

Yapay Kan

Artificial Blood

Ümit Yaşar¹, Pınar Yılgör Huri², Nurten Dikmen¹

¹Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, ADANA

²Çukurova Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, ADANA

Arşiv Kaynak Tarama Dergisi (Archives Medical Review Journal) 2012; 21(2): 95-108.

ABSTRACT

The problems and additional cost factor involved in collecting and storing human blood, as well as the pending worldwide shortages are the main driving forces in the development of blood substitutes. Studies on artificial blood basically aim to develop oxygen carrying compounds, produce stem cell-based erythrocyte cells *in vitro* and, implement the functions and movements of natural hemoglobin molecules found in erythrocyte cells through artificial erythrocyte cells. Consequently, major areas of research in artificial blood studies are haemoglobin-based oxygen carriers, perfluorochemicals, respirocytes and stem cells. Even though these artificial erythrocyte cells do not qualify as perfect red blood cell substitutes yet, they have many potential clinical and non clinical uses. Studies are being carried out on the elimination of side effects of blood substitutes and extensive clinical trials are being conducted to test their safety and efficacy. Artificial blood substitutes could only be used clinically for patient management following clinical trials and approvals, and will be the ultimate global solution to the problems associated with donor scarcity, blood collection and transfusion-mediated diseases.

Keywords: Artificial blood; Haemoglobin solutions; Perfluorocarbons, Respirocyte, Stem cell

ÖZET

Kan toplama ve muhafaza etme konusundaki problemler, ek maliyet, dünya çapındaki rezerv noksanlığı gibi sorunlar, kan yerine geçen maddelerin geliştirilmesine yol açmıştır. Yapay kan çalışmaları temel olarak; oksijen taşıyıcı bileşiklerin geliştirilmesi, kök hücre bazlı doğal eritrosit hücrelerinin *in vitro* ortamda üretilmesi ve eritrositlerde bulunan doğal hemoglobin molekülünün işlev ve hareketlerinin yapay eritrositler aracılığı ile gerçekleştirilmesini hedef alır. Bu nedenle, yapay kan araştırmalarında başlıca hemoglobin temelli oksijen taşıyıcıları, perflorokarbonlar,

respirositler ve kök hücre çalışmaları üzerinde durulmaktadır. Bu yapay eritrosit hücreleri günümüzde henüz doğal alyuvarların tüm işlevlerini tam olarak yerine getiremeseler de, klinikte ve klinik dışı uygulamalarda bir çok potansiyel kullanım alanları bulunmaktadır. Günümüzde, geliştirilmekte olan yapay kan ürünlerinin yan etkilerinin bertaraf edilmesi konusunda çalışmalar devam etmekte ve güvenilirlikleri ile faydaları konusunda kapsamlı klinik çalışmalar sürdürülmektedir. Yapay kan ürünleri ancak kapsamlı klinik çalışmaların ardından gerekli kullanım izinlerinin alınması ile hastalar üzerinde uygulanabilecek ve donör azlığı, toplanan kanın saklanması, kan transfüzyonu ile hastalık bulaşması gibi sorunlara küresel bir çözüm olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Yapay kan; Hemoglobin çözeltileri; Perflorokarbonlar; Respirosit; Kök hücre

Yapay Kan Hücresinin Geliştirilmesinde Mevcut Durum

Kan yerine geçmesi sağlanabilecek, saklanmasında özel koşullar gerektirmeyen, alıcının kan grubundan bağımsız olarak tüm bireylere uygulanabilen bir madde arayışına uzun süre önce başlanmıştır. İkinci Dünya Savaşı'ndan itibaren ise savaşlarda ve büyük çaplı sivil felaketlerde kullanılacak, kan yerine geçen alternatif bir madde bulma arayışları giderek artmıştır. Yapay kan araştırmaları kan yerine geçebileceği düşünülmüş madde denemelerinin tamamını kapsamaktadır. Bu amaçla denemelerde kullanılmış maddeler arasında süt, kazein türevleri, nişasta, salin ve ringer sayılabilir. Günümüzde kan bileşenleri, bu bileşenlerin işlevleri ve oksijen taşıma kapasiteleri hakkında geniş çaplı bilgiye sahip olunmasına rağmen alternatif yapay kan arayışları ve araştırmaları devam etmektedir^{1,2}.

