

# Diyabette Kök Hücreler

STEM CELLS IN DIABETES

Serap Cilaker MICILI, Candan ÖZOĞUL

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı

## ÖZET

Diyabet mellitus (DM), insülin bağımlı tip I ve insülin bağımsız tip II diyabeti olmak üzere iki tiptir. Tip II diyabette pankreas beta hücrelerinden insülinin salınımı yetmezliği gözlenirken, tip I diyabette pankreatik beta hücrelerinin immun yetmezlik sonucu yıkımı söz konusudur. Her iki tip diyabette de sonuçta Langerhans adasının beta hücreleri hasar gördüğü için insülin yetmezliği ya da yokluğu gözlenir. Beta hücrelerinin farklı kaynaklardan yeniden elde edilmesi ya da olgun hücrelerin replikasyonları ile yeni hücrelerin oluşturulması düşüncesiyle diyabetik kök hücre çalışmaları hız kazanmıştır. Bu çalışmaların yapılabilmesi için beta hücrelerinin embriyonik gelişimden itibaren moleküler özelliklerinin ve bu hücrelerin yıkımına ait mekanizmaların iyi bilinmesi gerekmektedir. Bu mekanizmaların iyi anlaşılması durumunda diyabet tedavisinde yeni yollar açılacağı ve diyabet hastaları için yeni umutların doğacağına inanılmaktadır.

**Anahtar sözcükler:** Diyabet, beta hücreleri, kök hücre, transplantasyon, ada hücreleri

## SUMMARY

Diabetes mellitus (DM) is divided into two groups as insulin dependent type I and insulin independent type II. In type II DM there is an insufficiency of insulin releasing while in type I a destruction of beta cells as a result of immune insufficiency. Hence, the defect of beta cells in langerhans islets causes insulin insufficiency or absency in both type of DM. The diabetic stem cell studies are increasing rapidly due to regain of beta cells from different sources or replication of mature cells. To be able to perform these studies, it is necessary to the molecular properties of beta cells from embryological development stage and the destruction mechanism of beta cells. The further knowledge about these mechanism will provide new approaches for treatment of DM and will be a new hope for patients with DM.

**Key words:** Diabetes mellitus, beta cells, stem cell, transplantation, islet cells

## Serap CİLAKEK MICILI

Dokuz Eylül Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Histoloji-Embriyoloji AD

35340, İnciraltı İzmir

Tel: (232) 4124561

e-posta: serap.cilaker@deu.edu.tr

Diabetes mellitus (DM) insülin hormonunda ya da etkisindeki yetersizlik sonucu oluşan hiperglisemiye bağlı olarak gelişen, karbonhidrat, yağ, protein metabolizmasındaki bozuklukla karakterize kronik bir hastalıktır. İnsülin bağımlı tip I diyabet (insülin-dependent type I; IDDM) ve insülin bağımlı olmayan tip II ya da erişkin diyabeti (non-insülin-dependent type II; NIDDM) olmak üzere genel olarak 2 tip diyabet vardır. Tip I diyabet iki ana evreden oluşur: Birincisi, insülitis olarak adlandırılır ve adacığa lenfositlerin (T-lenfositlerin) invazyonu söz konusudur. Beta hücre hedefli bir süreçtir ve sadece beta

hücrelerinin varlığında gerçekleşir. İkinci evre ise, beta hücrelerinin yıkımı ve ardından insülin üretilememesidir. İnsülin yokluğunda, glukoz hücrelere giremez ve kanda glukoz birikimi gözlenir. Erişkin diyabeti olarak adlandırılan tip II diyabette ise etkiler yaşa bağlıdır ve diyabetik aile öyküsü ve aşırı kilo ile ilişkilidir. Tip II diyabet vücuttaki insülin etkin olarak kullanılmadığı zaman oluşur. Bu durum insülin direnci olarak adlandırılır ve periferik insülin direnci oluşur; sonuçta beta hücre yıkımına bağlı olarak insülin yetmezliği gözlenir. Ortak bir

nokta olarak iki tip diyabette de beta hücre hasarı söz konusudur.

