynen devam ettirilir. Hücre kültüründe ise, primer doku parçaları mekaniksel veya enzimatik yollarla parçalandıktan sonra kültür ortamında dağıtılır ve bir katı destek yüzeyine (cam veya plastik petri kabı gibi) tutunarak (anchorage dependent cells-yüzeye bağımlı hücreler) ya da kültür ortamında süspansiyon halinde (süspansiyon hücreler) üretilirler.

Doku kültürü, ortam koşullarının kontrol edilebilir oluşu ve homojenliğin sağlanması gibi birtakım avantajları yanında, kontaminasyon riskinin fazlalığı, endüstriyel boyutta çalışma güçlüğü gibi bazı dezavantajlara sahiptir. Bu dezavantajların giderilmesine yönelik çeşitli çalışmalar yoğun bir şekilde sürdürülmektedir.

Doku kültürünün, organ ve hücre kültürlerinin her ikisini de içeren bir kavram olduğu düşünüldüğünde, ilgi alanları aşağıdaki gibi sıralanabilir.

* Doç.Dr., Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Öğretim Üyesi.

Hücresel faaliyet ve etkileşimlerin incelenmesi: Bu etkileşimler,

- Hücre içerisindeki çeşitli hormonlar, metabolitler ve RNA hareketlerinin saptanması,
- Hücre içi aktivitenin (örneğin DNA transkripsiyonu, protein sentezi, vb.) incelenmesi,
- Ekoloji, örneğin beslenme, enfeksiyon, ilaç etkisi dışından uygulanan etkilere karşı sistem cevabı, çeşitli hücreyel ürünlerin salgılanması,
- Hücre-hücre etkileşimleri, örneğin kontakt inhibisyon, üremenin sınırlandırılması, hücre üreme kinetiği,

olarak sayılabilir. Sözü edilen çalışmalar, özellikle kanser araştırmaları, viroloji ve immünojenik çalışmalar açısından büyük öneme sahiptir.

Çeşitli hücreyel ürünlerin endüstriyel boyutta üretimi: Bu ürünler, tıp ve veteriner amaçlı aşılar, büyüme hormonları, insülin, interferon gibi biyolojik maddelerdir.

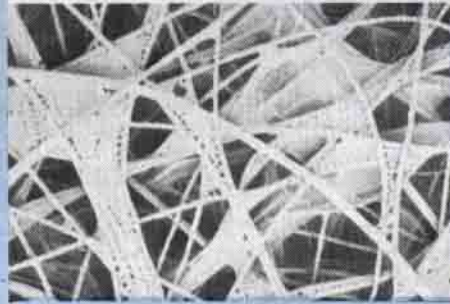
Çeşitli hücre ya da dokuların üretimi: Bu konu "doku mühendisliği"nin ilgi alanını oluşturmaktadır ve aşağıda ayrıntılarıyla tartışılacaktır.

Neden doku üretimine gereksinim duyulmaktadır? Bu sorunun cevabı, çeşitli estetik ameliyatlara için gerekli yeterli miktarda dokunun bulunamayışıyla açıklanabilir. Kadavradan canlı doku sağlanamamakta, hayvansal dokular ise insanlar tarafından reddedilmektedir. Bunun sonucu olarak, ameliyatlarda vücuda yerleştirilen metal veya plastik protezlerin, vücudun uygun yerlerinden alınacak dokularla doldurulması gerekmektedir. Son derece güç olan bu işlemin yerine önerilecek en uygun çözüm, doku-kültür teknikleri kullanılarak gerekli dokunun in-vitro koşullarda üretimi ve daha sonra vücuda yerleştirilmesidir.