Doğal hemoglobinin insanda kullanımında toksik etki gösterdiğinin belirlenmesiyle birlikte, modifiye hemoglobin geliştirme çalışmalarına odaklanılmış ve bu çalışmalar gün geçtikçe artmıştır². Kemirgen hayvanlarda gerçekleştirilen yapay kan transfüzyonu çalışmalarında kırmızı kan hücreleri hemoliz edilerek hazırlanan hemoglobin çözeltileri denenmiş; bu çözeltinin dokulara oksijen taşıyabildiği ancak karaciğerde toksik etki gösterdiği ve tansiyon yükselmesine neden olduğu belirlenmiştir^{2,3}. Buna ek olarak hemoglobin çözeltisi ile yapılan faz 1 kan transfüzyonu çalışmalarında böbrekler ve vazoaaktif yapı üzerine toksik etki gösterilmiştir^{2,3}.

Perflorokarbonlar (PFC), hidrojen atomları yerine flor atomlarının bağlanmış olduğu hidrokarbon benzeri durağan bileşiklerdir. Hemoglobin tabanlı kan yerine geçen maddelerin aksine PFC'lar oksijen ve diğer gazlarla reaksiyona girmemesi, plazma hücresindeki oksijen çözünürlüğünü artırması, çözünmüş oksijen sıcaklığın etkilerine maruz kalmaması, oksijenin alyuvarlardan dokuya transferini kolaylaştırması gibi avantajlara sahiptir. Ancak, suda çözünabilir olmaları nedeniyle damar içi kullanım öncesi emülsifikasyon ihtiyacı hissedilmiştir⁴.

Bilgi teknolojilerinin gelişmesiyle birlikte yapay kan çalışmalarında "Respirosit" adı verilen, kendi mantığıyla malzeme transferi yapabilecek, istenilen bölgeyi tamir edebilecek yeteneğe sahip, yapay eritrosit otomasyonları üzerine de çalışmalar yapılmaktadır. Matematik, mekanik ve bilgi teknolojileri ile geliştirilen bu otomasyon sisteminin çip ya da algılayıcı kullanılarak kontrolünün yapılmasına çalışılmaktadır. İnsan denemeleri henüz yapılmamış olan bu sistem sayesinde, enfeksiyon durumunda vücuttaki durumun değerlendirilmesi ve iyileşme sürecinde gerekli olan ilaçların hedefe taşınımı amaçlanmaktadır⁵.

Kök hücreler, erken yaşam ve büyüme döneminde organizmada pek çok farklı hücre tiplerine gelişmek için olağan üstü bir potansiyele sahiptir. Bu hücreler canlının yaşamı boyunca diğer hücrelerin yenilenmesini sağlayarak temelde iç onarım sistemi olarak hizmet vermektedirler⁶. Bir kök hücre bölünmesinden oluşan yeni hücreler kas, beyin, kırmızı kan hücresi gibi birçok özgül işlevlere farklılaşabilecek hücre potansiyeline sahiptir. Bu potansiyelleri *ex vivo* olarak kırmızı kan hücreleri üretiminde kullanılabilmesi fikrinin doğmasına neden olmuştur. İnsan eritroid kök hücrelerin çalışmalarda kullanılmaya başlaması, kan transfüzyonu için eritroid hücrelerinin *in vitro* ortamda büyük miktarda üretimini ve eritropoiez hakkında bilgilerimizin artırılmasını sağlayacak büyük fırsatlar sunmaktadır⁶.

Hemoglobin Çözeltileri

Hemoglobin çözeltileri ilk olarak anemi hastalarının tedavisinde

kullanılmıştır. Sonraki çalışmalarda, daha çok hemoglobin moleküllerinin saflaştırılması ve modifikasyonları üzerinde durulmuştur. Günümüzde “hemoglobin bazlı yapay kan” klinikte yapay kan sınıfını temsil etmekte; akut hemoglobin yetersizliği ve cerrahi operasyonlarda kan naklinin önüne geçmek amacıyla tedavi amaçlı olarak kullanılabilir^{3,4}.

Modifiye Hemoglobinler

İnsan ve hayvanların viral patojenlerden etkilendiğini düşünecek olursak, donör kanında bulunabilecek bir patojen varlığının kan transfüzyonu sonucu alıcıyı enfekte edebileceği gerçeği; donör ihtiyacını ortadan kaldıracak, maliyeti düşük ve stoklanabilecek yeterliliğe sahip hemoglobinlerin geliştirilmesine olanak sağlayacak çalışmaların artmasına neden olmuştur^{2,3}.

