

Bireysel Tıpta Organoidler ve Yapay Zeka

Organoids and Artificial Intelligence in Personalized Medicine

Ece Gümüšoğlu-Acar¹ | Kaan Kara^{1,2} | Sude Subaşı^{1,2} | Dilan Kutlay^{1,2} | Tuba Günel^{1*}

¹İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ORCID ID: EGA: 0000-0003-3807-0330 KK: 0009-0007-0789-4077 SS: 0009-0000-6501-8947

DK: 0009-0005-7535-1037 TG: 0000-0003-3514-5210

Makale Bilgisi | Article Information

Makale Türü | Article Type: Derleme | Review

Doi:

Geliş Tarihi | Received: 25.07.2024

Kabul Tarihi | Accepted: 16.12.2024

Yayın Tarihi | Published: 31.12.2024

Sorumlu Yazar | Correspondence Author

Tuba Günel

gunel@istanbul.edu.tr

Address for Correspondence: İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye.

Atıf | Cite As

Gümüšoğlu-Acar E, et al. Organoids and Artificial Intelligence in Personalized Medicine. 2024;4(3): 7-21. DOI:10.52309/jaihs.2024.20

Çıkar çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemişlerdir.

Finansman

Bu çalışma herhangi bir kurum ya da kuruluş tarafından finanse edilmemektedir.

Etik Onay

Bu çalışmada Etik Kurul Onay'ına ihtiyaç duyulmamıştır.

Yazar Katkıları

Motivasyon / Konsept: TG

Çalışma Tasarımı: TG

Kontrol / Gözetim: EGA, TG.

Veri Toplanması ve / veya İşlemesi: Bu çalışmada yapılmamıştır.

Analiz ve / veya Yorum: Bu çalışmada yapılmamıştır.

Literatür incelemesi: KK, SS, GK.

Makalenin Yazılması: KK, SS, GK.

Eleştirel İnceleme: EGA, TG.

Bireysel Tıpta Organoidler ve Yapay Zeka

ÖZET

Organoidler, organların, dokuların ve hücrelerin simüle edildiği 3 boyutlu in vitro modellerdir. Organoidlerin kök hücre çalışmaları ile modellenerek yapay zeka ile birleştirilmesiyle bilimde yeni bir çağın kapıları açılmıştır. Bireyin kendi genomundan sağlanan veriler ile hastalık mekanizmaları ve tedavi yöntemlerine ilişkin anlayışı yeniden tanımlamaktadır. Bu derleme, organoid çalışmalarındaki yeniliklere genel bir bakış sağlayarak özellikle kök hücrelerden elde edilen organoidlerin kanser ve ilaç araştırmalarında yapay zeka aracılığıyla modellenmesi sonucunda bireysel tıp üzerine etkilerini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Organoidler, yapay zeka, bireysel tıp, kanser, kök hücre

Organoids and Artificial Intelligence in Personalized Medicine

ABSTRACT

Organoids are 3D in vitro models in which organs, tissues and cells are simulated. A new scientific era was started by organoid modeling with stem cell studies and combining them with artificial intelligence. It redefines the understanding of disease mechanisms and treatment methods with data provided from the individual's own genome. This review provides an overview of the innovations in organoid studies. It also reveals the effects of organoids, especially originating from stem cells, on personalized medicine by modeling them through artificial intelligence in cancer and drug research.

Keywords: Organoids, artificial intelligence, personalized medicine, cancer, stem cell

GİRİŞ

Organoidler, organların, dokuların ve hücrelerin in vitro ortamda fonksiyonel ve yapısal özelliklerini simüle eden 3 boyutlu ("3 Dimensional", (3D)) minyatür organ modelleridir (1,2). Organoidler, çoğalma, farklılaşma ve kendini yenileme yeteneğine sahiptirler (3). Doku kaynaklı yetişkin kök hücrelerden (ASC'ler), embriyonik kök hücrelerden (ESC'ler), indüklenmiş pluripotent kök hücrelerden (iPSC'ler) ve hasta kaynaklı tümör dokusu hücrelerinden elde edilebilirler; temsil ettiği hücrenin morfolojik yapısını ve epigenetiğini etkin bir şekilde taklit edebilirler (4,5).

Bireysel tıp, kişinin sağlık risklerini etkileyen genetik, fenotipik veya çevresel faktörleri göz önünde bulundurarak potansiyel hastalıkları önlemek üzere kişiye özgü tedavi stratejilerinin geliştirilmesinin önünü açan yenilikçi bir yaklaşımdır. Bireysel tıp uygulamalarında birçok bilim dalının bir arada çalışması gereklidir. Klinikte ihtiyaç duyulan araştırmanın belirlenmesi ile multidisipliner olarak gerçekleştirilen bu süreç translasyonel uygulamalar olarak isimlendirilir. Translasyonel araştırmalarda çok sayıda in vivo ve in vitro modellerle hastalığın simülasyonu yapılır ve tedavi stratejileri planlanabilir. Oluşturulan in vivo ve in vitro organoid modelleri arasındaki benzerliklerin doğrulanmasında makine öğrenimi algoritmaları karmaşık organoid veri setlerinin çözümlenmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır (6).

Bu derleme bireysel tıpta organoid kullanımı üzerinde yapılan araştırmalar hakkında bilgi vermek üzere hazırlanmıştır. Bu bağlamda organoid çalışmalarında kullanılan kök hücreler, bireysel tıpta kanser araştırmaları üzerinde yapılmış organoid çalışmaları, ilaç geliştirilmesinde ve hasta yanıtlarının izlenmesinde organoid modelleri üzerinde durulmuştur. Araştırmalarda fizyolojik olarak gerçeğe daha yakın, klinik uygulamalara daha uygun organoidler üretmek için yapay zeka modelleri üzerine yapılmış olan çalışmalar hakkında bilgi verilmiştir.

Kök Hücre ve Organoidler

Günümüz tıbbında, kök hücrelerden elde edilen organoidler, hastalıkların daha iyi anlaşılmasında ve kişiye özel tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde

yenilikçi araçlar olarak kullanılmaktadır (7). Aktif bir biçimde kullanılan organoidler, geleneksel olarak 2 boyutlu ("2 Dimensional", (2D)) kültür hücrelerinin ve hayvan modellerinin hücresel heterojenlikten, komşu hücreler ve hücre dışı matriks ile karmaşık etkileşimleri içeren 3 boyutlu ortamından yoksun olmasından dolayı ayrıca aynı ortamı simüle etmede yetersiz kalmasının sonucunda oluşturulmuştur (8,9). Organoid teknolojilerinde kaydedilen ilerlemeler, klinik olarak hastalıkların teşhis ve tedavilerinin gerçekleştirilmesinde ve insan biyolojisinin anlaşılmasında umut verici yaklaşımlar sunmaktadır.

Hans Clevers ve ekibi, 2009 yılında fare ince bağırsak organoidlerini meydana getirerek organoid oluşumunun temellerini atmışlardır. Bu çalışmada, erişkin ince bağırsağında yer alan Lgr5+ kök hücrelerinin izolasyonu gerçekleştirilerek R-spondin, Noggin, EGF (epidermal büyüme faktörü) ve diğer büyüme faktörleri ile 3D matrijel kültür ortamında bağırsak organoidleri meydana getirilmiştir. Bu kültür sistemi ile crypt-villus biyolojisi çalışmaları basit hale indirgenmiş ve daha sonrasında yapılacak birçok farklı organ ve doku organoidlerinin üretilmesinde yeni yollar oluşturmada önemli roller oynamıştır (10).

Hastalardan veya dokulardan optimize edilmiş doku ayrışması yöntemi ile elde edilen kök hücreler, organoidleri meydana getirebilmek için kök hücre nişlerini taklit etmede kullanılan 3D matrise gömülmektedir (4,11). Bu süreçlerden sonra ise beyin, gözler, böbrek, akciğer, mide, bağırsak, iç kulak, cilt, tiroid ve karaciğer gibi çoklu dokulara benzeyen organoidler elde edilmektedir (4).

Hastalık modellemesindeki ve klinik uygulamadaki çeşitlilikten dolayı organoidler farklı kök hücre kaynaklarından elde edilmektedir. Bu kök hücre kaynakları elde edildikleri yere göre ve farklılaşma özelliğine göre çeşitlilik göstermektedir (7). Yetişkin kök hücreler (YKH'ler), yetişkin organ dokularında bulunan farklılaşmamış somatik hücrelerden elde edilirken, süresiz bölünme ve organizmanın her hücresini oluşturma yeteneğinde bulunan embriyonik kök hücreler (EKH'ler) ise embriyolardan elde edilmektedir (12,4). Organoidleri embriyonik kök hücrelerden elde ederek oluşturmak etik birçok soruyu da beraberinde getirdiğinden bunun önüne

geçebilmek için indüklenmiş pluripotent kök hücreler (İPKH'ler) kullanılmaya başlanmıştır (4). Somatik hücrelerin transkripsiyon faktörleri (OCT4, SOX2, KLF4 ve cMYC) aracılığıyla yeniden programlanması ile pluripotent kök hücreler geliştirilmiştir (13). Bu bağlamda geliştirilen İPKH'ler hastalıkların in vitro modellenmesine ve klinik tedavilerine uygulanmaktadır. Kök hücrelerden elde edilen bir diğer organoid çeşidi ise tümör dokularındaki tümör kök hücrelerinden elde edilen tümöroidlerdir (14,3). Tümöroidler kanserin genetik, moleküler ve biyolojik özelliklerinin araştırılmasında, klinik öncesi bilgi edinmede, hedefli terapi yaklaşımlarının belirlenmesinde ve bireysel tıpta önemli bir yere sahiptir.

