

YAPAY KAN HÜCRELERİ

*Doç. Dr. Adil Denizli
Hacettepe Üni. Kimya Böl.
Biyokimya ABD Başkanı*

*Ahmet Gürzumar
Hacettepe Üni.
Biyomühendislik ABD*

1980'li yılların ortalarında HIV'in immün sistemin yıkımına (AIDS) yol açan virüs kan nakilleri ile yayılması halkta paniğe yol açmış ve kan naklinden korkulmaya başlanmıştır. Kan bankalarında alınan tüm örneklerle ve HIV'e kan nakli ile yalanan oranının yarım ila bir milyonda bir olmasına rağmen kanların çoğunun hastalıklı olduğu görüşü korunmaktadır.

Kan bankalarını hastalıklı kan sorununun yanısıra yetersiz kan bağışları sorunu da tehdit etmektedir. Amerika'da her üç saniyede bir kan nakline ihtiyaç duyulmasına karşın kan veren kişilerin oranı sadece yüzde 5 olup her sene bu oran, kana ihtiyacı olanların aksine, daha da düşmektedir. Genel bir tahminle tüm insanlığın kan ihtiyacı her sene 7.5 milyon litre artmaktadır.

Bu ve diğer bazı sebeplerden dolayı üzerinde çalışılan başlıca konu kanın yerine geçebilecek çözümlerdir. 1950'lerden beri yürütülen çalışmalar 1980'den sonra hızlanmış,

çeşitli kuruluşlar ve bilimadamları ümit verici gelişmeler içeren, fakat birçok sorunu olan, mükemmellikten uzak çözümler bulmuşlardır.

Karmaşık bir yapıya sahip olan kanda kan hücreleri, tuz; ayrıca plazma içinde asılı bulunan protein ve vitamin gibi maddeler bulunur. Kan hücreleri beyaz, kırmızı ve platelet olmak üzere üç çeşit olup kanın hacminin yüzde 45'ini kaplarlar. Normal bir insanın 1 cm³ kanında 4.5-5.5 milyon kırmızı hücre, 7 bin-12 bin beyaz hücre ve 150 bin - 400 bin adet platelet bulunur. Bu karmaşık yapı kanın besin, atık ve hormonları taşımamasını sağlar. Kanın en bilinen işlevi ise oksijen ve karbondioksiti taşımaktır. Bu işlevin ve dolayısıyla solunumun yapıtaşı ise hemoglobinin molekülüdür.

Hemoglobinin çoğu omurgalı canlıda bulunur. Evrim sürecinde korunduğu gibi değişik türlerde de 4 polipeptit zincirine sahip olarak benzer yapıdadır. İnsan hemoglobini herbiri 140 amino asitten oluşan ikişer ve özdeş alfa-beta zincirlerden oluşur. Alfa'nın betaya bağlanması dimeri, iki dimerin birine bağlanması ise tetrameri



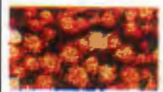
oluşturur.

Polipeptit zincirlerinin her birinde bir demir atomu bulunan hemoglobinin oksijenin bağlanması sitesidir ve bir hemoglobin atomu dört oksijen molekülünü akciğerlerde bağlayıp tüm vücuda dağıtabilir. Hemoglobinin oksijen molekülünü bağladıkça yapısında oluşan değişimler dört oksijen molekülü bağlanana kadar oksijen bağlanmasını hızlandırır. Hemoglobinin oksijeni vücudun çeşitli bölgelerinde serbest bıraktıkça kırmızı kan hücreleri hücre solunumun attığı karbon dioksiti ortamdaki alırlar ve serbest bırakılıp vücuttan atılacağı akciğere götürürler.

Hemoglobinin diğer gazları da taşıyabildiği yapılan çalışmalarda görülmüştür. Hemoglobinin taşıdığı gazlardan biri olan nitrik oksit kan basıncının korunmasında önemli bir yere sahiptir.