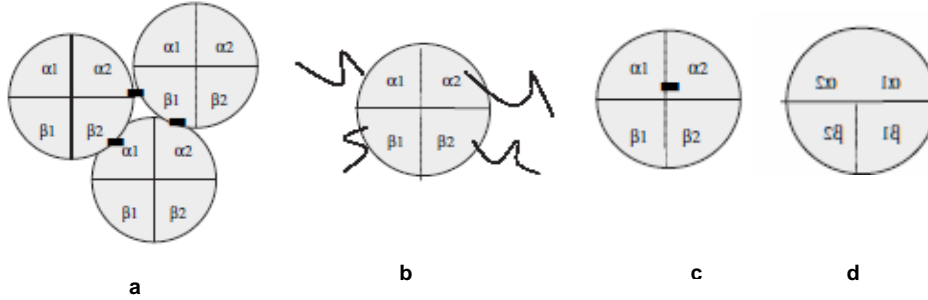
Doğal hemoglobin transfüzyonu ile yapılan çalışmalarda alıcıda karaciğer, böbrek ve vazoaktif yapılara olan toksitenin gösterilmesi ile birlikte, çalışmalar daha çok, konjuge hemoglobin geliştirilmesi ve hemoglobinlerin kapsüllenmesi üzerine yoğunlaşmıştır^{2,3}.

Günümüzde, polihemoglobin, konjuge hemoglobin, çapraz bağlı tetramerik hemoglobin, rekombinant hemoglobin ve hemoglobin keseciklerini içeren modifiye edilmiş hemoglobin varyantlarının geliştirilmesine ve klinik olarak test edilmelerine devam edilmektedir^{2,3}.

Polihemoglobin

Polihemoglobin geliştirme çalışmaları temelde Gould'un grubuna dayanmaktadır. Grup, biyofonksiyonel ajanlar kullanarak hemoglobinlerin reaktif amino gruplarının çapraz bağlanabileceğini öngörmüş, bu amaçla, glüteraldehit ve sebasil klorür kullanarak ilk glüteraldehit çapraz bağlı polihemoglobini geliştirmişlerdir (Şekil 1a)^{3,5}. Bu piridoksale edilmiş çapraz bağlı polihemoglobin halen günümüzdeki klinik hayvan deneylerinde temel oluşturmaktadır. Uygulamalar faz III denemeleri düzeyindedir. Sığır hemoglobinleri de glüteraldehit ile çapraz bağlanarak polihemoglobin

geliştirilmiş, travma cerrahisinde yüksek doz kullanımları denenmiştir (1 litreden düşük kan transfüzyonu)³. Güney Afrika'daki klinik uygulamalarda onaylanan bu polihemoglobin Amerika'da da anemik köpek uygulamalarında denenmiştir³.



Şekil 1. Modifiye hemoglobinin farklı tipleri. (a) Polihemoglobin, (b) Konjuge hemoglobin, (c) Intramoleküler çapraz bağlı tetramerik hemoglobin, (d) Rekombinant insan hemoglobini^{3,5}

Yüksek oksijen duyarlılığına sahip, polihemoglobinlerin Pridoksal 5'- fosfat (PLP) bağlı az sayıda moleküle sahip olmaları kolloidal osmatik basınçlarının daha düşük seviyelerde tutulabilmelerine neden olmuş ve bu da yüksek yoğunluklarda hemoglobin çözeltilerinin transfüzyonuna olanak sağlamıştır. 24 saatlik bir dolaşım yarı ömrü olmasının yanı sıra 1 yıldan fazla süre saklanabilen bu çözeltinin en önemli dezavantajları reaktif olduğu bölgelerin belirsizliği ve çözeltinin yüksek akış direnci ile ilgili olmuştur^{4,5}.

Tekrarlayan enjeksiyonlardan sonra geçici renal tubular vakuolasyon oluşumu rapor edilmiştir⁴. İlk denemeler Amerika, Guatemala ve Zaire'de sağlıklı yetişkin erkekler üzerinde yapılmıştır (FDA'nın onayından sonra modifiye edilmiş bir hemoglobin çözeltisinin birinci aşama klinik testleri yapılmıştır). Denenen maksimum doz 0,6 g/kg (maksimum: 63 g)'dır. Vazokonstriksiyon gibi hiçbir anormallik gözlenmemiştir. Çalışmanın birinci aşamasında kullanılan 0,2 g/kg'a kadar polimerize sığır hemoglobinin kan

basıncında artışa ve kalp atım hızında azalmaya neden olduğu belirtilmiştir⁴.