Organoidlerin çeşitli sayıda dokuyu veya organı meydana getirmesi, hastaya özgü ilaçların ve tedavi yöntemlerinin test edilmesini mümkün kılmaktadır. Böylece meydana gelen kök hücre organoidleri, hastaların ihtiyaçlarına daha hassastır ve hedefe yönelik tedavi uygulamalarının geliştirilmesinde çok önemli bir yere sahiptir.

Kanser ve Organoidler

Günümüzde giderek yaygınlaşan ve yüksek ölüm oranlarının başlıca sebebi olan kanser, heterojenitesi yüksek bir hastalıktır ve dolayısıyla tedavi yanıtları hastalar arasında farklılıklar göstermektedir (15). Farklı tedavi yanıtlarının hangisinin en etkili olduğunu belirlemek ve bireysel tedavi araçlarında yeni yöntemler meydana getirebilmek için hastaya özgü klinik öncesi tümör modellerinin geliştirilmesine, kanserle ilgili mekanizmaların araştırılmasına ve klinikte kişiselleştirilmiş anti-kanser tedavilerine ihtiyaç duyulmaktadır (2,16). Kanser tedavilerinde kullanılmak üzere in vivo'ya daha benzer bir yaklaşıma ihtiyaç duyulduğundan yeni bir model olarak, kök hücreler veya progenitör hücrelerden üretilip sağlıklı organların yapısını ve işlevini taklit etmede kullanılan organoidler ve kanser hücrelerinden türetilip tümörlerin yapısını ve fonksiyonunu simüle etmede ise geliştirilen tümöroidler, kanser araştırmalarında önemli avantajlara sahiptir ve bu araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (17,18,14).

Tümör organoidleri, karmaşık yapıda bulunan tümör oluşum süreçlerini simüle ederek ve tümörün biyolojik özelliklerini koruyarak hastanın

ilaç tedavisine olan yanıtlarını tahmin etmekte ve kanser araştırmaları için bireyselleştirilmiş tedavilerde kullanılmaktadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalar sonucunda organoidlerin, farklı tümör çeşitlerini başarılı bir şekilde simüle ettiği gözlenmiştir (19). Kanser araştırmalarında büyük öneme sahip olan tümöroid modellerinin, hastaların ilaçlara vermiş olduğu yanıtı genel duyarlılığı %100, özgüllüğü %93, pozitif prediktif değeri %88 ve negatif prediktif değeri %100 olarak tespit ettiği bulunmuştur (14). Bu bağlamda hastalar için uygulanan farklı tedavilerin oluşturduğu yanıtlar incelenmiş, hastalar için optimum tedavinin tespit edilmesi ile gereksiz zaman ve kaynak tüketiminin azaltılabileceği öngörülmüştür (14). Ek olarak tümör organoidlerine uygulanan çeşitli tedavi biçimlerinin keşfi sonucunda hastaların hayatta kalma oranları artmakta ve yaşam kaliteleri iyileştirilerek mevcut yaklaşımların geliştirilmesine yardımcı olmaktadır (20).

Uzun yıllar boyunca, hücre biyolojisi araştırmalarında kullanılan 2D kültür yöntemi, tümörün mekanik özelliklerini ve bu özelliklerin hücre davranışına etkisini ayrıca kanser hücreleri ile tümör mikroçevresi arasındaki etkileşimleri incelemede yeteri kadar bilgiyi sağlayamadığı için klinik olarak oluşturulan tedavilerde istenmeyen sonuçlar meydana getirmektedir (21,8). Bundan dolayı hastalardan elde edilen tümör organoidlerinin kullanımı klinik tedavilere avantaj sağlayarak hastaya özgü sonuçlar elde etmekte ayrıca klinikteki uygulamaları tekrarlanabilirlik açısından önemli olduğundan tercih edilmektedir (9). Bu nedenle tümöroidler bireysel tıpta, yeni ilaç keşfinde, temel ve klinik araştırmalarda kullanım için büyük potansiyele sahiptir. Kişiye özgü kanser tedavilerinin belirlenebilmesi için hastaya ait tümörden elde edilen biyolojik materyalin genomik profili çıkarılarak tümöroidler oluşturulmaktadır (22). Oluşturulan tümöroidler genomik profillemeye sonucunda tümörün fenotipini ve mutasyonlarını yansıtmaktadır (23). Tümöroidler kullanılarak yapılan araştırmaların başında terapötiklerin kanser hücrelerine etkileri gelmektedir. Saito ve ark. tarafından safra yolu kanseri organoidleri üzerinde yapılan çalışmada klinikte kullanılan 339 ajanın multi ilaç taraması başarılı bir şekilde gerçekleştirilerek antifungal ajanlar, HMG-CoA redüktaz inhibitörleri ve dopamin D2 reseptör agonistleri de dahil olmak üzere 22 bileşiğin

tümör organoidlerinin gelişimlerinin baskılandığı tespit edilmiştir (24).

Organoidler birçok kanser türünde uygulanmaktadır. Chen ve ark., farklı hastalık evrelerine ve moleküler alt tiplere sahip tümör dokularını içeren meme kanseri organoidleri üretmiştir (25). Meme kanserinin birkaç farklı moleküler alt tipi vardır ve çeşitli alt tipler arasında genomik varyasyonda önemli farklılıklar bulunmaktadır, bu da ileri evre meme kanserinde tedavi seçeneklerinin seçiminin temelini oluşturmaktadır. Meme kanseri organoidleri, meme kanseri bireysel tıp araştırmalarında büyük önem taşıyan alt tiplerin farklı özelliklerinin derinlemesine araştırılması için iyi bir yaklaşım haline gelmiştir (14). 2016 yılında Hans Clevers, yaklaşık 2 hafta içinde elde edilebilen 3D prostat organoidleri üretmek için bir kültür protokolü yayımlamıştır (26). Bu protokole göre oluşturulan prostat kanseri organoidleri, in vivo tümörlerin özelliklerini yüksek oranda taklit etmektedir ve prostat kanseri için moleküler mekanizma araştırmalarında ve ilaç taramasında yaygın olarak kullanılabilir (26).

Organoidlerin kullanım alanlarından biri olan kanser araştırmaları, bireysel tıp ile birleştirilerek kanser tedavilerinin başarı oranının artmasında çok sayıda keşfe yol açmıştır. Bu tedavi stratejileri çeşitli tümör organoidlerine uygulanarak yeni tedavi alternatiflerinin belirlenmesini sağlamakta ve kanser hastalarının sahip olduğu mekanizmalar hakkında var olan bilgilerimizi daha da genişletmektedir. Sağlıklı bireylerin kök hücrelerinden oluşturulan organoidler üzerinde kanser markerlarının taranması, hasta bireylerden tümör organoidleri oluşturularak hastalık takibi ve bireysel tedavi için optimizasyon çalışmaları gibi farklı araştırmalar devam etmektedir.

İlaç Araştırmaları, Hasta Yanıtları ve Bireysel Tıp

Hastalıkları anlamak ve insanlığın devamı için bu hastalıklara tedavi bulmak bilim insanlarının en çok araştırdığı konulardan biri olmuştur. Günümüz tıbbında, birçok hastalığın nasıl oluştuğu ya da ilerlediği moleküler düzeyde tam olarak anlaşılmasa da bireyler üzerindeki etkilerini azaltmak ve iyileştirmek adına yapılan ilaç geliştirme çalışmaları devam etmektedir. Bu bağlamda hücre kültürü çalışmaları önemli bir süreçtir, organoidlerin parental hücrelere verdiği

yakın tepkiler ilaç geliştirme çalışmaları için değerli bir buluş olmuştur (10).

Organoidler, ilaç geliştirme prosedürlerinin birçok aşamasında kullanılabilir. Zheng ve ark. tarafından yapılan bir kohort çalışmasıyla, over kanseri tümör hücrelerinden 122 organoid elde edilerek oluşturulan biyobankada gerçekleştirilen tüm genom dizileme ("Whole Genome Sequencing", WGA) sonucunda parental tümör hücreleri ile organoidlerin genomu karşılaştırıldığında uyum oranının yüksek olduğu görülmüştür ve bu organoid hücreleri ilaç hassasiyeti ve hasta yanıtları araştırmaları için kullanılmıştır (27). Bir başka çalışmada, oldukça agresif progresyonlu ve tekrarlaması yüksek bir kanser türü olan üçlü negatif meme kanseri hücrelerinden organoidler oluşturulmuş ve epigenetik düzenleme ile ilişkili 169 bileşen incelenmiştir. Bu araştırma sonucunda organoidler üzerinde en az dört yeni anti-tümör aktivitesi gösteren bileşen keşfedilmiştir (28).

PDO'ların ("patient-derived organoids") tedavi ve hastalığa verdiği yanıtların, kökenlendiği hücrelere mümkün olduğunca yakın olması beklenir. Kolorektal kanseri ilişkili fibroblastlar ve organoidler ile oluşturulmuş bir ko-kültür ortamında fibroblastların ilaç direncine etkileri incelenmiştir. Kültür ortamı tümör mikroçevresine benzetilerek anti kanser ilaçları uygulanmış, elde edilen sonuçlar yalnız kültürlenmiş organoidlerle karşılaştırılmış ve gen ekspresyonu farklılıkları tespit edilerek iki gen grubu belirlenmiştir. Kolorektal kanseri organoidleri ve fibroblastlar arasındaki ilişkinin, ilaç direncini modüle eden bu iki gen grubundan etkilendiği ortaya koyulmuştur, bu bulgular organoidlerin morfolojik düzeyde gözden kaçabilen metabolik olayların moleküler düzeyde gözlemlenmesine olanak sağladığını göstermektedir (29).