Yüksek miktarda kan kaybının birçok hayati süreci tehdit edeceği açıkça görülmektedir. Kanın yüzde 30-40 arası kaybı vücut tarafından yeni kırmızı kan hücreleri oluşturarak, kanı hayati olmayan kısımlardan uzaklaştırıp sulandırarak telafi edilebilir, fakat kişinin yaşına ve sağlığına da bağlı olarak yüzde

KANIN BİLEŞİMİ

BİLEŞEN	İŞLEVİ
SU	Diğer maddeleri taşıyan çözücü
TUZLAR SODYUM, POTASYUM KALSİYUM, MAGNEZYUM, Bİ KARBONAT, KLORÜR	OZMOTİK Denge pH TAMPONLAMA, MEBRON GEÇİRGENLİĞİNİN AYARLANMASI
PLAZMA PROTEİNLERİ ALBÜMİN FİBRİNOJEN İMMUNEGLOBÜLİNLER	OZMOTİK Denge pH TAMPONLAMA, PIHTILAŞMA (ANTİBADİLERİ)
HÜCRE TÜRÜ	HÜCRE İŞLEVİ
ERİTSİTLER (KIRMIZI KAN HÜCRELERİ) 5 10 ⁶ mm ⁻³	OKSİJEN TAŞINIMI KARBONDİOKSİT TAŞINIMINA YARDIM
	
LÖKOSİTLER 	ENFEKSİYONA KARŞI ANTİKOR ÜRETİMİ
PLATETLER 250000-400000 mm ⁻³	PIHTILAŞMA
	
KAN TARAFINDAN TAŞINAN MADDELER	
KAN İLE TAŞINAN MADDELER BESİN MADDELERİ (GLİKOZ, YAĞ ASİTLERİ), METABOLİK ATIKLAR, SOLUNUM GAZLARI, HORMONLAR	

Karmaşık bir akışkan olan kan birçok işi birarada gerçekleştirir.

40'dan fazla kan kabı genellikle kan naklini gerektirir.

Kan naklinin tarihçesi incelendiğinde kayıtlara geçen ilk insandan insana başanlı kan nakli 1667 yılında Jean-Baptiste Denis tarafından yapılmıştır. Bu tarihten önce kan yerine bira, süt, koyun kanı, idrar gibi sıvıların nakli denenmiştir. 1667 yılındaki naklin başansı uzun sürmemiş, nakilden sonra ölen hastalardan birinin eşinin dava açması sonucu kan nakli Fransa, Roma ve İngiltere'de yasaklanmıştır. Bu yasayı hastanın asil ölümünün nedeni eşinin zehirlenmesi olduğunun açığa çıkması da kaldıramamıştır.

1900'lü yıllara kadar üzerinde pek çalışılmayan konu patolojist Karl Landsteiner'in ABO kan grubu sistemini bulması sayesinde kan nakillerinin başansı arttırmaya başlandı. Landsteiner A ve B adını verdiği iki

şekerin kırmızı kan hücrelerin yüzeyinde her bireyde bir şekilde olmak üzere birlikte ya da ayrı ayrı bulunabildiğini, bazende hiç bulunmadığını göstermiş; bu da A, B, AB ve O kan gruplarını oluşturmuştur. AB grubu iki antijene de sahip olduğundan diğer gruplardan kan alabilirken O grubunda antijen bulunmadığından sadece O grubundan kan alabilir. A ve B grupları ise kendi gruplarından ve O grubundan kan alabilirler. Nakil esnasında grupların karıştırılması immün sistemin yabancı madde olarak algıladığı şekere antikor oluşturmasına, kısmi pıhtılaşmalara, hemolize (kırmızı kan hücrelerinden hemoglobin kaybı) ve dolayısıyla ölüme neden olur.