Polihemoglobin geliştirme çalışmalarında bir başka yaklaşım ise, rafinoz'dan üretilen dialdehitin kullanılması ile hazırlanan çözünebilir, hücresiz, rafinoz çapraz bağlı ve oligomerize insan hemoglobindir (r-poly-Hb) (molekül ağırlığı 32 - >500 kDa). Kardiyak ve ortopedik ameliyatlarda peroperatif kullanım için faz III, klinik çalışma aşamasındadır (25g/ 100g; 250 mL / 1000 mL dozlarında). Oksijen duyarlılığı, normal kandan daha düşük görünmektedir. Düşük oksijen duyarlılığı değerine ve yüksek molekül ağırlığına bağlı olarak, r-polyHb daha düşük hemodinamiğe neden olmuştur^{3,5}.

Konjuge Hemoglobin

Hemoglobin temelli araştırmalar hemoglobinin polimerlere çapraz olarak bağlanmasıyla "çapraz bağlı hemoglobin" oluşturabileceğini göstermiştir (Şekil 1b). Çözülebilir bir konjuge hemoglobin oluşturmak için çözülebilir bir polimer olan dekstran kullanmıştır. Bunu takiben polioksietilen ve polietilen glikol kullanımlarıyla da devam etmiştir³.

Daha yakın zamanlarda, faz II klinik çalışmalarla yeni bir Maleimid PEG hemoglobin geliştirilmiştir^{3,5}. Bu hemoglobin, moleküler ağırlığının artırılması ve suda çözülebilir polimer ile birleştirilmesi ile üretilir. Madde, polimer bağlı olduğundan akış direnci yüksektir ve kolloidal ozmotik basınç, 8g/dL konsantrasyonu olan bir hemoglobin çözeltisinde bile 24 Torr kadar yüksektir⁴. Sığır hemoglobinlerinin bağlanması ile yapılan bu konjuge hemoglobin çözeltisi devamlı kullanıldığında antijenik sorunlar oluşturabilmektedir⁴. Dekstran benzer tetrakarboksilat bağlı Hemoglobin gibi diğer konjuge Hemoglobin tipleri hayvan çalışmaları aşamasındadır^{3,5}.

Çapraz Bağlı Tetramerik Hemoglobin

Çapraz bağlı tetramerik hemoglobin geliştirilmesinde bis (N-Maleimidometil) eter ve Diaspirin (3,5-dibromosalisil fumarat) kullanılarak molekül içi çapraz bağ oluşturma üzerine çalışmalar yapılmış (Şekil 1c) ve

klirik denemelerde oldukça vazoaktif oldukları belirlenmiştir³.

Diaspirin hemoglobinin α globin üniteleri ve β globin ünitelerini çapraz bağlamak için kullanılmış ve bu şekilde, diaspirin çapraz bağlı hemoglobin (DCL Hb) oluşturulmuştur⁴.

Çapraz bağlamanın çözülmeyi engelleyeceği ve dolaşım esnasındaki yarı ömrü arttıracığı düşünülmüştür (Ortalama yarı ömür 10 saat). Birinci aşama deneme çalışmaları (maksimum: 0,1 g/kg) doza bağlı olarak kalp atım hızında azalma ve kan basıncında artış göstermiştir. 48 saatlik DCL Hb enjeksiyonu sırasında tam kan methemoglobininde artış gözlemiştir^{3,4}.

Rekombinant İnsan Hemoglobini

Rekombinant hemoglobin, hemoglobin dimerlerinde çözünmeyi önlemek ve yeterli oksijen duyarlılığının devamını sağlamak için insan hemoglobinindeki amino asit diziliminin birkaç parçasının değiştirildiği bir yöntemdir (Şekil 1d)⁴. İlk rekombinant insan hemoglobini konusunda başarılı olunmasının ardından, çalışmalar, bu molekülün vazoaktivitenin önlenmesi, nitrik oksite karşı olumsuz etkilerinin giderilmesi ve değiştirilmesi üzerine devam etmiştir^{3,4}.