2018 yılında ilaç duyarlılığı testi için karaciğer kanseri organoidleri oluşturmada hasta biyopsi dokuları kullanılmıştır. Sorafenib üzerinde ilaç duyarlılığı testleri yapmak için tümör organoidleri kullanılmıştır ve farklı hastalardan alınan organoidlerin sorafenibe karşı farklı duyarlılıklara sahip olduğu bulunmuştur. Çalışmanın sonuçları, biyopsi dokusundan türetilen organoid modelin, bireyselleştirilmiş hassas tedavinin geliştirilmesi için bir araç sağlayabilen parental tümör dokusu

ile oldukça tutarlı olduğunu doğrulamıştır (30). Bu alanda yapılan bir diğer örnek, Vlachogiannis ve ark. tarafından yürütülmüş ve tümör organoidleri oluşturmak için rektum kanseri hastalarından elde edilen hücre kültürleri kullanmıştır. İlaç duyarlılık testleri yapılmış ve ardından aynı kemoterapi rektum kanserli hastalara uygulanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde tümör organoidlerinde etkili olduğu tespit edilen ilaçların hastaların %88'inde başarılı olduğu, organoidlerde etkinlik gösteremeyenlerin de hastaların %100'ünde etkisiz olduğu görülmüştür. Bu bulgular, tümör organoidlerinin ilaç yanıtlarını doğru bir şekilde tahmin etmedeki klinik öneminin altını çizmekte ve böylece kanserli hastalar için bireyselleştirilmiş tedavi stratejilerine rehberlik etme potansiyeli sunmaktadır (31).

Organoid modellerinin diğer kültür ortamlarından farkı kanser heterojenite fenotiplerini yansıtmasıdır. Biyopside gözden kaçırılan genomik değişimler, kanda dolaşan tümör hücrelerinden ("cell-free tumor cells" (CTC)) oluşturulan organoid kültürü ile izlenebilmektedir. Epitel hücrelerin mezenkimal hücrelere transizyonu, hastalardan alınan CTC kökenli organoidlerde takip edilen bu mekanizmanın izlenmesiyle kanserin gelişimini yansıtmaktadır (32).

Organoid kültürleri, in vitro çalışılması güç olan nöronlar için beyin araştırmalarının oldukça kolaylaşmasını sağlamıştır. Birçok nöral hastalıkta mitokondriyal bozuklukların sebep ya da sonuç olduğu düşünülmektedir. Drosophila ve iPSC modelleri kullanılarak Parkinson's hastalığındaki mitokondriyal disfonksiyonların izlenmesi ve patojenleri azaltabilecek bir bileşen ile ilgili bir araştırma bulunmaktadır. Bu araştırma, hücrelerin mitokondriyal ölüm ve NAD+ metabolizmasındaki değişimleri göstererek NAD+ öncüllerinin bozuklukları tamir edebileceği göstermiş, organoidlerin hastalık modelleme ve ilaç geliştirmedeki önemi ortaya koymuştur (33).

Kistik Fibrozis, CTFR gen mutasyonu ile ortaya çıkan bir genetik hastalıktır. Sık görülen genetik mutasyonlardan olan ve iç organların fonksiyonlarının bozulmasına sebep olan Kistik Fibrozis ("Cystic Fibrosis", (CF)) hastalığı üzerinde çalışmalar yoğun şekilde devam etmektedir ve günümüzde birçok mutasyonu tanımlanmıştır (34).

Bu hastalığın tedavisinin bireyselleştirilmesi için de farklı mutasyon ve genotiplerin kaydedildiği biyobankalar oluşturulmuş ve bu biyobankalar sayesinde tedavi veriminin arttığı görülmüştür. 2023 yılında, ilk defa bir organoid tarama tedavisi Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi ("Food and Drug Administration", (FDA)) tarafından onay almıştır. Bu çalışmada, aynı grubun daha önce yaptığı bir assay kullanılarak CF için oluşturulan biyobanka ile CTFR geninin modülatörleri araştırılmış ve bu modülatörlerin düzenlenmesiyle tedaviye uygun olmayan CF genotipleri karakterize edilmiştir. Bu çalışma, hastalıkların tayin ve tedavi sürecinde bireyselleşme için organoid çalışmalarının potansiyelini göstermektedir (35).

Tarama Çalışmaları ve Biyobelirteçler

Biyobelirteçler, hücrede gerçekleşen metabolik ve fizyolojik oluşumları temsil eden ve objektif olarak ölçülebilen moleküllerdir. Organoidler, hem biyobelirteç taramalarında hem de birer biyobelirteç olarak kullanılabilir. Organoidler hastaların tedavilere verdiği özgün tepkileri ortaya koyarak ilaç geliştirme aşamasını etkilemektedir. Bu süreçte organoidlerin, simüle ettiği hastalıkla aynı yanıtı vermesi beklenir. Metastatik kolorektal kanserin bireysel tedavisinde PDO yanıtlarının in vivo yanıtları en iyi şekilde yansıtması için farklı metodlar geliştirilmiştir. Çalışmaların sonucunda PDO'ların hastalığa ve tedaviye verdiği yanıtlar parental hücreler ile korelasyon göstererek bu araştırmanın gelecek çalışmalar için bir temel oluşturmasına olanak sağlamıştır (36).

Tarama ya da görüntüleme, asemptomatik durumlarda bir hastalığı tespit etmek için yapılan testlerdir. Bu testler ile biyobelirteçler taranarak, hastalık erken evrelerdeyken ya da meydana gelmeden saptanmaya çalışılır (37). CRISPR-Cas sistemlerinin keşfi genom düzenleme yöntemlerinde köklü bir değişime sebep olmuştur. Moleküler makas olarak da bilinen bu yöntem, PDO'lar ile yapılan çalışmaların rutin bir parçası haline gelmiştir. CRISPR taraması, bu metodun temeli olan tek zincirli klavuz RNA'lar ("single guide RNA" (sgRNA)) için bir kütüphane oluşturulup gerekli vektör aracılığıyla hücrelere tanıtılarak hedeflenen dizilerin taranması ve verilerin işlenmesiyle yapılan bir tekniktir (38). CRISPR sistemleri ile oluşturulan kütüphaneler ile temel olarak iki farklı şekilde görüntüleme yapılmaktadır, pozitif

ve negatif seçim; pozitifte sağkalan nükleik asit seçilirken negatifte amplifikasyonda silinen genlerin karşılaştırılması kullanılır (39). CRISPR taramasıyla akciğer kanserinde ilaç direnci araştırılmıştır. Hippo sinyal yolağının regülasyonunun EGFR mutasyonuna sahip akciğer kanseri tedavisinde kullanılan osimertinib ilacına direnç oluşturduğu, sinyal yolağının aktivatörlerinin ekspresyonunun artmasıyla ilişkili olduğu ortaya koyulmuştur (40).

Sağlıklı bir insan fetal beyninden çoğalabilen ve düzenlenebilen bir organoid oluşturmak üzere yapılan bir çalışmada, mikrosefaliye sebep olan RAB3GAP2 gen mutasyonu CRISPR ile organoide tanıtılarak sağlıklı fetal hücrelerden oluşturulan organoidlerin de hastalık modellemesi için kullanılabilceği ortaya koyulmuştur (41). Organoidler genelde pluripotent kök hücre kaynaklı oluşturulurken bu çalışmada fetal hücreler yani multipotent özellikli ve gelişmekte olan kök hücreler kullanılarak, organoidlerin farklı özellikli hücrelerden kaynak alsa da birçok alanda başarılı bir şekilde kullanılabilceğini ortaya koymuştur.

“Human induced pluripotent stem cells (hiPSCs)” organoid çalışmalarında önemli bir rol üstlenmektedir. Örneğin, serebral organoid çalışmalarında sıklıkla kullanılan bir hücre grubu olarak CRISPR ile genom düzenlenmesi yapılmış hiPSC’lerde optik genom haritalaması sonucunda, morfolojik olarak saptanamayan genetik değişimler ortaya çıkmıştır. Bu çalışma ile, genom düzenleme teknikleriyle geliştirilmiş organoidlerin henüz doğruluk oranının hedeflenenden az olduğu gösterilmiştir (42).

Organoidler ve Yapay Zeka

Bir yapay zeka (“Artificial Intelligence”, AI) alt kümesi olan makine öğrenimi (“Machine Learning”, ML), organoid fenotiplerini tanıyarak büyük miktarda biyomedikal veriyi manuel müdahale olmadan işleyebilmekte ve klinik teşhis, hassas tedavi, ilaç taraması ve sağlık durumunun izlenmesinde pratik uygulamalar sunmaktadır (43). Aynı zamanda ML algoritmaları, karmaşık organoid veri kümelerindeki örüntüleri çözerek in vivo organlar ile in vitro organoid modeller arasındaki benzerlikleri doğrulamada önemli bir rol oynamaktadırlar (6). ML’nin bir alt dalı olan derin öğrenme (“Deep Learning”, DL) ise, biyolojik görüntülerin analizinde kullanılarak

araştırmacılara verileri etkili bir şekilde çözümlenme ve yorumlama imkanı sunmaktadır (43).

