

## Bölüm 60



# REJENERATİF TIPTA YENİ KONSEPT: DESELÜLERİZASYON İŞLEMLERİ VE KULLANIM ALANLARI

Figen ABATAY SEL<sup>1</sup>  
Fatma SAVRAN OĞUZ<sup>1</sup>

### GİRİŞ

Yenileyici tıp ya da diğer adıyla rejeneratif tıp, fonksiyonlarını kaybeden doku ve organların yeniden iyileştirilmesine yönelik modern ve multidisipliner bir tıp alanıdır (1). Yeniden fonksiyon kazandırma işleminde kök hücreler ve kök hücrelerden elde edilmiş özel hücrelerle doku mühendisliği teknikleri kullanılarak doku replasmanı sağlanması amaçlanmaktadır. 21. yüzyılın sağlık hizmetlerini dönüştürmeye hazırlanan rejeneratif tıbbın birincil amacı doku ve organ fonksiyonlarını geri kazandırmak iken, ikincil amacı ise bireyin yaşam kalitesini iyileştirerek bu süreçte bireyi, komplikasyon ve toksisite tedavilerinden arındırmak ve tedavi maliyetlerini azaltmaktır (2). Birçok alanı etkilediği gibi teknoloji ve doku mühendisliğinin hızlı gelişimi, rejeneratif tıp alanını da etkilemektedir.

Günümüzde doku ve organ yetersizliği insanları tehdit eden önemli sağlık sorunlarından biridir ve bu sağlık sorunu doku ve organ transplantasyonu ile aşılmaya çalışılmaktadır. Ancak yetersiz doku ve organ bağıışı gönüllüsü ile ters orantılı olan, her geçen gün artan organ yetersizliği vakaları organ transplantasyonu bek-

leme listesindeki artış, tedavi başlangıcını ve seyirini yavaşlatmaya sebep olmaktadır. İşte bu alandaki yavaşlamaya doku mühendislerinin bulmuş olduğu, kök hücre kullanımının merkezinde yer aldığı, rejeneratif tıp uygulaması “hüresizleştirme” ya da “deselülerizasyon” olarak adlandırılan, bir dizi işlemle fonksiyonu bozulan dokuların yerini alabilecek yapay doku ve organ üretiminin çare olabileceği öngörülmektedir (3). Bu amaç doğrultusunda fonksiyonu bozulmuş karaciğer, akciğer, kalp, böbrek gibi hayati öneme sahip birçok organın üretildiği rapor edilmiştir (4-7). Kısaca deselülerizasyonla yapılan işlem, doku yada organın bio iskeleti korunarak tüm doku ve organlarının hücrelerinden arındırılıp hücrenin iskeletlerinin korunmasına yönelik bir metot olarak özetlenebilmektedir. Bu işlemle hücre iskeleti korunurken ekstraselüler matrikse (ESM) destek sağlanır ve diğer yandan da hücre çoğalması için kimyasal bir takım bileşikler sağlanmalıdır.

Doku deselülerizasyonu için en yaygın kullanılan yöntemler fiziksel, kimyasal ve enzimatik yöntemlerdir (8). Tablo-1’de deselülerizasyon işlemi sırasında kullanılan yöntemler gösterilmektedir. Bu bölümde rejeneratif tıptaki deselülerizasyon yöntemleri anlatılarak 21.yüzyıl sağlık hizmetle-

<sup>1</sup> Dr., İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD. figen.abatay@gmail.com