Rekombinant hemoglobin faz I klinik çalışmalarında ateş, ürperti ve baş ağrısı gibi yan etkileri kaydedilmiş, saflaştırma süreci geliştirilerek endotoksin bileşenleri giderilmiş, böylelikle yan etkiler azaltılmıştır⁴. Maksimum 25,5 g dozajın kullanıldığı çalışmalarda ise kan basıncında artış ve hafif gastrointestinal semptomlar gözlemlenmiştir⁴. Oksijen kapasitesinin arttırılmasına yönelik yapılan uygulamaların faz II denemelerde birim hacmi başına yarı ömrü beş kat uzatılabilmektedir⁴.

Hemoglobin Kesecikleri

Hemoglobin molekülünün kapsül içinde kullanımı için fosfolipit kesecikleri teorisi başarılı bir şekilde denenmiş ve hemoglobin kesecikleri hazırlanmıştır. Yapısındaki hemoglobinin değiştirilmemesi ve doğallığının bozulmaması, saflaştırılmış lipidlerden ve hemoglobinden yapılmaları hemoglobin kesecikleri

için bir avantajdır⁴.

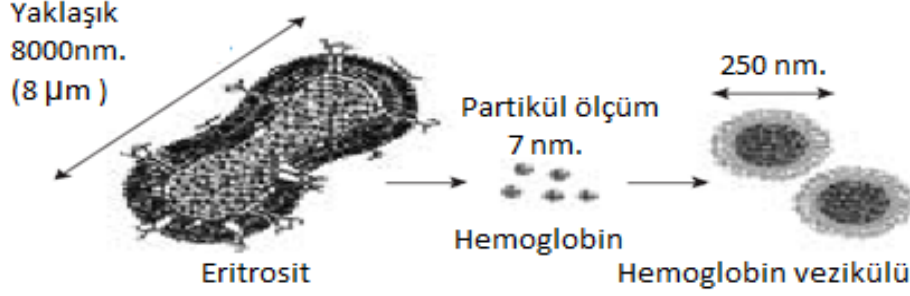
Kırmızı kan hücrelerinin içindeki hemoglobin kapsüllenmesini taklit etmek için silikon, akasya sakızı, jelatin, kolodyum ve naylondan yapılmış mikrokapsüller denenmiş ancak, retiküloendotelial sistem tarafından hızla dolaşımdan uzaklaştırılmıştır⁴. Günümüzdeki yapay kan araştırmaları, lipozom kapsüllü hemoglobinin, boyut kontrolü, etkili kapsülleme ve stabilizasyonuna yönelik yoğunlaşmıştır⁴.

Hemoglobin keseciklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 1'de verilmiştir⁷. Hemoglobinin kapsülasyonu, koloidal ozmotik basıncın hemen hemen sifıra yakın olmasını sağlamaktadır. Koloidal ozmotik basıncın ayarlanabilmesi için insan serum albümin ile birlikte kullanılabilirler.⁷ Parçacık çapı 250 nm kadar olup kırmızı kan hücresinin 1/30'u kadardır (Şekil 2). PLP gibi bir allosterik efektör ile kapsüleneren oksijene olan ilgisi istenilen değerlerde ayarlanabilmektedir⁷.

Tablo 1. Hemoglobin vezikülünün fiziksel ve kimyasal özellikleri⁷

MADDE	TANIMLAMA
Partikül Boyutu (nm)	240 ~ 280
P ₅₀ (Torr)	27 ~ 34
Hb (g/dL)	10.0 ± 0.4 (8.6 ± 0.4*)
Total Lipit (g/dL)	5.3 - 5.9 (4.6 - 5.4*)
Hb/ Total lipit (g/g)	1.6 ~ 2.1
Polietilen glikol - Lipit (mol%)	0.3
metHb (%)	< 3
HbCO (%)	< 2
Akışkanlık (230 s ⁻¹ de cP)	2 ~ 3 (3 ~ 4*)
Kristalloid Osmotik Basınç (mOsm)	300
Koloidal Osmotik Basınç (Torr)	0 (20*)
pH (37°C)	7.4
Endotoksin (EU/ mL)	< 0.1
Sterilite	Tespit Edilememiştir

*%20 rekombinant insan serum albumin karışımı



Şekil 2. Eritrositten arındırılmış hemoglobin ile hemoglobin vezikül yapımı⁷

Lipit bileşimi olan bu veziküllerinin, sıvı halde korunabilmesi (oda sıcaklığında 2 yıl), kan dolaşımında hemoliz göstermemesi, kanda uygun retansiyon süresi (insan için 3 gün olduğu tahmin edilmekte), trombosit ve kompleman aktivasyonlarının önlenmesi ile birçok problemin önüne geçilmesinde avantaj sağlayabilecektir⁷.