Hassas İlaç Taramasında Yapay Zeka

Hassas ilaç taramasında organoidlerin kullanımına AI algoritmalarının entegre edilmesi ilaç yanıtlarını tahmin etmede ve terapötik hedefleri belirlemede yeni bir evre başlatmıştır. Bireysel tıpdaki gelişmeler doğrultusunda ilaç biyobelirteçlerini belirlemek ve hastaların tedaviye yanıtlarını izlemek için AI modelleri geliştirilmiştir. Kemoterapi ilaçlarının etkinliğinin daha hassas bir şekilde değerlendirilebilmesi ve gereksiz yan etkilerinin minimize edilmesi için bu tür modellerin geliştirilmesi bireysel tedavi konusunda umut vermektedir (6).

Etkili moleküler belirteçlerin eksikliği nedeniyle İPKH’lerle ilaç keşfi yapmak zorlu bir süreçtir. Ancak, İPKH’lerden türetilmiş farklılaşmış hücrelerin AI kullanılarak yüksek doğrulukla değerlendirilebileceği kanıtlanmıştır. AI, hücrelerin patolojik durumlarına göre morfolojik değişiklikleri analiz edebildiğinde, İPKH’ler üzerinden yapılan ilaç keşif araştırmalarında önemli bir yenilik sağlayabileceği görülmüştür. Bu bağlamda, hücre morfolojisindeki değişiklikleri inceleyerek hücrelerin patolojik durumlarını belirleyen Deep-SeSMo (“Deep Learning-Based Senescence Scoring System by Morphology”) adında bir AI sistemi geliştirilmiştir. Kardiyovasküler hastalıkların ilerlemesinde kritik rol oynayan endotel yaşlanmasını değerlendirmek için bu AI sistemi kullanılmıştır. Deep-SeSMo, sağlıklı ve yaşlanmış hücreleri, faz kontrastlı mikroskopi görüntülerinden, yüksek doğrulukla ve daha az veriyle sınıflandırmayı başarmış, ayrıca hücresel yaşlanma derecesini yüksek kalitede değerlendirebilen bir yaşlanma skoru geliştirmiştir. Bu yaşlanma skoru, oksidatif stres, kamptotesin konsantrasyonu ve hücre çoğalma sayısı gibi çeşitli stres faktörleriyle güçlü bir ilişki göstermiştir. Deep-SeSMo tabanlı ilaç taramasıyla, bir kinaz inhibitör kütüphanesi kullanılarak hücresel yaşlanmayı etkileyen ilaçlar taranmış ve dört yaşlanma karşıtı ilaç belirlenmiştir. RNA dizilimi analizi, bu bileşiklerin genellikle inflamatuvar yanıt yollarını inhibe ederek yaşlanan hücre fenotiplerini bastırdığını ortaya koymuştur. Organoidler, İPKH’lerin üç boyutlu kültür sistemlerinde farklılaşmasıyla oluşan çok hücreli yapılar olup, hastalık fenotiplerinin çoğaltılmasında

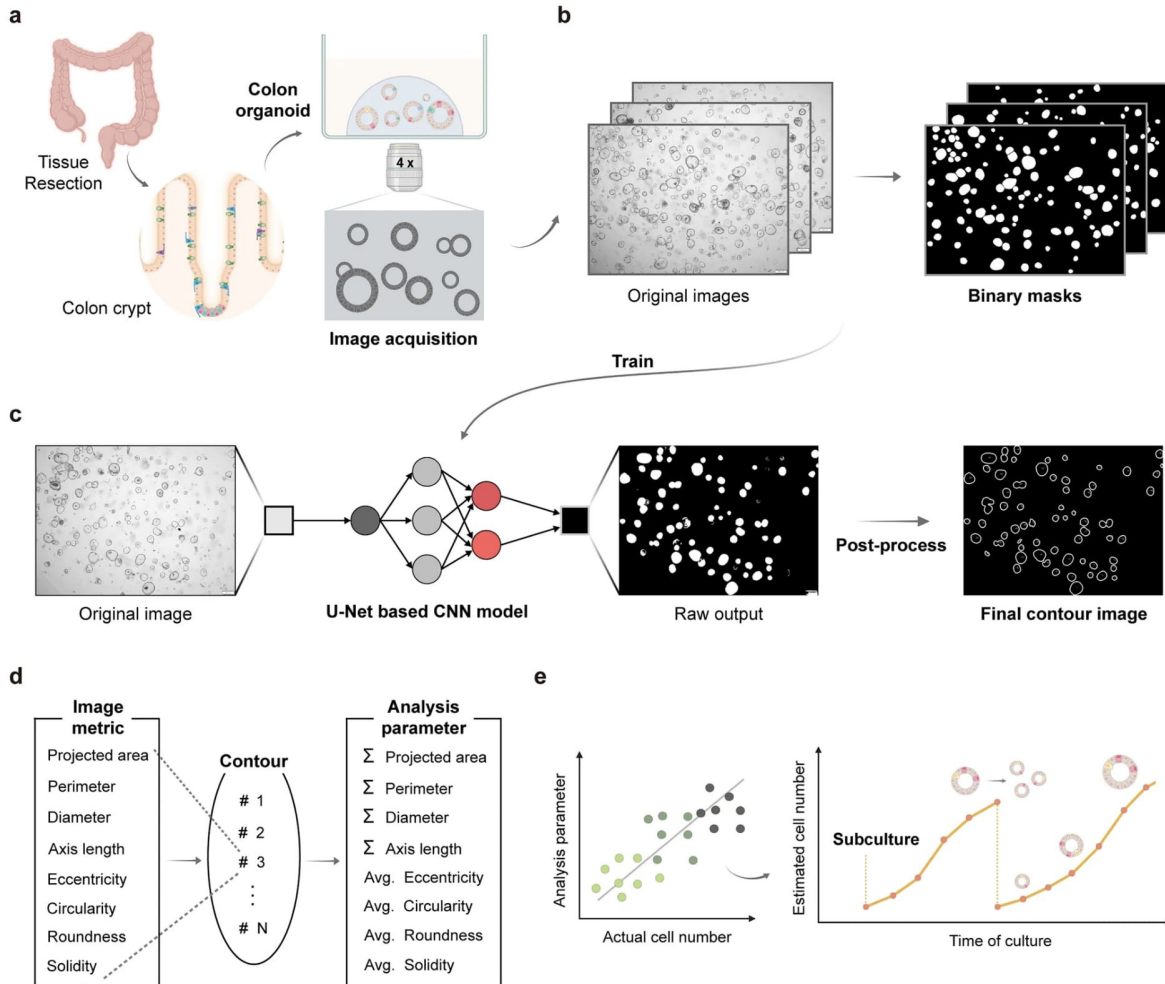
ve hastalık ile toksisite testlerinde etkili ilaçların araştırılmasında basit hücre modellerinden daha yararlıdır (44,45).

Görüntü İşlemede Organoidler ve Yapay Zeka

Organoid araştırmalarının en zorlu ve zaman alıcı yönlerinden biri, mikroskopi ile elde edilen görüntülerin analizidir. Bu görüntüler, organoidlerin morfolojisi, boyutu, sayısı ve işleyişi gibi kritik bilgileri içermekte olup, deney sonuçlarının yorumlanmasında DL teknolojisinin uygulanmasını gerektirecek kadar büyük bir veri hacmine sahiptir. Bu sebeple DL tabanlı araçlar geliştirilmektedir. Bu araçlar, organoidlerdeki değişiklikleri otomatik olarak sayısallaştırma yeteneği sayesinde büyük avantaj sağlamaktadırlar; çünkü organoidlerin manuel olarak taranması

hem zahmetli hem de insan hatalarına açık bir süreçtir (6). Bu araçlara örnek olarak; Park ve ark. tarafından çeşitli boyutlardaki organoidlerin doğru segmentasyonunu gerçekleştirmek için bir DL modeli olan OrgaExtractor geliştirilmiştir. Bu model kolon organoidlerini tanımda %85 doğruluk sergilemiştir (46) (Şekil 1). Bu tür AI tabanlı araçların kullanımı görüntü analizlerinde sonuçların doğruluğu ve elde edilme hızları açısından insanları geride bırakmıştır (47,46).

Evrişimli sinir ağı ("Convolutional Neural Network", (CNN)) görüntülerin analizi için özel bir sinir ağı türü olarak geliştirilmiştir (48). CNN'ler yüksek çözünürlüklü organoid görüntülerinden özellikleri ve örüntüleri tespit edebilen, otomatik olarak görüntü verilerinden hiyerarşik temsilleri