Kanın bir diğer gruplama kriteri de Rh faktörüdür. 1940 yılında Rhesus maymunları ile yapılan çalışmalarda tanımlanan Rh antijeni kanda bulunduğu zaman kan Rh+,

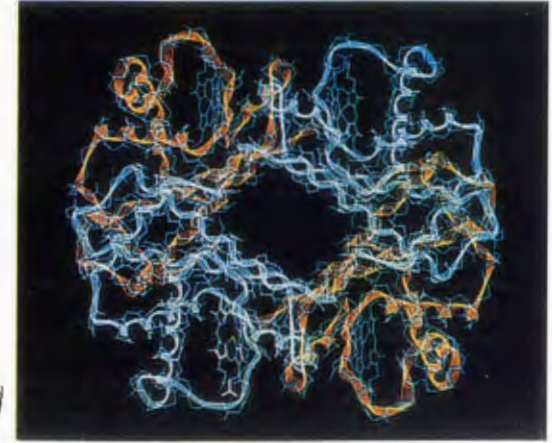
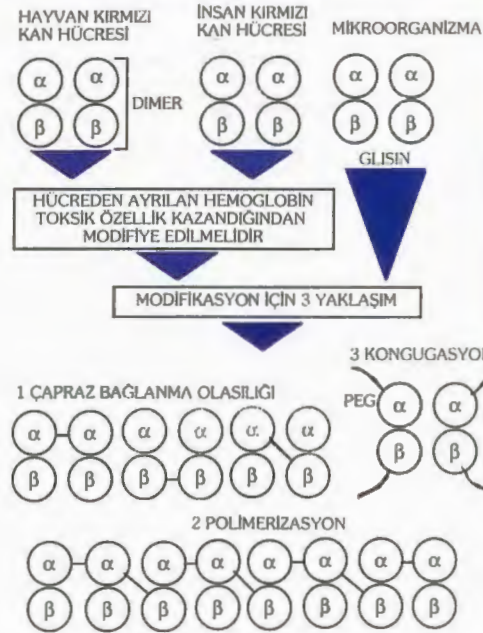
bulunmadığı zaman Rh- olarak gruplandırılır. Rh- kana Rh+ kan verilemez, fakat diğer nakil olasılıklarında sorun çıkmaz.

Amerikan Kan Bankaları Birliği'nin raporuna göre senede 23 milyon ünite (bir ünite = 500 ml.) kan nakli gerçekleştirilmektedir.

Nakil sebebi ile ölüme ihtimali yüzünde bir olarak belirlenmiş olup grup uyumsuzluğu, virüs ve bakteri gibi riskleri içermektedir.

Kanın yerine kullanılması düşünülen bileşiklerin taşınması gereken başlıca özellikler toksik olmama, hastalık taşımama, kolay taşınabilme, immün tepkiye neden olmama ve tüm kan grupları ile uyumlu olma şeklinde özetlenebilir. Bu bileşikler kan içinde vücut eksik kanı tamamlayana kadar kalabilmeli ve sonra herhangi bir yan etkiye neden olmadan vücuttan atılabilmelidir. Kanın 4°C'de en fazla 42 gün

HEMOGLOBİN KAYNAKLARI



Hemoglobin bazı maddeler bu üç yapıdan biri şeklinde olur. İnsan, hayvan ya da genetik olarak modifiye edilmiş organizmalardan elde edilmiş hemoglobin kırmızı kan hücrelerine sabitlenmediği sürece toksik olabilmektedir. Bu sebeple araştırmacılar hemoglobini 1) Çapraz bağlama, 2) Polimerleştirme, 3) Pey (polietilen glikol) ekleme işlemlerine tabi tutarlar. Bu konfigürasyonlardan herhangi biri kullanılabilir.

saklanabilmesi maliyetini arttırmaktadır. Kanın yerine kullanılması düşünülen bileşiklerin uzun raf ömrüne sahip olması ve kanın birçok işlevini yerine getirebilmesi ulaşılmaya çalışılan ideal özelliklerdir.

Piyasada bulunan ya da bulunacak olan bileşikler yaklaşık olarak bulunması istenen tüm bu özellikleri taşımaya başlamışlardır, fakat kanın işlevleri göz önüne alındığında sadece oksijen taşınımına odaklandıkları görülmektedir. Bu konuda başlıca iki yaklaşım vardır: Kimyasallar ve hemoglobin.