Çalışmalar genellikle kobay ve sıçanlarda çeşitli temel güvenlik ve oksijen taşıma etkileri üzerine yapılmıştır. Günümüzde yapay kan ürünlerinin güvenilirliği hakkındaki çalışmalar primatlarda yapılmaya devam etmektedir⁷.

Toksisite

Kimyasal kullanılarak yapıları değiştirilmiş veya modifiye edilmiş hemoglobinlerin toksik özellikleri, muhtemel olarak glomerüler filtrasyon oranında azalma, böbrek hasarları ve tubuler tıkanıklığı olabilmektedir⁴.

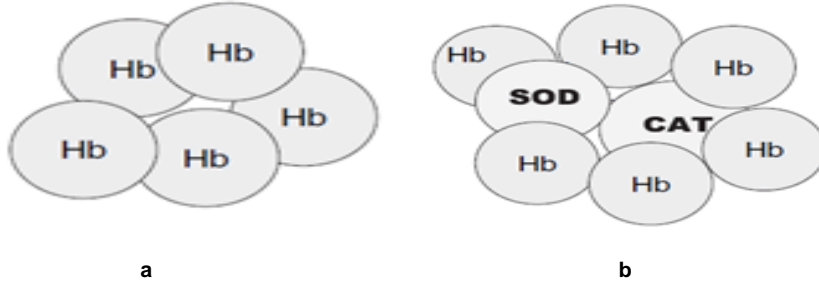
Antioksidan Özellikler

Kırmızı kan hücreleri katalaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimler içerirler. Pek çok değiştirilmiş yapay kan hemoglobini hiçbir enzim içermeden ultra saf hemoglobinden hazırlanır. Bunlar kısa süreli cerrahi uygulamalarda oksijen taşıyıcısı olarak etkilidirler; ayrıca enzim eklenmiş

yapay kan hemoglobinlerinin uzamış iskemik durumlarda, iskemi-reperfüzyon yaralanmalarında da kullanımları vardır.

PoliHb-katalaz-süperoksit dismutaz; katalaz, süperoksit dismutaz ve hemoglobin molekülünün çapraz bağlanması ile oluşturulmuş hemoglobin tipidir. PoliHb ile karşılaştırıldığında poliHb-katalaz-süperoksit dismutaz'ın hem *in vivo* hem de *in vitro* ortamda çok daha düşük oranda serbest radikal üretme eğiliminde olduğu belirlenmiş; polinitroksilat hemoglobin kullanımıyla da poliHb-katalaz-süperoksit dismutaza benzer bir aktivite olduğu gösterilmiştir^{3,8}.

Sonuç olarak modifiye edilmiş poliHb ile antioksidan enzimler incelenmekte ve araştırılmaktadır (Şekil 3)³.



Şekil 3. (a) Polihemoglobin, (b) Polihemoglobin-Süperoksit Dismutaz-Katalaz yapısının şematik gösterimi³. Hb: Hemoglobin, SOD: Süperoksit Dismutaz, CAT: Katalaz

Perflorokarbonlar

Perflorokarbonlar, hidrokarbona benzeyen, ancak onlardan farklı olarak hidrojen atomlarının flor atomlarıyla yer değiştirdiği moleküllerdir. Bu moleküllerden oluşan sıvıların üstün bir oksijen ve karbondioksit taşıma özellikleri vardır. Perflorokarbonlar, oksijeni gereksinimi olan dokulara kolayca ulaştırabilmektedirler^{4,9}.

Perflorokarbonlar, sulu çözeltilerle karışmadığından, yapay kan olarak kullanılmadan önce emülsiyon olarak hazırlanmaları gerekmektedir. FDA

tarafından onaylanmış olan FluosolDA adlı bir perflorokarbon (oksijene doyurulmuş perflorokarbon), kalp ameliyatlarında yapay kan olarak, koroner anjiyoplasti ameliyatı sırasında kalbe oksijen sağlayıcı olarak kullanılmaktadır. Bu madde, ameliyat sırasında kalp yaralanmalarını ve acıyı azalttığı halde, klinikte tam olarak benimsenmiş değildir. Günümüzde, Oxygent adlı perflorokarbon ABD' de klinik deneylerde kullanımı devam etmektedir^{4,9}.