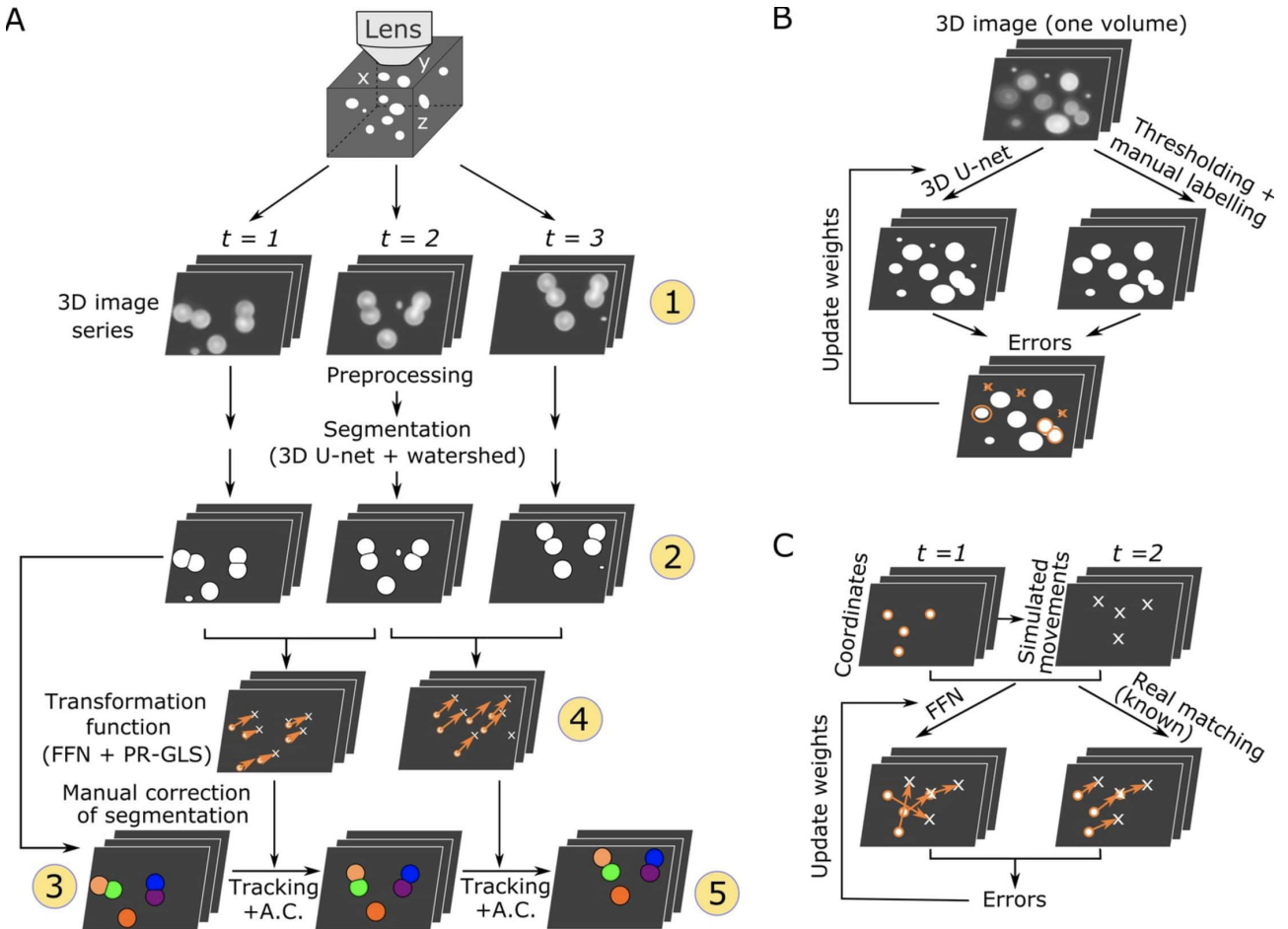


Şekil 1. OrgaExtractor geliştirme iş akışı ve organoid görüntülerinin analizi. (a) Normal kolon organoidlerinin oluşturulması ve organoid görüntüleme işleminin genel görünümü. (b) OrgaExtractor'ın eğitimi için kullanılan organoid görüntü çiftleri: orijinal görüntüler ve bunlara ait ikili maske görüntüleri. (c) U-Net OrgaExtractor modelinden elde edilen ham çıktı ve işlem sonrası oluşturulan kontur görüntüleri gösterilmektedir. (d) Görüntü analizi için kullanılan metrikler ve parametrelere dayalı olarak, OrgaExtractor aracılığıyla nihai kontur görüntüsünden her bir organoide ait bilgiler çıkarılmaktadır. (e) Görüntü parametreleri ile gerçek hücre sayıları arasındaki ilişkinin analizi ve organoid kültür koşullarını değerlendirmek amacıyla çıkarılan bilgilerin görselleştirilmesi (46).

öğrenebilmesi sayesinde karmaşık morfolojik özellikleri ve fenotipik değişimleri yakalayabilen araçlardır. Organoid analizinde CNN'ler; belirli hücre tiplerini, organoid şekillerini ve diğer morfolojik özellikleri tanımak ve sınıflandırmak için eğitilebilirler. Organoid görüntülerinde ilgili alanları belirlemek ve tanımlamak için de segmentasyonlar gerçekleştirilebilirler (49). Bu yöntem, biyoloji ve tıbbın çeşitli alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (48).

Organoidlerin görüntü analizlerinde kullanılan başka sinir ağları da bulunmaktadır. DL modellerinin dayanıklılığı ile genelleme yeteneğini arttırmak ve bu modellere veri arttırmayı kolaylaştırmak için çekişmeli üretici ağlar ("Generative Adversarial

Networks", (GAN)) organoidlerin gerçekçi sentetik görüntülerini üretirler. Organoidlerin dinamik gelişimini izlemek için de, organoid kültüründe gelişen olayların time-lapse mikroskop ile elde edilen anlık görüntüleri zamansal boyutu dikkate alınarak ele alınır, ardışık veri desenlerini çözmede uzmanlaşmış tekrarlayan sinir ağı ("Recurrent Neural Network", (RNN)) ve uzun kısa süreli bellek ("Long Short-Term Memory", (LSTM)) gibi DL modelleri kullanılır. Kapsamlı eğitimle güçlendirilen DL modelleri, gelişim ve morfolojik değişiklikleri gerçek zamanlı olarak tahmin edip değerlendirir; geri bildirim döngüsüyle sürekli iyileştirilen bu tahminlerin görsel temsili, organoid modellerinin araştırmacılar tarafından daha verimli ve hassas bir şekilde kullanılmasını mümkün kılar (49).

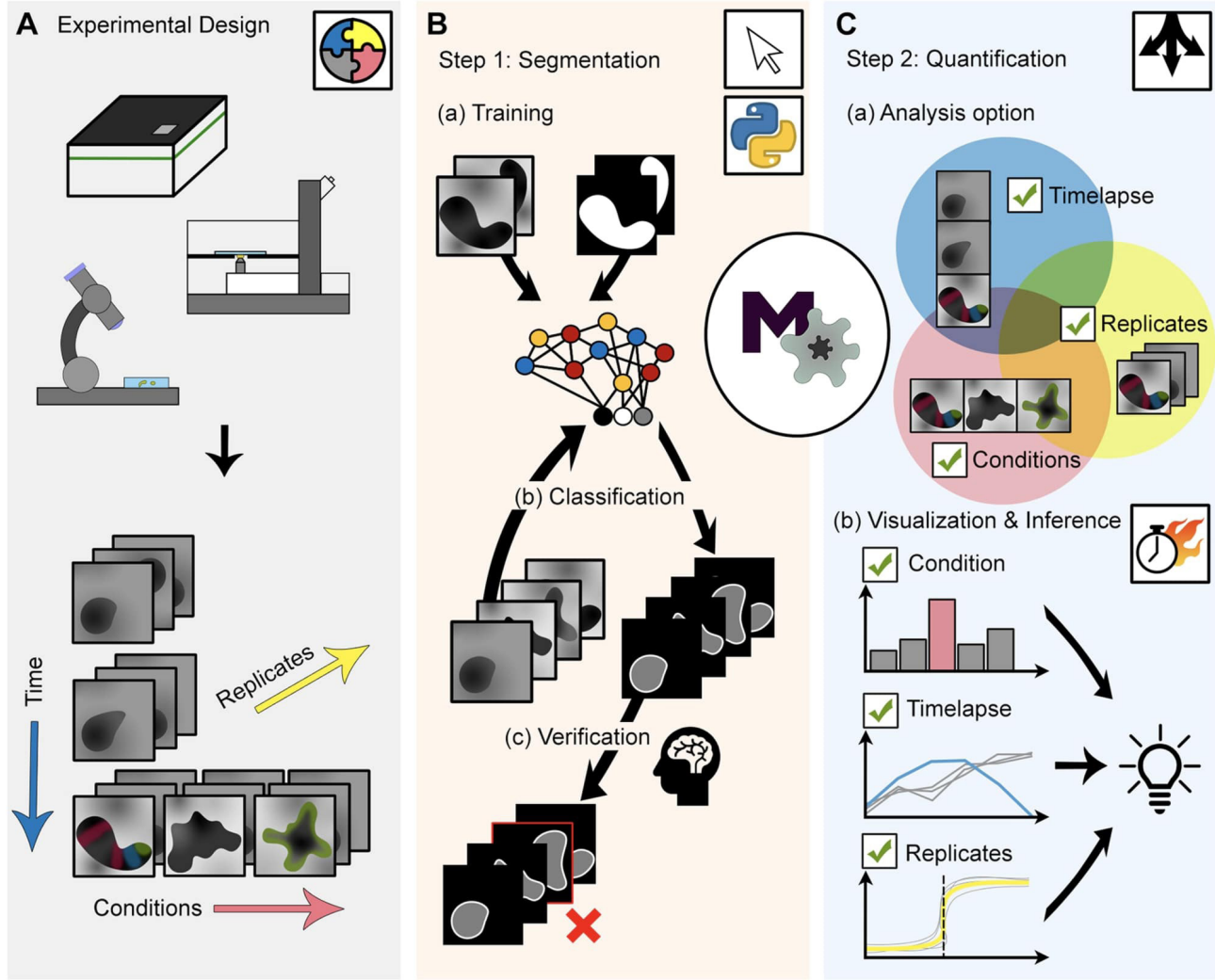


Şekil 2. 3DeeCellTracker hücre takip yönteminin genel prosedürleri ve derin ağların eğitim süreçleri. (A) Segmentasyon ve takip prosedürleri: 3D + T görüntüleri, farklı z seviyelerinde çekilen bir dizi 2D görüntü olarak elde edilir (adım 1) ve ön işleme ile ayrı hücre bölgelerine segmentlenir (adım 2). Segmentasyonun ilk hacmi ($t = 1$) manuel olarak düzeltilir (adım 3). Sonraki hacimlerde ($t \geq 2$), FFN + PR-GLS tarafından oluşturulan çıkarılmış dönüşüm fonksiyonları uygulanarak (adım 4), manuel olarak onaylanmış hücrelerin konumları ardışık takip ve ardından yapılan hassas düzeltmeler (A.C.) ile güncellenir (adım 5). Yuvarlak içinde belirtilen sayılar, beş farklı prosedür adımı temsil eder. (B) 3D U-net eğitim prosedürleri: 3D U-net tarafından tahmin edilen hücre benzeri bölgeler, elle etiketlenmiş hücre bölgeleriyle karşılaştırılır. Hatalar (turuncu), U-net ağırlıklarını güncellemek için kullanılır. (C) Feedforward ağ eğitim prosedürleri: Eğitim için kullanılan hücre hareketleri simülasyonlardan oluşturulur, bu nedenle doğru eşleşmeleri bilinir. Tahminlerdeki hatalar, "feedforward" ağ ağırlıklarını güncellemek için kullanılır (52).