<sup>2</sup> Prof. Dr., İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD. oguzsf@gmail.com

dır. Deselülerizasyon yöntemleri ile elde edilen ESM'lerin kullanımına yönelik yeni rejeneratif tıp konsepti ile hasar görmüş dokuların tedavisi amaçlanmaktadır. Günümüzde hedefe yönelik olarak birçok dokudan deselüerizasyonla ESM'ler elde edilmekte, hem deneysel hem de klinik olarak başarıyla rejeneratif alanda kullanılmaktadır. Ancak deselüerizasyon yöntemlerinin geniş çapta uygulanabilirliği olmadığından, her bir ayrı doku için ayrı yöntemlerin kullanılmasından, ESM'nin elde edilirken birçok kontrolden geçmesinden ve ESM'nin eldesinin zor oluşundan belli bir standardizasyonu bulunmamaktadır. Şu anda biyomateryallerden deselüerizasyonla elde edilen ESM'lerin rejeneratif etkisinin oldukça başarılı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Gelecekte doku mühendisliğindeki gelişmelerle birlikte rejeneratif tıp alanına katkısı ile bu alanın oldukça önemli hale geleceği tahmin edilmektedir. Çok yakın bir gelecekte ise biyoink ile güçlendirilmiş, biyoyumlu 3-D biyoprintlerle biyoiskeletlerin eldesinin sağlanacağı ve reselüerizasyon işleminde de kök hücrelerin rejeneratif özellikleri ile birçok hasarlı doku ve organın tedavisinin sağlanacağı tahmin edilmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Abatay Sel, F. (2021). Rejeneratif tıpta son dönem kök hücre uygulamaları. Can Özlü (Ed), *İnovatif Tıp* içinde (s. 233-244) Ankara: Akademisyen Yayın Evi doi:10.37609/akya.213
2. Yamada S, Behfar A, Terzic A. Regenerative medicine clinical readiness. *Regen Med.* 2021;16(3):309-322. doi:10.2217/rme-2020-0178
3. Edgar L, Pu T, Porter B, et al. Regenerative medicine, organ bioengineering and transplantation. *Br J Surg.* 2020;107(7):793-800. doi:10.1002/bjs.11686
4. Rossi EA, Quintanilha LF, Nonaka CKV, et al. Advances in hepatic tissue bioengineering with decellularized liver bioscaffold. *Stem Cells Int.* 2019;2019:2693189. doi:10.1155/2019/2693189
5. Ma J, Ju Z, Yu J, et al. Decellularized rat lung scaffolds using sodium lauryl ether sulfate for tissue engineering. *ASAIO J.* 2018;64(3):406-414. doi:10.1097/MAT.0000000000000654
6. Goldfracht I, Efraim Y, Shinnawi R, et al. Engineered heart tissue models from hiPSC-derived cardiomyocytes and cardiac ECM for disease modeling and drug testing applications. *Acta Biomater.* 2019;92:145-159. doi:10.1016/j.actbio.2019.05.016
7. Song JJ, Guyette JB, Gilpin SE, et al. Regeneration and experimental orthotopic transplantation of a bioengineered kidney. *Nat Med.* 2013;19(5):646-651. doi:10.1038/nm.3154
8. Üçgül İ, Aras S. Deselüerizasyon yöntemleri ve dokular da kullanımı. *Anka E-Dergi* 2017;2(2):19-34
9. Kawecki M, Łabuś W, Klama-Baryla A, et al. A review of decellularization methods caused by an urgent need for quality control of cell-free extracellular matrix' scaffolds and their role in regenerative medicine. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2018;106(2):909-923. doi:10.1002/jbm.b.33865
10. Fu RH, Wang YC, Liu SP, et al. Decellularization and recellularization technologies in tissue engineering. *Cell Transplant.*2014;23(4-5):621-630. doi:10.3727/096368914X678382
11. Mendibil U, Ruiz-Hernandez R, Retegi-Carrion S, et al. Tissue-specific decellularization methods: rationale and strategies to achieve regenerative compounds. *Int J Mol Sci.* 2020;21(15):5447. doi: 10.3390/ijms21155447.
12. Proffen BL, Perrone GS, Fleming BC, et al. Effect of low-temperature ethylene oxide and electron beam sterilization on the in vitro and in vivo function of reconstituted extracellular matrix-derived scaffolds. *J Biomater Appl.* 2015;30(4):435-449. doi:10.1177/0885328215590967
13. Harrell CR, Djonov V, Fellabaum C, et al. Risks of using sterilization by gamma radiation: The other side of the coin. *Int J Med Sci.* 2018;15(3):274-279. doi:10.7150/ijms.22644
14. Johnson CM, Guo D, Ryals S, et al. The feasibility of gamma radiation sterilization for decellularized tracheal grafts. *Laryngoscope.*2017;127(8):E258-E264. doi:10.1002/lary.26367
15. Balestrini JL, Liu A, Gard AL, et al. Sterilization of lung matrices by supercritical carbon dioxide. *Tissue Eng Part C Methods.*2016;22(3):260-269. doi:10.1089/ten.TEC.2015.0449
16. Guler S, Aslan B, Hosseinian P, et al. Supercritical carbon dioxide-assisted decellularization of aorta and cornea. *Tissue Eng Part C Methods.*2017;23(9):540-547. doi:10.1089/ten.TEC.2017.0090
17. Wehmeyer JL, Natesan S, Christy RJ. Development of a sterile amniotic membrane tissue graft using supercritical carbon dioxide. *Tissue Eng Part C Methods.* 2015;21(7):649-659. doi:10.1089/ten.TEC.2014.0304
18. Gilpin A, Yang Y. Decellularization strategies for regenerative medicine: from processing techniques to applications. *Biomed Res Int.* 2017;2017:9831534. doi:10.1155/2017/9831534
19. Somuncu, ÖS. (2019) Decellularization concept in regenerative medicine. In: Turksen K. (eds) *Cell Biology and Translational Medicine, Volume 6. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1212 (s. 71-85). Springer, Cham. doi:10.1007/5584\_2019\_338
20. Hashimoto Y, Funamoto S, Sasaki S, et al. Preparation and characterization of decellularized cornea using high-hydrostatic pressurization for corneal tissue engineering. *Biomaterials.* 2010;31(14):3941-3948. doi:10.1016/j.biomaterials.2010.01.122