Otomasyon Sistemler (Respirositler)

Nano tıp alanındaki önemli gelişmelerden biri de laboratuvar ortamında oluşturulan ve kırmızı kan hücrelerine benzeyen respirositlerdir. Respirositler, işlev açısından, kırmızı kan hücrelerine (eritrosit) benzeyen ve içlerinde oksijen taşıyan nanorobotlardır. Çapları 1 µm olan respirositler kan dolaşımı sisteminde rahatlıkla ilerleyebilmektedir¹⁰.

Basıncı gaz tankına benzetilen bu küresel yapılar 18 milyar sıralanmış karbon atomundan oluşmaktadır. Respirositlere 1000 atmosferlik basınç altında 9 milyar oksijen (O₂) ve karbondioksit (CO₂) atomu sığdırılabilir¹⁰.

Respirositler, vücuda girdikten sonra, içerisindeki oksijen ve karbondioksit gazlarının kontrollü salımını yapmak amacı ile düzenlenmişlerdir. Dış yüzeylerinde gaz miktarını algılayan özel alıcılar bulundurmaktadırlar. Akciğerlerden geçerken dış ortamdaki yüksek oksijen ve düşük karbondioksit miktarını algılayabilmekte ve içerisine oksijen gazını alıp dışarı karbondioksiti atabilmektedirler¹⁰. Oksijen ile doyan respirositler kan yoluyla dokulara ulaştığında ise tam tersi bir mekanizma ile işleyip; düşük oksijen miktarını algılayıp oksijeni dışarı vermekte, dış ortamdaki karbondioksiti de içerisine almaktadırlar¹⁰. Respirositler, doğal kırmızı kan hücrelerinin görevine benzer bir işlev gerçekleştirmektedirler. Aynı hacimdeki eritrositlerden 236 kat daha fazla oksijen taşıyabilen bu küresel yapılar elmas kaplı yüzeyleri sayesinde yüksek basınca dayanabilirler. Respirositler, bu sayede küçük bir hacimde çok miktarda gaz taşıyabilir¹⁰.

Geliştirme aşamasında olan bu teknoloji henüz insanlar üzerinde kullanılmamaktadır. Klinik kullanıma girdikten sonra birçok hastalığın

tedavisinde yarar sağlayacağı düşünülmektedir¹⁰.

Kök Hücre Tabanlı Yapay Kan Çalışmaları

Kök hücre çalışmalarının ilerlemesi ve hücrelerin *ex vivo* ortamda kullanılmaya başlamasıyla birlikte işlevsel kırmızı kan hücrelerinin oluşturulabilmesi için yöntemlerinin geliştirilmesi fikri oluşmuştur. Kemik iliği ve kordon kanındaki hematopoetik kök hücreler kırmızı kan hücrelerinin organizma dışı üretimi için umut vericidir. Bunlar özellikle atılan kordon kan hücrelerinden kolaylıkla temin edilebilmektedir. Göbek bağı etik kaygılar olmadan yararlı bir kaynak sağlayabilmektedir¹¹.

Kırmızı kan hücreleri şiddetli kan kaybı tedavilerinde ve hematopoezis çalışmalarında kullanılmakta; ancak uyumluluk problemleri nedeniyle klinik kullanımlarında bir kısıtlama söz konusu olmaktadır. İnsan eritroid kök hücrelerin varlığı, transfüzyon için *in vitro* eritroid hücrelerinin büyük miktarda oluşturulması ve eritropoez hakkında bilgilerimizin artırılması bakımından büyük bir fırsat sunmaktadır¹¹.

İlk çalışmalarda bağ doku hücrelerinin ko-kültürleri ve embriyonik hücrelerin yetiştirilmesi ile oluşturulan İnsan eritroid kök hücrelerden eritroid hücreler oluşturulabilmiştir. Fakat insan eritroid kök hücrelerinin farklılaşma verimliliklerinin düşüklüğü klinik uygulama çalışmalarını büyük oranda sınırlandırmıştır. Son zamanlarda, İnsan fetal karaciğer kök hücreleri ve insan fetal karaciğer doku hücre özütleri aracılığıyla büyük miktarda hematopoietik hücreler oluşturmak için yöntem geliştirilmiştir¹². Bu yöntemin kullanılması ve kültüre edilmesinden 11 gün sonra %32,73 oranında CD34⁺lerin üretilmesi mümkün olmuştur. Daha da önemlisi, hematopoietik hücrelerden, metilsellüloz üzerinde tomurcuklanarak ağırlıklı olarak eritroid hücrelerinin olduğu gözlemlenmiştir^{11,12,13}.