Erişkin insanda, ağırlıkları pankreas ağırlığının %2'si civarında olan yaklaşık 2 milyon ada bulunmaktadır. Adacıklardaki hücreler morfoloji ve boyanma özelliklerine göre ayrılırlar. Alfa ( $\alpha$ ) hücreleri glukagon, beta ( $\beta$ ) hücreleri insülin, delta ( $\Delta$ ) hücreleri somatostatin ve F hücreleri polipeptid (PP) salgılar. Kemirgenlerde ise, dorsal pankreatik tomurcuk ya da duodenal pankreastan köken alan her bir adanın %70-80'si beta hücreleri, %5 somatostatin salgılayan delta hücreleri ve %20 civarında da glukagon salgılayan alfa hücrelerinden ya da pankreasın splenik kısımlarında lokalize (insanda vücut ve kuyruk kısmında) olan polipeptit üreten PP hücrelerinden oluşmaktadır (1).

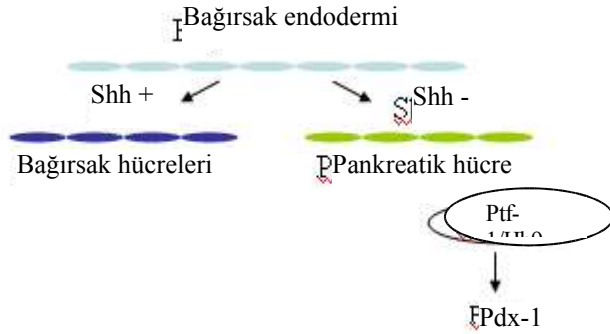
**Beta Hücreleri:** Günümüzde diyabet tedavisi için geleneksel insülin tedavisi yetersiz kalmaktadır. Üzerinde çalışılan yeni yaklaşımlardan biri de endojen insülin eksikliğini kalıcı olarak gidermek amacıyla uygulanan beta hücre replasman tedavisidir. Bu nedenle beta hücrelerinin genetik ve fonksiyonel özelliklerini bilmek bu yaklaşıma büyük yararlar sağlayacaktır ve izole edilen pankreatik ada hücrelerinin transplantasyonu diyabet hastalığının tedavisi için çok önemli bir alternatif olacaktır.

Beta hücrelerinin özelliklerine bakmak gerekirse, memeli beta hücrelerinin temel fonksiyonu vücuttaki tüm dokuların optimal fonksiyonları için besinlere, hormonlara sinirsel stimülasyonlara yanıt olarak plazmadaki glukozun fizyolojik oranının devamlılığını sağlamak amacıyla yeterli bioaktif insülinin salınımıdır. Adaların anatomik yapısı dik-kate alındığında, beta hücreleri parakrin/otokrin etkileşimler yoluyla komşu hücrelerin fonksiyonlarını da düzenler (2). Granülleri ise sitoplazmadaki insülin paketleri şeklindedir ve bu paketler zarla çevrilidir ve granüllerin büyüklüğü ile şekli değişkendir.

Tipik bir beta hücresi elektron mikroskopunda incelendiğinde karakteristik polihedral korlu, 300 nm çapında elektron-dense salgı granüllerine sahip olduğu gözlenir. Bu granüllerin kristalize insülin olduğu düşünülmektedir. Hücreler çok sayıda büyük yuvarlak mitokondriyon, Golgi bölgesinde immatür evrede presekretuar granüller ve iyi gelişmiş granüllü endoplazma retikulumu sisternalarına sahiptir (3,4).

**Pankreasın gelişimi ve moleküler düzenlemesi:** Embri-yogenez sürecinde pankreas başlangıçta duodenumun iç yüzünü döşeyen endodermden ayrılan ventral ve dorsal tomurcuklar olarak adlandırılan iki şişkinlikten gelişir (5). Duodenumun sağa dönüşü ile birlikte ventral tomurcuk arkaya doğru hareket eder ve dorsal tomurcuğun arka alt bölümüne yerleşir. Bu süreçte iki tomurcuğun parankim dokusu ve kanalları birleşir. Ventral tomurcuktan proces-sus uncinatus ve pankreas başının alt bölümü gelişirken dorsal tomurcuk diğer bölümleri oluşturur. Dorsal tomurcuk kanalının distali ve ventral tomurcuk kanalının tamamı ana pankreas kanalını (Wirsung) yapar. Ana pankreas kanalı koledok kanalı ile birlikte duodenuma açılır. Dorsal tomurcuk kanalının proksimal kısmı bazen tümüyle kaybolur ya da aksesuar pankreas kanalı (Santorini) olarak ana kanal-dan ayrı duodenuma açılır. Bazı durumlarda ise her iki tomurcuk kanalı kaynaşmadan ayrı ayrı duodenuma açılabilir.