21. Negishi J, Funamoto S, Kimura T, et al. Porcine radial artery decellularization by high hydrostatic pressure. *J Tissue Eng Regen Med.* 2015;9(11):E144-E151. doi:10.1002/term.1662
22. Norbertczak HT, Ingham E, Fermor HL, et al. Decellularized intervertebral discs: A potential replacement for degenerate human discs. *Tissue Eng Part C Methods.* 2020;26(11):565-576. doi:10.1089/ten.TEC.2020.0104
23. Koenig F, Kilzer M, Hagl C, et al. Successful decellularization of thick-walled tissue: Highlighting pitfalls and the need for a multifactorial approach. *Int J Artif Organs.* 2019;42(1):17-24. doi:10.1177/0391398818805624
24. Lin CH, Hsia K, Su CK, et al. Sonication-assisted method for decellularization of human umbilical artery for small-caliber vascular tissue engineering. *Polymers (Basel).* 2021;13(11):1699. doi:10.3390/polym13111699
25. Roth SP, Glauche SM, Plenge A, et al. Automated freeze-thaw cycles for decellularization of tendon tissue-a pilot study. *BMC Biotechnol.* 2017;17(1):13. doi:10.1186/s12896-017-0329-6
26. Gupta SK, Mishra NC, Dhasmana A. Decellularization methods for scaffold fabrication. *Methods Mol Biol.* 2018;1577:1-10. doi:10.1007/7651\_2017\_34
27. Topal, Ümmihan (2021). Elektroporasyon ve klinik uygulamaları. Can Özlü (Ed), *İnovatif Tıp* içinde (s. 53-82) Ankara: Akademisyen Yayın Evi
28. Shin YH, Park SY, Kim JK. Comparison of systematically combined detergent and nuclease-based decellularization methods for acellular nerve graft: An ex vivo characterization and in vivo evaluation. *J Tissue Eng Regen Med.* 2019;13(7):1241-1252. doi:10.1002/term.2874
29. Khosravimelal S, Momeni M, Gholipur M, et al. Protocols for decellularization of human amniotic membrane. *Methods Cell Biol.* 2020;157:37-47. doi:10.1016/bs.mcb.2019.11.004
30. Tebyanian H, Karami A, Motavallian E, et al. Rat lung decellularization using chemical detergents for lung tissue engineering. *Biotech Histochem.* 2019;94(3):214-222. doi:10.1080/10520295.2018.1544376
31. McCrary MW, Vaughn NE, Hlavac N, et al. Novel sodium deoxycholate-based chemical decellularization method for peripheral nerve. *Tissue Eng Part C Methods.* 2020;26(1):23-36. doi:10.1089/ten.TEC.2019.0135
32. Faulk DM, Carruthers CA, Warner HJ, et al. The effect of detergents on the basement membrane complex of a biologic scaffold material. *Acta Biomater.* 2014;10(1):183-193. doi:10.1016/j.actbio.2013.09.006
33. Zaminy A, Sayad-Fathi S, Kasmaie FM, et al. Decellularized peripheral nerve grafts by a modified protocol for repair of rat sciatic nerve injury. *Neural Regen Res.* 2021;16(6):1086-1092. doi:10.4103/1673-5374.300449
34. Godehardt AW, Ramm R, Gulich B, et al. Decellularized pig pulmonary heart valves-Depletion of nucleic acids measured by proviral PERV pol. *Xenotransplantation.* 2020;27(2):e12565. doi:10.1111/xen.12565
35. Tsuchiya T, Mendez J, Calle EA, et al. Ventilation-based decellularization system of the lung. *Biores Open Access.* 2016;5(1):118-126. doi:10.1089/biores.2016.0012