Kimyasal bazlı çözeltilerin en önemli bileşeni perflorokarbon (PFC) olarak bilinen. Teflon'a benzer, oksijen taşıyıcı bileşiklerdir. Hemoglobin bazlı yöntemi savunan kişiler kanın gaz taşıma yeteneğini sadece hemoglobinin gösterebileceğini belirtmektedirler. fakat yürütülen çalışmalar sonucunda klinik uygulamaya aşamasına gelmiş bir ürün şu anda yoktur (Hemoglobinin hayvanlarda üretilmesi ve lipozomlara yerleştirilmesi neo kırmızı hücreler gibidir).

PFC'ler oksijen ve karbondioksit gibi gazları büyük miktarlarda çöze-

bilirler. 1960'larda yapılan deneyde bir farenin PFC sıvısında nefes alıp verebilmesi dikkatlerin PFC üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur. Tesirsiz olmaları ve plazmada çözünmemeleri sebebi ile günümüzde geliştirilen PFC'ler emülsiyer ile etkilendirilerek tanecik oluşturmaları sağlanır ve kana verilirler.

PFC'ler oksijeni aktif olarak tutan ve bırakan hemoglobinin aksine gazları pasif olarak dağıtırlar. Oksijen plazmada yüzen PFC'ye, kırmızı kan hücreleri ile etkileşmeden, yөнlenir. PFC'nin alabileceği oksijen miktarı solunan oksijen miktarı ile doğru orantılıdır. Bu özellik sayesinde hastaya oksijeni zengin hava verilerken kanın daha çok oksijen alması sağlanabilir. Ayrıca PFC'lerde difüzyon ve taşıma miktarı kısıtlanmaz. Araştırmacıların önemli bir bölümü de hemoglobinin yapısının değiştirilmesi üzerinde çalışmaktadır. 1868 yılında köpeklerde hemoglobin enjekte edilmiş, ancak köpeklerde oksijen taşıma kapasitesi düşmesi, böbrek hasarı gibi ciddi problemler ve hastalıklar görülmüştür. Çıplak hemoglobinin dimerlerine ayrışması problemlerin nedenidir.

İlk olarak 1960'lü yıllarda farelerin kan yerine kullanılan PFC'lerin

Benzer problemler insanlarda da görülebileceğinden hemoglobinin sadece kırmızı kan hücrelerinde bulunan 2,3-difosfoglisarat (2,3-DPG) bileşimini içermelidir. 2,3-DPG'siz hemoglobinin akciğerde oksijeni bağlayabilse de vücut içinde oksijeni bırakmaktadır. 2,3-DPG ve kırmızı kan hücresinin diğer bileşenlerinden yoksun hemoglobinin kendi kendine okside olma (demir atomlarının hal değişimi sonucu tersinmez olarak oksijen bağlama yeteneğini kaybetmesi) tehlikesi de vardır.

1969 yılında hemoglobinin kimyasal olarak işlenmesi ile kendi kendine okside olmasının önüne geçilebileceği bulunmuştur. Bu sayede hemoglobinin kullanım şansı doğmuştur. Alfa-alfa, beta-beta ya da alfa-beta zincirlerinin çapraz bağlanması, hemoglobin moleküllerinin polimerleştirilmesi ya da polietilen glikol polimeri ile konjugasyonu etkili olduğu belirlenen yöntemlerdir. Bu işlemlerin molekülleri büyütmesi böbrekleri koruyan moleküllerin vücutta bulunma süresi de uzamaktadır.

Amerika'da insanlarda şimdiye kadar 5 farklı ürün test edilmiştir. Bunların bir bölümü bayatlamış kanlardan yapılmıştır. Polimerleştirilmiş insan hemoglobini olan poli-Heme hemoglobinin oksijen kapa-