Farelerde embriyonel 8,5 günde, notokord (dorsal) ve kardiak (ventral) mezodermden gelen sinyaller ile primitif bağırsak endoderminden pankreas oluşumunu başlatmak için Shh (Sonic encoding) ve Ihh (encoding Indian Hedgehog) genleri salınır (6). Dorsal pankreasın farklılaşması pankreas-spesifik heterotrimerik transkripsiyon faktör Ptf-1'in 48-kDa helix-loop-helix DNA –bağlayıcı alt ünite-since kodlanan Ptf1a'nın (7) ve homeobox transkripsiyon faktör Hb9'un (Hlxb9 geni tarafından kodlanan) salınımına bağlıdır (8). Bu genlerin salınımını ise pankreatik duodonal homeobox faktör-1 (Pdx-1) salınımı izler (Şekil 1).



**Şekil 1.** Bağırsak endodermi Shh genleri yokluğunda pankreatik epitel hücrelerine dönüşür ve pankreas oluşumu indüklenir

Pankreasın ventral bölgesinin endodermine şekillenmesi ise muhtemel 3 faktör ile belirlenir. Fibroblast büyüme faktörü (FGF) kardiak mezodermin proksimal endoderm hücrelerinde karaciğerin farklılaşmasını sinyallerini verir (9). Kardiak mezodermin distal kısmındaki endodermde ise FGF sinyali yoktur, Ptf1a salınımı başlar ve eş zamanlı olarak Hb9 ile Pdx-1 aktif hale gelir, böylece ventral pankreas tomurcuğu şekillenmeye başlar. FGF sinyalinin yokluğu ve Ptf1a salınımı ventral ön bağırsak endodermine bu bölgedeki Pdx-1 progenitörlerinin bağırsak farklılaşmasını sağladığı da düşünülebilir (7).

Helix-forkhead transkripsiyon faktörü Foxa2 ise, in vitro olarak Pdx-1 sentezini düzenler ve sırasıyla, Foxa2 sentezi Hnf6 genine ilişkin faktörler tarafından düzenlenir. Embrioid cisimler Foxa2 eksikliğinde Pdx-1 ekspresyone edemezler (9). Bu bilgiler göstermektedir ki eklenen transkripsiyon faktörleri Pdx-1'in artışına etki edebilir (10). Bu durumda pankreas gelişimi etkilenebilir çünkü pankreas tomurcuklarının gelişimi Pdx-1'e bağlıdır.

Fetal yaşamın 3. ayında pankreas parankiminden, endokrin adacık hücreleri gelişir ve bu hücreler Langerhans adacıkları olarak bilinen hücre kümeleri halinde organize olurlar. Bu adacıkları bir Alman patolog ve anatomist olan Paul Langerhans, Berlindeki Rudolf Virchow laboratuvarında doktora tezi çalışmaları sırasında keşfetmiştir (11). Bu endokrin hücrelerin sonraki devamlılığından fetusun pankreas kanalında yerleştikleri düşünülür.

len kök hücrelerin sorumlu olduğu düşünülmektedir (12,13). Ada gelişimi erken postnatal periyotta durmasına rağmen; büyümesi ve ada kitlesinin devamlılığının bazı düzenleyicilerin kontrolü altında olduğu bilinmektedir (14,15). Bu bilgiler normal yetişkin pankreasında çok az da olsa kök hücre aktivitesi olduğunu düşündürmektedir.