36. Bae JY, Park SY, Shin YH, et al. Preparation of human decellularized peripheral nerve allograft using amphoteric detergent and nuclease. *Neural Regen Res.* 2021;16(9):1890-1896. doi:10.4103/1673-5374.306091
37. Hayashi Y, Yamauchi M, Kim SK, et al. Biomaterials: chitosan and collagen for regenerative medicine. *Biomed Res Int.* 2014;2014:690485. doi:10.1155/2014/690485
38. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials.* 2011;32(12):3233-3243. doi:10.1016/j.biomaterials.2011.01.057
39. Levy RJ, Vyavahare N, Ogle M, et al. Inhibition of cusp and aortic wall calcification in ethanol- and aluminum-treated bioprosthetic heart valves in sheep: background, mechanisms, and synergism. *J Heart Valve Dis.* 2003;12(2):209-216.
40. Clark JN, Ogle MF, Ashworth P, et al. Prevention of calcification of bioprosthetic heart valve cusp and aortic wall with ethanol and aluminum chloride. *Ann Thorac Surg.* 2005;79(3):897-904. doi:10.1016/j.athoracsur.2004.08.084
41. McPetridge PS, Daniel JW, Bodamyali T, et al. Preparation of porcine carotid arteries for vascular tissue engineering applications. *J Biomed Mater Res A.* 2004;70(2):224-234. doi:10.1002/jbm.a.30060
42. Rieder E, Kasimir MT, Silberhumer G, et al. Decellularization protocols of porcine heart valves differ importantly in efficiency of cell removal and susceptibility of the matrix to recellularization with human vascular cells. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;127(2):399-405. doi:10.1016/j.jtcvs.2003.06.017
43. Waletzko J, Dau M, Seyfarth A, et al. Devitalizing effect of high hydrostatic pressure on human cells-influence on cell death in osteoblasts and chondrocytes. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):3836. doi:10.3390/ijms21113836
44. Rahman S, Griffin M, Naik A, et al. Optimising the decellularization of human elastic cartilage with trypsin for future use in ear reconstruction. *Sci Rep.* 2018;8(1):3097. doi:10.1038/s41598-018-20592-x
45. Bakhtiar H, Pezeshki-Modaress M, Kiaipour Z, et al. Pulp ECM-derived macroporous scaffolds for stimulation of dental-pulp regeneration process. *Dent Mater.* 2020;36(1):76-87. doi:10.1016/j.dental.2019.10.011
46. Liang J, Yi P, Wang X, et al. Acellular matrix hydrogel for repair of the temporomandibular joint disc. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2020;108(7):2995-3007. doi:10.1002/jbm.b.34629
47. Moore MA, Samsell B, Wallis G, et al. Decellularization of human dermis using non-denaturing anionic detergent and endonuclease: a review. *Cell Tissue Bank.* 2015;16(2):249-259. doi:10.1007/s10561-014-9467-4
48. Simsa R, Padma AM, Heher P, et al. Systematic in vitro comparison of decellularization protocols for blood vessels. *PLoS One.* 2018;13(12):e0209269. doi:10.1371/journal.pone.0209269
49. Guruswamy Damodaran R, Vermette P. Tissue and organ decellularization in regenerative medicine. *Biotechnol Prog.* 2018;34(6):1494-1505. doi:10.1002/btpr.2699
50. Belviso I, Romano V, Sacco AM, et al. Decellularized human dermal matrix as a biological scaffold for cardiac repair and regeneration. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8:229. doi:10.3389/fbioe.2020.00229