sitesinin artırılması için yeniden düzenlenmesi ve büyüklüğünün polimerleşme ile artırılması işlemlerini kapsayan pridoksilasyon prosesi ile üretilmektedir. Poli-Heme ameliyatları sırasında kan yerine kullanılabilir. Diğer ürünlerde ise insan hemoglobininin alt ünitelerinin çapraz bağlanması ve E.coli'de üretilmesi, inek hemoglobininin polimerleştirilmesi gibi yöntemler kullanılmıştır. Sığır hemoglobininin ucuz olması, kolay bulunması ve insan hemoglobininin aksine oksijen taşımak için 2,3-DPG'ye ihtiyaç duymaması araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Yapılan çalışmalarda sığır hemoglobinine PEG eklenerek molekülün kararlılığı ve büyüklüğü artırılmış, bunun sonucunda da vücutta alıkonma süresinde artışlar kaydedilmiştir. PEG-hemoglobin kırmızı kan hücresinden küçük olduğu için tümörlerin tedavisinde ihtiyaç duyulan oksijenin dokuya ulaştırılmasında ve kriz durumlarında kullanımı yararlı olmaktadır.

Kanın yerine kullanılacak maddelerde elde edilen bunca ilerlemeye karşın istenen başarıya ortaya çıkan çeşitli engeller sonucu ulaşılamamıştır. Çoğu ilaçlar hastalara miligram mertebesinde verilirken hemoglobin bazı ürünler kanın oksijen taşıma özelliğinin yanısıra hacminin de korunması gerektiğinin



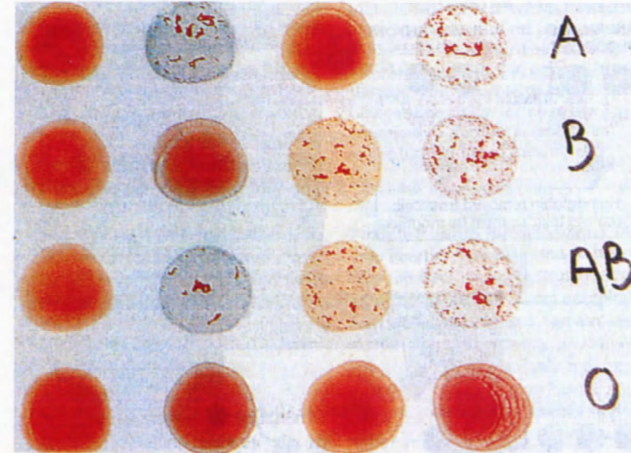
Sıvıyla soluyan fare hayatta kalmışsını yüksek oranda oksijen çözebilen perfloro karbon bileşikleri sağlanmaktadır.

den 50-100 gram arası verilmektedir ve bu sebeple farklı güvenlik kriterlerinin belirlenmesi gerektirir. Ayrıca bu ilaçların uzun dönem etkileri bilinmemektedir. Hipertansiyon, çarpıntı, boşaltım sistemi hasarı gibi kısa dönem etkiler görülmüştür. Asıl önemli olan ise kısa dönem yararı olan uzun dönem risklere göre ağır basması gerektiğidir.

Bütün ürünlerin kendilerine göre dezavantajları vardır. PFC bazı bileşiklerde alıkonma zamanı, toksidite ve fazla oksijen ulaştırımı gibi sorunların çözülmesi gereken bayat insan kanından üretilen türlerde ise hammadde sorunu yaşanmaktadır. Rekombinant hemoglobin üretimi pahalı ve yetersizdir. Sığır kaynaklı hemoglobinde ise çeşitli bilinen ve bilinmeyen hastalık riskleri mevcuttur.

Elbette bu zorluklar araştırmaları durdurmaz, tersine hızlandıracaktır; fakat önemli olan bir diğer konu da hastaların ve sağlık sigortalılarının kan nakline göre 2-5 kat arası fazla maliyete sahip bu ürünleri tercih edip etmeyeceğidir. Bunu zaman gösterecektir ama yapılan araştırmaların birçok hastalığın tedavisine ışık tutacağı da aşiktir.

Kaynak: Scientific American



Kan grupları A, B ve Rh antijenlerinin kırmızı kan hücrelerinin yüzeyinde bulunup bulunmaması ile tanımlanırlar. A grubunda sadece A, B grubunda sadece B, AB grubunda A ve B, O grubunda ise iki antijende bulunmaz. Rh+ kan grubu Rh antijeninin bulunduğunu, Rh- ise Rh antijeninin bulunmadığını gösterir. İmmün sistem tepkisinin olmaması için kan naklinde dikkatli olunmalıdır.