Pankreatik kök hücreyle ilişkili bazı proteinler tanımlanmıştır ve çalışmalarda çok sayıda transkripsiyon faktörünün pankreatik kök hücre farklılaşmasında önemli rolü olduğu düşünülmektedir. İnsülin gen salınımının düzenlenmesinde çok önemli olan Pdx-1 proteininin pankreasın endokrin ve ekzokrin bileşenlerinin gelişiminde ve insülin geninin transkripsiyonunda kritik bir rol oynadığı bilinmektedir (16-18). Pdx-1 geni aynı zamanda progenitör hücrelerden insülin üreten hücrelerin farklılaşması ve ada neogeneziyle de yakından ilişkilidir (19,20). Genetik olarak Pdx-1 eksik farelerde pankreas gelişmediği gözlenmiştir (21-23). Hepatosit nükleer faktör 3 beta (Hnf3 $\beta$ ), pankreasta Pdx-1'in gen transkripsiyonunda önemli bir düzenleyicidir ve endodermal hücre topluluklarının gelişimi için gereklidir (24,25). Bu faktörün eksik olduğu farelerde erken embriyo-genezde ölüm gözlenmiştir (26,27). Hnf6, Pdx-1 geninin pankreas gelişimi için uygun zamanda salınmasını sağlayan diğer bir transkripsiyon faktörüdür (28). Bu faktörlerin salınımı ile pankreas ve duodenumda progenitör hücrelerin belirlenmesi sağlanır (23, 29-31).

Knockout fareler kullanılarak yapılan çalışmalarda Isl-1 (Isl-1) transkripsiyon faktörünün de ada farklılaşmasında önemli olduğu gösterilmiştir (30). Isl-1, yetişkin pankreas ada hücrelerinde bir nöral kök hücre işaretleyicisi olarak tanımlansa da endokrin hücrelerin ve nestin oluşturulması için gerekli bir transkripsiyon faktörüdür (19,28). Yapılan çalışmalarda, Isl-1 eksik farelerde ventral tomurcuk geliştiği halde dorsal tomurcuğun gelişmediği gözlenmiştir. Bununla birlikte ventral tomurcukta ekzokrin hücreler varken endokrin hücrelerin olmadığı gözlenmiştir (32).

Isl-1, Hnf3 $\beta$  gibi transkripsiyon faktörlerinin yanısıra Pax4 ve Pax6 gibi iki homeodomain protein, yetişkin pankreası kadar embriyonik bağırsak gelişiminde de salınmaktadır. Pax-4 molekülünün hem dorsal hem de ventral tomurcuk gelişiminde salındığı bilinmektedir, yetişkinlerde salınımı ise beta hücreleri ile sınırlıdır (33). Buna karşın

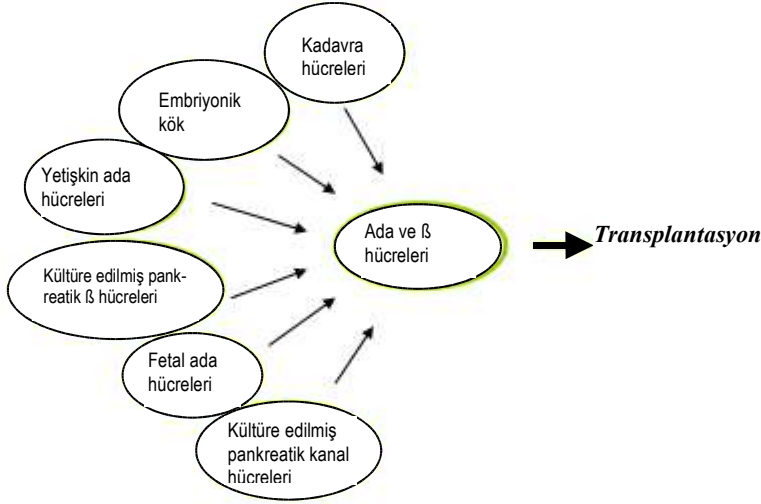
Pax-6 molekülü, fetal ve erişkin pankreasta her dört tip endokrin hücrede de salınmaktadır (34). Yapılan gen de-lesyon çalışmalarında bu genlerin yokluğunda matür en-dokrin hücrelerin gelişmediği ve Pax-4'ün somatostatin üreten  $\Delta$  hücreleri ve insülin üreten  $\beta$  hücrelerinin rejenerasyonu için gerekli olduğu gözlenmiştir (33). Pax-6 ise glukagon üreten  $\alpha$  hücrelerinin farklanmasında gereklidir (35).