51. Shang F, Yu Y, Liu S, et al. Advancing application of mesenchymal stem cell-based bone tissue regeneration. *Bioact Mater.* 2020;6(3):666-683. doi:10.1016/j.bioactmat.2020.08.014
52. Lin X, Patil S, Gao YG, Qian A. The bone extracellular matrix in bone formation and regeneration. *Front Pharmacol.* 2020;11:757. doi:10.3389/fphar.2020.00757
53. Dziejczak DSM, Francisco JC, Mogharbel BF, et al. Combined biomaterials: Amniotic membrane and adipose tissue to restore injured bone as promoter of calcification in bone regeneration: Preclinical model. *Calcif Tissue Int.* 2021;108(5):667-679. doi:10.1007/s00223-020-00793-1
54. Urciuolo A, De Coppi P. Decellularized tissue for muscle regeneration. *Int J Mol Sci.* 2018;19(8):2392 doi:10.3390/ijms19082392
55. Porzionato A, Stocco E, Barbon S, et al. Tissue-engineered grafts from human decellularized extracellular matrices: A systematic review and future perspectives. *Int J Mol Sci.* 2018;19(12):4117. doi:10.3390/ijms19124117
56. Lockhart M, Wrigg E, Phelps A, et al. Extracellular matrix and heart development. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2011;91(6):535-550. doi:10.1002/bdra.20810
57. Bayomy AF, Bauer M, Qiu Y, et al. Regeneration in heart disease-Is ECM the key?. *Life Sci.* 2012;91(17-18):823-827. doi:10.1016/j.lfs.2012.08.034
58. Saldin LT, Cramer MC, Velankar SS, et al. Extracellular matrix hydrogels from decellularized tissues: Structure and function. *Acta Biomater.* 2017;49:1-15. doi:10.1016/j.actbio.2016.11.068
59. Efraim Y, Sarig H, Cohen Anavy N, et al. Biohybrid cardiac ECM-based hydrogels improve long term cardiac function post myocardial infarction. *Acta Biomater.* 2017;50:220-233. doi:10.1016/j.actbio.2016.12.015
60. Bermejo J, Yotti R, García-Orta R, et al. Sildenafil for improving outcomes in patients with corrected valvular heart disease and persistent pulmonary hypertension: a multicenter, double-blind, randomized clinical trial. *Eur Heart J.* 2018;39(15):1255-1264. doi:10.1093/eurheartj/ehx700
61. Di Meglio F, Nurzynska D, Romano V, et al. Optimization of human myocardium decellularization method for the construction of implantable patches. *Tissue Eng Part C Methods.* 2017;23(9):525-539. doi:10.1089/ten.TEC.2017.0267
62. Guyette JP, Charest JM, Mills RW, et al. Bioengineering human myocardium on native extracellular matrix. *Circ Res.* 2016;118(1):56-72. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.306874
63. Seo Y, Jung Y, Kim SH. Decellularized heart ECM hydrogel using supercritical carbon dioxide for improved angiogenesis. *Acta Biomater.* 2018;67:270-281. doi:10.1016/j.actbio.2017.11.046
64. Suen CM, Stewart DJ, Montroy J, et al. Regenerative cell therapy for pulmonary arterial hypertension in animal models: a systematic review. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):75. doi:10.1186/s13287-019-1172-6