Organoid Analizi İçin Açık Kaynak Araçlar

Araştırmacıların organoid analizlerinde kullanabilecekleri birçok AI araçları geliştirilmiştir ve bu araçlar çalışmalara büyük katkılar sağlamıştır (50). TWS (“Trainable Weka Segmentation”) büyük görüntü veri setlerini değerlendirip segmentleyerek manuel işlemleri azaltan, sınırlı sayıda etiketli eğitim verisiyle sınıflandırıcı eğiterek otomatik segmentasyon yapan ve isteğe bağlı olarak gözetimsiz öğrenme ile kullanıcı tanımlı özellikleri uygulayabilen önemli bir ML aracıdır (51). DL

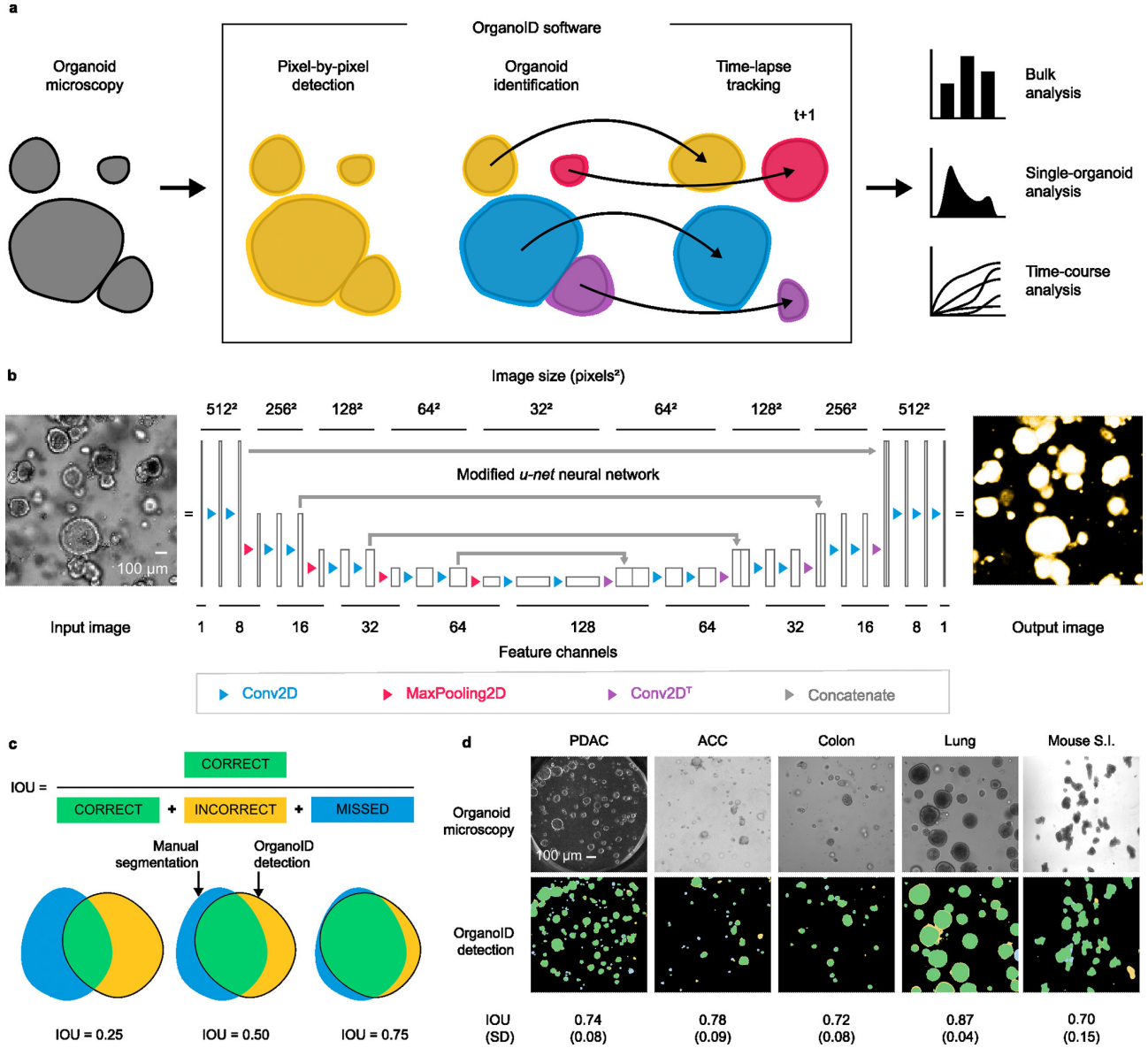
teknikleriyle hücre izleme sürecinde yenilikçi bir yaklaşım sunan 3DeeCellTracker yazılımı ise 3D zaman atlamalı görüntülerde hücreleri başarıyla segmente edebilmekte ve izleyebilmektedir. Bu yazılım, DL teknikleriyle hücre izleme sürecinde yenilikçi bir yaklaşım sunarak, yarı-immobilize edilmiş solucan beyinleri, doğal olarak atan zebra balığı kalpleri ve kültürlü 3D tümör sferoidleri gibi çeşitli biyolojik ortamlarda hücreleri başarıyla tanımlayıp takip etmiştir (52) (Şekil 2). Bir başka yazılım olan OrganoSeg, 3D kültürlerin parlak



Şekil 3. MORGAna iş akışı şeması. (A) MORGAna'nın çok yönlülüğü ve esnekliği, çeşitli cihazlarla elde edilen görüntüleri girdi olarak kabul edebilmesinden kaynaklanır. Bu cihazlar arasında yüksek içerikli tarama cihazları, konfokal mikroskoplar ve basit tezgah üstü stereo-mikroskoplar yer alır. Ayrıca, farklı deneysel senaryolar altında, örneğin birkaç gün boyunca, deneysel tekrarlarda veya farklı müdahale koşulları altında elde edilen görüntülerle çalışabilir. (B) Python tabanlı MORGAna'nın segmentasyon iş akışı şeması. Kullanıcılar önce, görüntü segmentasyon modeli eğitimi için birkaç temsilci görüntünün ikili maskelerini oluşturur. Eğitilmiş ağ ile, daha önce görülmemiş görüntülerin ek maskeleri kolayca oluşturulabilir ve ardından manuel olarak kontrol edilip düzenlenebilir. Tüm bu işlemler, grafik kullanıcı arayüzü üzerinden birkaç tıklama ile gerçekleştirilebilir. (C) İkili maskeler ve giriş görüntüleri ile kullanıcılar, görüntülerini farklı gruplara ayırabilir ve veri türlerine bağlı olarak görüntü analizi yöntemini seçebilir. MORGAna'nın modüler yapısı, kullanıcıların A'daki deneysel senaryoya bağlı olarak zaman atlaması, tekrarlamalar veya koşullar için seçenekleri birleştirerek bir analiz iş akışı oluşturmasına olanak tanır. MORGAna, morfolojik ve floresan parametrelere dayalı nicel grafikler üretirken, kullanıcıların araştırma sorularına görsel yanıtlar sunar ve biyolojik keşiflere olanak tanır (55).

alan görüntülerini segmente ederek sferoid ve organoid kültürlerin morfolojik özelliklerini doğru ve esnek bir şekilde profilleyerek büyük veri kümelerindeki organoidlerin sınıflandırılmasına ve biyolojik süreçlerin anlaşılmasına katkıda bulunmaktadır (53).