Doku üretimi, istenilen özelliklere sahip materyal yüzeylerinde (genellikle polimerik yapıda olan) gerçekleşeceği için, yapılan çalışmalar, öncelikle yüzeyinde hücrelerin üreyebileceği çeşitli destek malzemelerin geliştirilmesi ve daha sonra bu yüzeylerde hücrelerin üretilerek üç boyutlu doku özelliğinin kazandırılması şeklindedir. Geliştirilen ilk ürün, "Skin" ticari ismiyle bilinen yapay deridir ve 1990 yılı Kasım ayında piyasaya sürülmüştür. Ürün, çeşitli ilaçların ve kozmetik maddelerin deri üzerindeki toksik etkisini belirlemek amacıyla dizayn edilmiştir. Fakat daha sonra yanık tedavisinde kullanımının uygun olacağı gösterilmiş ve "Dermagraft" ticari adıyla yeni bir ürün olarak geliştirilmiştir. Bu ürün, gözeneklerinde derinin "dermis" olarak bilinen tabakasından alınan fibroblastik hücrelerin ürettiği, biyolojik olarak parçalanabilen (biodegradable) yapıda bir polimerdir. Dermagraft, ABD'nin çeşitli bölgelerindeki 12 yanık merkezinde, toplam 150 hastada test edilmiş ve uygunluğu saptanmıştır. Bu ya-

pı şu anda kan dolaşım yetersizliğinden dolayı bacaklarda ortaya çıkan yaraların tedavisinde denenmektedir.

Yapay deri ile ilgili olarak yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiler, diğer dokuların üretimi amacıyla değerlendirilmiştir. Bunlardan ilki, vücut tarafından yenilenemeyen bir doku olan "kıkırdak dokusu"dur. Özellikle, çene, yanaklar, kulak ve çeşitli eklemlerde yer alan bu doku, insanın kendi dokusu olmalıdır. Sözü edilen dokunun üretilmesi için genellikle diz ekleminden alınan doku enzimatik olarak parçalanmakta, böylece "chondrocytes" olarak adlandırılan kıkırdak hücreleri serbest hale geçerek kültür ortamında çoğaltılabilmektedirler. Bu hücreler, gözenekli ve biyolojik olarak parçalanabilen bir polimere tutunduklarında, bir yandan hücre üretirken, bir yandan da polimerik destek parçalanmakta ve yalnızca hücrelerden oluşan bir matris elde edilmektedir. Böylelikle gerçeğinin aynısı yeni bir kıkırdak dokusu oluşturulur. Tabii ki, bu duruma ulaşılabilmesi için başlangıçtaki hücre miktarı önemlidir. Diğer önemli bir nokta da polimerik desteğin parçalanma hızıdır. İdeal durum, hücreler üreten yapının da parçalanmasıdır. Biyolojik olarak parçalanabilen po-



Şekil 2: Gözeneklerinde kıkırdak hücrelerinin ürettiği polimerik matris.

limerlerin bu amaçla kullanılması polifaktik asit-glikolik asit), kısaca PLGA kopolimerleridir ve laktik asit/glikolik asit miktarları ayarlanarak istenilen parçalanma hızına ulaşılabilmeye mümkündür. Ayrıca, bir doku oluşturulabilmesi için yeterli sayıda hücrenin üretilmesi gerekmektedir. Hücreler ancak yüzeye yapışabildiklerinde üredikleri için, üreme, polimerik materyalin yüzey alanıyla sınırlı kalmaktadır. İlk çalışmalarda film ya da tabaka

formunda polimerik matrisler kullanılmış, ancak yeterli sayıda hücre üretilmemiştir. Sorunu çözmek için akciğerler, ağaçlar gibi üç boyutlu dallanmış yapılar model olarak alınmış ve bu şekilde bir geometriye sahip polimerik matrisler dizayn edilmiştir. Şekil 2'de boşlukları kıkırdak hücreleriyle doldurulmuş böyle bir yapı görülmektedir. Uygun materyal dizaynı, hücre biyologlarından edinilen bilgi ışığında kimya mühendislerince yapılmaktadır.

Konuyla ilgili olarak sürdürülmekte olan çalışmaların diğer bir bölümü ise, yapay kulak ve burun gibi çeşitli organların geliştirilmesi üzerinedir. Kullanılan polimerik materyal yine biyolojik olarak parçalanabilen yapıda olup, uygun kalıplar içerisinde, istenilen şekilde hazırlanmakta ve üzerinde hücre üretimi gerçekleştirilmektedir.

KAYNAKLAR

- Scientific American, August, 1992.
- M.Kiremitçi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Haziran 1988.
- R.I. Freshney, Culture of Animal Cells, 2nd edition, Alan R. Liss, inc., New York, 1987.