65. Iwasaki K, Kojima K, Kodama S, et al. Bioengineered three-layered robust and elastic artery using hemodynamically-equivalent pulsatile bioreactor. *Circulation.* 2008;118(14 Suppl):S52-S57. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.757369
66. Cai Z, Gu Y, Cheng J, et al. Decellularization, cross-linking and heparin immobilization of porcine carotid arteries for tissue engineering vascular grafts. *Cell Tissue Bank.* 2019;20(4):569-578. doi:10.1007/s10561-019-09792-5
67. Rippa AL, Kalabusheva EP, Vorotelyak EA. Regeneration of dermis: Scarring and cells involved. *Cells.* 2019;8(6):607. doi:10.3390/cells8060607
68. Sotnichenko AS, Gilevich IV, Melkonyan KI, et al. Comparative morphological characteristics of the results of implantation of decellularized and recellularized porcine skin scaffolds. *Bull Exp Biol Med.* 2021;170(3):378-383. doi:10.1007/s10517-021-05071-0
69. Milan PB, Lotfibakhshaesh N, Joghataie MT, et al. Accelerated wound healing in a diabetic rat model using decellularized dermal matrix and human umbilical cord perivascular cells. *Acta Biomater.* 2016;45:234-246. doi:10.1016/j.actbio.2016.08.053
70. Wolf MT, Daly KA, Brennan-Pierce EP, et al. A hydrogel derived from decellularized dermal extracellular matrix. *Biomaterials.* 2012;33(29):7028-7038. doi:10.1016/j.biomaterials.2012.06.051
71. Mohd Pu'ad NAS, Koshy P, Abdullah HZ, et al. Syntheses of hydroxyapatite from natural sources. *Heliyon.* 2019;5(5):e01588. doi:10.1016/j.heliyon.2019.e01588
72. Gardin C, Ricci S, Ferroni L, et al. Decellularization and delipidation protocols of bovine bone and pericardium for bone grafting and guided bone regeneration procedures. *PLoS One.* 2015;10(7):e0132344. doi:10.1371/journal.pone.0132344
73. Lee DJ, Diachina S, Lee YT, et al. Decellularized bone matrix grafts for calvaria regeneration. *J Tissue Eng.* 2016;7:2041731416680306. doi:10.1177/2041731416680306
74. Ivanov AA, Latyshev AV, Butorina NN, et al. Osteogenic potential of decellularized tooth matrix. *Bull Exp Biol Med.* 2020;169(4):512-515. doi:10.1007/s10517-020-04920-8
75. Gillies AR, Lieber RL. Structure and function of the skeletal muscle extracellular matrix. *Muscle Nerve.* 2011;44(3):318-331. doi:10.1002/mus.22094
76. de Lima Santos A, da Silva CG, de Sá Barreto LS, et al. A new decellularized tendon scaffold for rotator cuff tears - evaluation in rabbits. *BMC Musculoskelet Disord.* 2020;21(1):689. doi:10.1186/s12891-020-03680-w
77. Drake DB, Tilt AC, DeGeorge BR. Acellular flexor tendon allografts: a new horizon for tendon reconstruction. *J Hand Surg Am.* 2013;38(12):2491-2495. doi:10.1016/j.jhssa.2013.03.039
78. Urciuolo A, Urbani L, Perin S, et al. Decellularised skeletal muscles allow functional muscle regeneration by promoting host cell migration. *Sci Rep.* 2018;8(1):8398. doi:10.1038/s41598-018-26371-y
79. Xie S, Zhou Y, Tang Y, et al. -Book-shaped decellularized tendon matrix scaffold combined with bone marrow mesenchymal stem cells-sheets for repair of achilles tendon defect in rabbit. *J Orthop Res.* 2019;37(4):887-897. doi:10.1002/jor.24255