Bir derin evrişimli sinir ağı (CNN) uygulaması olan OrgaQuant, parlak alan görüntülerinde insan bağırsak organoidlerinin konumunu ve boyut dağılımını belirleyebilmektedir. Bu yazılım, organoid kültürlerinin morfoloji ve büyüme özelliklerini değerlendirmeyi kolaylaştırmak için



Şekil 4. OrganoID platformunun ve sinir ağının mimarisi ve değerlendirilmesi. (a) OrganoID yazılımı, organoid mikroskopi görüntülerinin güçlü bir şekilde analiz edilmesini otomatikleştirir. Konturlar piksel bazında algılanır ve daha sonra toplu veya tek organoid analizi için ayrı organoidlere ayrılır. Belirlenen organoidler, zaman atlamalı görüntü dizileri boyunca takip edilerek zaman içindeki tepkileri izlemek için kullanılabilir. (b) Mikroskopi görüntüleri, her pikselde bir organoidin mevcut olma olasılığını temsil eden görüntüler üretmek için bir konvolüsyonel sinir ağı (CNN) tarafından işlenir. Ağ, görüntü özelliklerini çıkarmak ve yerleştirmek için bir dizi iki boyutlu konvolüsyon, maksimum filtreleme ve görüntü birleştirme işlemlerini uygulayan u-net mimarisini takip eder. Aşırı öğrenmeyi ve aracın kullanımı için gerekli hesaplama gücünü sınırlamak amacıyla özellik kanal derinlikleri minimize edilmiştir. Ölçek çubuğu 100 µm. (c) Neural network tespitlerinin kalitesini ölçmek için, gerçek pozitif piksel sayısının tüm pozitif piksellerin birleşimine oranı olarak tanımlanan “intersection-over-union (IOU)” metriği kullanılmıştır. IOU’yu hesaplamak için, ağ tahmin görüntüsünde 0.5’in üzerindeki pikseller pozitif olarak işaretlenmiştir. Çeşitli örtüşme dereceleri için IOU değerleri örneklenmiştir. (d) Test veri setindeki farklı organoid türlerinden bir dizi temsilci görüntü, ilgili OrganoID tespitleriyle birlikte gösterilmiştir. Tespitler, ölçümlerin zemin doğrusu üzerine bindirilmiş ve (c) şemasına göre renklendirilmiştir. Test veri setindeki her organoid türünün görüntüleri için IOU’nun ortalama ve standart sapması da gösterilmektedir. Ölçek çubuğu 100 µm (56).

geliştirilmiş olup, binlerce görüntüyü kullanıcı müdahalesi gerektirmeden otomatik olarak analiz edebilmektedir (54). ML uygulayan ve geniş bir kullanım alanına sahip olan MORGAna yazılımı ise, organoid görüntülerinin hızlı segmentasyonu, morfolojik ve floresan özelliklerinin detaylı analizi için tasarlanmıştır (55) (Şekil 3).

Güçlü bir görüntü analiz platformu olan OrganoidD, parlak alan ve faz kontrastı mikroskop deneylerinde, piksel bazında tek organoidleri otomatik olarak tanıyabilmekte, etiketleyebilmekte ve takip edebilmektedir. Öncelikle pankreas kanser organoidlerinin görüntülerinde eğitilmiş olan OrganoidD, pankreas, akciğer, kolon ve adenoid kistik karsinom

organoidlerinin ayrı görüntülerinde başarıyla doğrulanmıştır (56) (Şekil 4). Organoid morfolojisinin sınıflandırılması için geliştirilen ve doğrulanmış bir DL tabanlı görüntü analiz aracı olan D-CryptO ise, kolorektal organoidlerin parlak alan görüntülerinden kript oluşumunu ve opaklığını otomatik olarak değerlendirerek organoid yapısal olgunluğun derecesini belirlemektedir (57).

Organoid zekası (“organoid intelligence” (OI))

Organoid Zekası (“organoid intelligence” (OI)) kavramı, beyin organoidlerini bilimsel ve biyomühendislik yenilikleriyle donatarak laboratuvar ortamlarında öğrenme, bellek ve biliş süreçlerini taklit etmeyi hedefleyen bir yaklaşımı ifade etmektedir (58). Kök hücre teknolojisi, biyomühendislik ve ML alanlarındaki ilerlemeler, beyin organoidlerinin bilgi işleme yeteneklerini anlamamıza ve insan beynindeki öğrenme süreçlerinin erken aşamalarını keşfetmemize olanak tanımaktadır. Bu bağlamda, Organoid Zekası (OI), beyin organoidlerinin doğal biyolojik yeteneklerini bilgisayar teknolojisiyle entegre ederek biyobilgisayar ve sentetik zeka için yeni olanaklar sunmayı hedeflemektedir (59). Bu hedeflerle, OI'nin stratejik gelişimini vurgulayarak, daha hızlı karar verme, sürekli öğrenme ve enerji-veri verimliliği gibi avantajlar sağlanabileceği, ayrıca çanakta zeka (“intelligence-in-a-dish”) kavramının demans gibi hastalıkların anlaşılmasına katkıda bulunabileceği ve yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesine imkan tanıyabileceği öngörülmektedir (58).

Geleceğe Dair Öngörü

Organoidler, hücrelerin ve hatta tümör mikro ortamının mimari ve işlevsel özelliklerini simüle ederek iki boyutlu hücre kültürünün ötesindeki geleceği temsil etmektedir. Hücre farklılaşmasını yönlendirmek için gereken büyüme faktörlerinin ortaya çıkarılmasıyla ilaç geliştirme ve değerlendirme sürecinde vazgeçilmez bir araştırma alanı olacaktır. İnsan vücudundaki çoğu organ, in vitro olarak organoidlere dönüştürülebilmektedir; karaciğer, akciğer, kalp, kan damarları üretilebilmektedir. Bu nedenle organoidler, insan hastalıkları araştırmaları ve ilaç geliştirme için önemli bir klinik öncesi model olma potansiyeline sahiptir. Özellikle kanser gibi hastalıklar için biyobanka oluşturabilmenin temel yapı taşıdır (60). Oluşturulan bu biyobankalar sayesinde araştırma aşamasında olan ilaçların kanser türü üzerinde etkileri ve verdiği yanıtlara göre gelişim gerçekleştirilmektedir.

REFERANSLAR

1. Hu Y, Hu X, Luo J, ve ark. Liver organoid culture methods. *Cell & Bioscience*. 2023;13(1):197. <https://doi.org/10.1186/s13578-023-01136-x>
2. Ma X, Wang Q, Li G, Li H, Xu S, Pang D. Cancer organoids: A platform in basic and translational research. *Genes & Diseases*. 2024;11(2):614-632. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.gendis.2023.02.052>
3. Xu H, Jiao D, Liu A, Wu K. Tumor organoids: applications in cancer modeling and potentials in precision medicine. *Journal of Hematology & Oncology*. 2022;15(1):58. <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01278-4>
4. Suarez-Martinez E, Suazo-Sanchez I, Celis-Romero M, Carnero A. 3D and organoid culture in research: physiology, hereditary genetic diseases and cancer. *Cell & Bioscience*. 2022;12(1):39. <https://doi.org/10.1186/s13578-022-00775-w>
5. Yang C, Xiao W, Wang R, ve ark. Tumor organoid model of colorectal cancer (Review). *Oncol Lett*. 2023;26(2):328. <https://doi.org/10.3892/ol.2023.13914>
6. Shi H, Kowalczewski A, Vu D, ve ark. Organoid intelligence: Integration of organoid technology and artificial intelligence in the new era of in vitro models. *Medicine in Novel Technology and Devices*. 2024;21:100276. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.medntd.2023.100276>
7. Yang S, Hu H, Kung H, ve ark. Organoids: The current status and biomedical applications. *MedComm*. 2023;4(3):e274. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/mco2.274>
8. Zhang Y, Liu M, Xie N, ve ark. Cancer research revolutionized: Unveiling the power of organoids and their therapeutic potential in oncology. *hLife*. 2024. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.hlife.2024.05.002>
9. Liu L, Yu L, Li Z, Li W, Huang W. Patient-derived organoid (PDO) platforms to facilitate clinical decision making. *Journal of Translational Medicine*. 2021;19(1):40. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02677-2>
10. Sato T, Vries RG, Snippert HJ, ve ark. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. *Nature*. 2009;459(7244):262-265. <https://doi.org/10.1038/nature07935>
11. Zhao Z, Chen X, Dowbaj AM, ve ark. Organoids. *Nature Reviews Methods Primers*. 2022;2(1):94. <https://doi.org/10.1038/s43586-022-00174-y>
12. Soto-Gamez A, Gunawan JP, Barazzuol L, Pringle S, Coppes RP. Organoid-based personalized medicine: from tumor outcome prediction to autologous transplantation. *Stem Cells*. 2024;42(6):499-508. <https://doi.org/10.1093/stmcls/sxae023>
13. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126(4):663-676. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
14. Fang Z, Li P, Du F, Shang L, Li L. The role of organoids in cancer research. *Experimental Hematology & Oncology*. 2023;12(1):69. <https://doi.org/10.1186/s40164-023-00433-y>
15. Kalla J, Pfneissl J, Mair T, Tran L, Egger G. A systematic review on the culture methods and applications of 3D tumoroids for cancer research and personalized medicine. *Cellular Oncology*. 2024. <https://doi.org/10.1007/s13402-024-00960-8>
16. Yang Y, Kong Y, Cui J, Hou Y, Gu Z, Ma C. Advances and Applications of Cancer Organoids in Drug Screening and Personalized Medicine. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2024;20(5):1213-1226. <https://doi.org/10.1007/s12015-024-10714-6>
17. Clevers H. Modeling Development and Disease with Organoids. *Cell*. 2016;165(7):1586-1597. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.082>
18. Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research. *Nature Reviews Cancer*. 2018;18(7):407-418. <https://doi.org/10.1038/s41568-018-0007-6>
19. Lin Y, Jiang L, He Q, Yuan M, Cao J. Progress and perspective of organoid technology in cancer-related translational medicine. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;149:112869. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112869>
20. Yang Q, Li M, Yang X, ve ark. Flourishing tumor organoids: History, emerging technology, and application. *Bioengineering & Translational Medicine*. 2023;8(5):e10559. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/btm2.10559>
21. Ahammed B, Kalangi SK. A Decade of Organoid Research: Progress and Challenges in the Field of Organoid Technology. *ACS Omega*. 2024. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c03683>
22. Grandori C, Kemp CJ. Personalized Cancer Models for Target Discovery and Precision