Kök hücrelerden kırmızı kan hücre üretiminde izlenen bir başka çalışma, büyük ölçekli üretilen *ex vivo* insan eritroid hücrelerinde (çekirdekli hücreler) enükleer eritrositlerin *in vivo* olarak ayrılabilirliğinin gösterilmesiyle ortaya konulmuştur. Kültür ortamında belirli sitokin kombinasyonlarının sıralı

verilişine dayalı eritroid progenitör hücrelerin, CD34⁺ büyümesini sağlayan kültür protokolü geliştirilmiştir. Bu şekilde eritroid progenitör hücrelerin hematopoitik kök ve/veya progenitör hücrelerden farklılaşmış kırmızı kan hücrelerin transfüzyonda alternatif olabilecek klinik bir yöntem olduğu gösterilmiştir^{11, 13}

Sonuç

Homolog kan transfüzyonu, kabul edilebilir etkinliği ve düşük maliyeti gibi avantajlarının yanısıra, yüksek miktarlarda ihtiyaç duyulduğu durumlarda stok yetersizliği ve enfekte donör kanı varlığı gibi dezavantajları olan bir sistemdir. Bu nedenle, savaş gibi acil durumlarda, doğal afetlerde, donör kanındaki patojenlerin bulaşma riski olduğu ülkelerde yapay kana olan ihtiyaç çok fazladır.

Günümüzde yapay kan, yarılanma ömrü, toksik etkiler, maliyet sorunları ve klinik denemelerinin yetersizliği gibi sorunlar nedeniyle transfüzyonda henüz kullanılsa da, ileriki dönemlerde transfüzyon tıbbının gelişmesinde çok fazla etkisi olacağı ve kan transfüzyonuna yeni bir boyut getireceği öngörülmektedir.

Kaynaklar

1. Chang SMT. Evolution of artificial cells using nanobiotechnology of hemoglobin based rbc blood substitute as an example. *Artif Cell Blood Sub* 2006; 34: 551– 66.
2. Chang SMT. Blood substitutes in 2010 [1]. *Artif Cell Blood Sub* 2010; 38: 295– 6.
3. Chang SMT. Hemoglobin-based Red Blood Cell Substitutes. *Artificial Organs* 2004; 28(9):789– 94.
4. Goorha BYC, Deb MP, Chatterjee LCT, Dhot CPS, Prasad BRS. Artificial blood. *MJAFI* 2003; 59: 45- 50.
5. Chang SMT. Future prospects for artificial blood. *Trends in Biotechnol* 1999; 17: 61- 7.
6. <http://stemcells.nih.gov/info/basics/basics1.asp>. Erişim Tarihi: 18. 04. 2012.
7. Takeoka S. Developmental trend of artificial blood (Artificial red blood cells). *JMAJ* 2005; 48(3): 135–39.

8. Chang SMT. Editorial: Safety of red blood cell substitutes as compared to stored donor red blood cells. *Artif Cell Blood Sub* 2008; 36: 1–2.
9. Henkel HT, Oleck M. Artificial oxygen carriers: a current review. *AANA* 2007; 75(3): 205- 11
10. http://www.nanoethics.org/paper_enhance.html. Erişim Tarihi: 08.04.2012.
11. Hiroyama T, Miharada K, Kurita R, Nakamura Y. Plasticity of cells and ex vivo production of red blood cells. *Stem Cell Int* 2011; 1- 8.
12. Pourcher G, Mazurier C, King YY, Giarratana MC, Kobari L, Boehm D, Douay L, Lapillonne H. Human fetal liver: An in vitro model of erythropoiesis. *Stem Cell Int* 2011; 1- 10.
13. Chang CJ, Mitra K, Koya M, Velho M, Desprat R, Lenz J, Bouhassira EE. Production of embryonic and fetal-like red blood cells from human induced pluripotent stem cells. *Plos One* 2011; 6(10): 1- 9.

Yazışma Adresi:

Dok. Öğr. Ümit Yaşar
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
ADANA
Tel: 0 322 3386060/3466
E mail: umityasar111@hotmail.com