- Medicine. *Trends in Cancer*. 2018;4(9):634-642. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2018.07.005>
23. Shiihara M, Furukawa T. Application of Patient-Derived Cancer Organoids to Personalized Medicine. *Journal of Personalized Medicine*. 2022;12(5):789. <https://www.mdpi.com/2075-4426/12/5/789>
24. Saito Y, Muramatsu T, Kanai Y, ve ark. Establishment of Patient-Derived Organoids and Drug Screening for Biliary Tract Carcinoma. *Cell Reports*. 2019;27(4):1265-1276.e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.03.088>
25. Chen P, Zhang X, Ding R, ve ark. Patient-Derived Organoids Can Guide Personalized-Therapies for Patients with Advanced Breast Cancer. *Advanced Science*. 2021;8(22):2101176. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/advs.202101176>
26. Drost J, Karthaus WR, Gao D, ve ark. Organoid culture systems for prostate epithelial and cancer tissue. *Nature Protocols*. 2016;11(2):347-358. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.006>
27. Zheng W, Ye M, Wang M, Meng Y. Establishment of ovarian malignant tumor organoid biobank. *ACADEMIC JOURNAL OF CHINESE PLA MEDICAL SCHOOL*. 2024;45:1-8. <https://doi.org/10.12435/j.issn.2095-5227.2024.058>
28. Rao X, Qiao Z, Yang Y, ve ark. Unveiling Epigenetic Vulnerabilities in Triple-Negative Breast Cancer through 3D Organoid Drug Screening. *Pharmaceuticals*. 2024;17(2):225. <https://www.mdpi.com/1424-8247/17/2/225>
29. Ryu K-B, Seo J-a, Lee K, ve ark. Drug-Resistance Biomarkers in Patient-Derived Colorectal Cancer Organoid and Fibroblast Co-Culture System. *Current Issues in Molecular Biology*. 2024;46(6):5794-5811. <https://www.mdpi.com/1467-3045/46/6/346>
30. Nuciforo S, Fofana I, Matter MS, ve ark. Organoid Models of Human Liver Cancers Derived from Tumor Needle Biopsies. *Cell Reports*. 2018;24(5):1363-1376. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.07.001>
31. Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, ve ark. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science*. 2018;359(6378):920-926. <https://doi.org/doi:10.1126/science.aao2774>
32. Huang L, Xu Y, Wang N, ve ark. Next-Generation Preclinical Functional Testing Models in Cancer Precision Medicine: CTC-Derived Organoids. *Small Methods*. 2024;8(1):2301009. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/smtd.202301009>
33. Schöndorf DC, Ivanyuk D, Baden P, ve ark. The NAD⁺ Precursor Nicotinamide Riboside Rescues Mitochondrial Defects and Neuronal Loss in iPSC and Fly Models of Parkinson's Disease. *Cell Reports*. 2018;23(10):2976-2988. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.009>
34. Francis N, Yavuz S, Elnazir B. Beyond the Local Basic Panel: Full CFTR Gene Analysis Identifies Novel CF Mutation Missed on Standard Testing in an Arabic Child. *Cureus*. 2023;15(1):e33337. <https://doi.org/10.7759/cureus.33337>
35. de Poel E, Spelier S, Hagemeyer MC, ve ark. FDA-approved drug screening in patient-derived organoids demonstrates potential of drug repurposing for rare cystic fibrosis genotypes. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2023;22(3):548-559. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2023.03.004>
36. Smabers LP, Wensink E, Verissimo CS, ve ark. Organoids as a biomarker for personalized treatment in metastatic colorectal cancer: drug screen optimization and correlation with patient response. *J Exp Clin Cancer Res*. 2024;43(1):61. <https://doi.org/10.1186/s13046-024-02980-6>
37. Das S, Dey MK, Devireddy R, Gartia MR. Biomarkers in Cancer Detection, Diagnosis, and Prognosis. *Sensors*. 2024;24(1):37. <https://www.mdpi.com/1424-8220/24/1/37>
38. Sanjana NE, Shalem O, Zhang F. Improved vectors and genome-wide libraries for CRISPR screening. *Nat Methods*. 2014;11(8):783-784. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3047>
39. Kurata M, Yamamoto K, Moriarity BS, Kitagawa M, Largaespada DA. CRISPR/Cas9 library screening for drug target discovery. *Journal of Human Genetics*. 2018;63(2):179-186. <https://doi.org/10.1038/s10038-017-0376-9>
40. Pfeifer M, Brammeld JS, Price S, ve ark. Genome-wide CRISPR screens identify the YAP/TEAD axis as a driver of persister cells in EGFR mutant lung cancer. *Communications Biology*. 2024;7(1):497. <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06190-w>
41. Hendriks D, Pagliaro A, Andreatta F, ve ark. Human fetal brain self-organizes into long-term expanding organoids. *Cell*. 2024;187(3):712-732.e38. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.12.012>
42. Gallego Villarejo L, Gerding WM, Bachmann L, ve ark. Optical Genome Mapping Reveals Genomic Alterations upon Gene Editing in hiPSCs:

- Implications for Neural Tissue Differentiation and Brain Organoid Research. *Cells*. 2024;13(6):507. <https://www.mdpi.com/2073-4409/13/6/507>
43. Du X, Chen Z, Li Q, ve ark. Organoids revealed: morphological analysis of the profound next generation in-vitro model with artificial intelligence. *Bio-Design and Manufacturing*. 2023;6(3):319-339. <https://doi.org/10.1007/s42242-022-00226-y>
 44. Kusumoto D, Seki T, Sawada H, ve ark. Anti-senescent drug screening by deep learning-based morphology senescence scoring. *Nat Commun*. 2021;12(1):257. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20213-0>
 45. Kusumoto D, Yuasa S, Fukuda K. Induced Pluripotent Stem Cell-Based Drug Screening by Use of Artificial Intelligence. *Pharmaceuticals*. 2022;15(5):562. <https://www.mdpi.com/1424-8247/15/5/562>
 46. Park T, Kim TK, Han YD, Kim K-A, Kim H, Kim HS. Development of a deep learning based image processing tool for enhanced organoid analysis. *Scientific Reports*. 2023;13(1):19841. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46485-2>
 47. Ker J, Wang L, Rao J, Lim T. Deep Learning Applications in Medical Image Analysis. *IEEE Access*. 2018;6:9375-9389. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2017.2788044>
 48. Kegeles E, Naumov A, Karpulevich EA, Volchkov P, Baranov P. Convolutional Neural Networks Can Predict Retinal Differentiation in Retinal Organoids. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2020;14. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00171>
 49. Ko J, Hyung S, Cheong S, Chung Y, Li Jeon N. Revealing the clinical potential of high-resolution organoids. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2024;207:115202. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2024.115202>
 50. Roberto de Barros N, Wang C, Maity S, ve ark. Engineered organoids for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2023;203:115142. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.115142>
 51. Arganda-Carreras I, Kaynig V, Rueden C, ve ark. Trainable Weka Segmentation: a machine learning tool for microscopy pixel classification. *Bioinformatics*. 2017;33(15):2424-2426. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx180>
 52. Wen C, Miura T, Voleti V, ve ark. 3DeeCellTracker, a deep learning-based pipeline for segmenting and tracking cells in 3D time lapse images. *eLife*. 2021;10:e59187. <https://doi.org/10.7554/eLife.59187>
 53. Borten MA, Bajikar SS, Sasaki N, Clevers H, Janes KA. Automated brightfield morphometry of 3D organoid populations by OrganoSeg. *Scientific Reports*. 2018;8(1):5319. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18815-8>
 54. Kassis T, Hernandez-Gordillo V, Langer R, Griffith LG. OrgaQuant: Human Intestinal Organoid Localization and Quantification Using Deep Convolutional Neural Networks. *Scientific Reports*. 2019;9(1):12479. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48874-y>
 55. Gritti N, Lim JL, Anlaş K, ve ark. MOrgAna: accessible quantitative analysis of organoids with machine learning. *Development*. 2021;148(18):dev199611. <https://doi.org/10.1242/dev.199611>
 56. Matthews JM, Schuster B, Kashaf SS, ve ark. Organoid: A versatile deep learning platform for tracking and analysis of single-organoid dynamics. *PLOS Computational Biology*. 2022;18(11):e1010584. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1010584>
 57. Abdul L, Xu J, Sotra A, ve ark. D-CryptO: deep learning-based analysis of colon organoid morphology from brightfield images. *Lab on a Chip*. 2022;22(21):4118-4128. <https://doi.org/10.1039/D2LC00596D>
 58. Smirnova L, Caffo BS, Gracias DH, ve ark. Organoid intelligence (OI): the new frontier in biocomputing and intelligence-in-a-dish. *Frontiers in Science*. 2023;1. <https://doi.org/10.3389/fsci.2023.1017235>
 59. Morales Pantoja IE, Smirnova L, Muotri AR, ve ark. First Organoid Intelligence (OI) workshop to form an OI community. *Frontiers in Artificial Intelligence*. 2023;6. <https://doi.org/10.3389/frai.2023.1116870>
 60. Rassomakhina NV, Ryazanova AY, Likhov AR, Bruskin SA, Maloshenok LG, Zherdeva VV. Tumor Organoids: The Era of Personalized Medicine. *Biochemistry (Mosc)*. 2024;89(Suppl 1):S127-s147. <https://doi.org/10.1134/s0006297924140086>