Glukoz, insülin salınımının başlıca düzenleyicisidir. Ancak insülin salınımına ilişkin kesin mekanizma ve etkileyen faktörler tam olarak anlaşılamamıştır (36). Fare beta hücreleri insülin ve insulin büyüme faktörü (IGF) reseptörlerinin her ikisine de sahiptir ve bunlar sinyal yolunun en önemli bileşenleridir (37). IGF-I reseptörü beta hücrelerinin büyümeleri için gereklidir. IGF-I ya da insülin reseptörünün beta hücrelerinde spesifik dağılımı olan farelerde beta hücrelerinin erken büyüme/gelişimlerinde değişiklik göstermezler. Cre rekombinaz salındığında embriyonun 9,5. gününden sonra beta hücrelerinin büyümesi için bu reseptörlerin olması gerektiği gösterilmiştir (37-39). Bununla birlikte farelerde glukoz stimuluslu insülin sekresyonunda defektler gözlenmiştir. IGF-I ya/yada insülin reseptörü glukoz duyarlılığını düzenler ve beta hücrelerinin büyümesine üzerine potansiyel bir feedback etkisi oluşturur (37). Ancak, uygun modellerle yapılan deneylerde feedback etkilerinin tam olarak tanımlanması için patofizyolojik durumlarda beta hücre fonksiyonlarının anlaşılması önemlidir.

Tüm bu bilgilerin ışığı altında, Ptf1-a ve Pdx-1 tüm olgun pankreas hücre tiplerinin öncüleri olarak kabul edildiğine göre bu hücreler nasıl endokrin, ekzokrin ya da kanal hücrelerine farklılıklar? Farelerde 12,5. günde kanalların

oluşumu şekillenmeye başladığı E9,5 - E12,5. günlerde Pdx-1 salınımının gözlemlendiği düşünülmesine rağmen, henüz bu durumu baskılayan ve indükleyen mekanizmalar aydınlatılamamıştır ve daha ileri çalışmalara gerek vardır (31,40).

**Pankreatik Kök Hücre Kaynakları:** İnsan embriyonik kök hücrelerinin izole edilebilme yöntemlerinin keşfedilmesi ile birlikte, tip I ve tip II diyabetli hastalarda tedavi için yeni ümitler ortaya çıkmıştır. Doğumun ve çocukluğun ardından, ada hücrelerinin kaynağı henüz açıklanamamıştır ve yetişkin kök hücrelerin pankreasta oluşup oluşmadığı hala tartışma konusudur. Diyabet tedavisine ilişkin birçok yol üzerinde çalışılmaktadır. Bunlardan bazıları; yapay pankreas üretilmesi, pankreas transplantasyonu, ada transplantasyonu, hücre kökenli tedaviler, gen tedavileri ve rejenerasyon tedavileridir. Her yöntemin kendi içerisinde kısıtlılıkları bulunmaktadır; örneğin, donör yetersizliği, immun baskılayıcı ilaçların zararları, hücre kökenli tedavide saf hücre nesillerinin elde edilme zorluğu gibi. Ancak, tüm bu tedavilerin tabanında insülin salgılayan beta hücrelerinin yerine konması yatmaktadır ve beta hücrelerinin kaynağı ve elde edilme yollarına ilişkin çeşitli görüş ve çalışmalar bulunmaktadır. Bazı araştırmacılar ada kök hücrelerine benzer hücrelerin pankreas kanalında bulunabileceğini düşünmektedirler. Diğer bir grup araştırmacı ise kanal hücrelerinin ada prekürsör hücrelerine farklılanabileceğini düşünmektedir. Araştırmalar içerisinde izole edilip kültüre edilen kök hücrelerin ya da yetişkin veya fetal pankreas dokusundan elde edilen ada prekürsör hücrelerinin kullanımına ilişkin yaklaşımlar bulunmaktadır (Şekil 2).



**Şekil 2.** Çeşitli kaynaklardan elde edilen ada hücreleri ya da  $\beta$  hücreleri transplante edilmektedir

Erişkin kök hücreleri birçok araştırmacı tarafından kadavralardan elde edilmektedir. Elde edilen hücrelerin kültüre edilmeleri ve proliferasyonlarının sağlanması bu hücreler ile çalışmanın en büyük zorlukları arasındadır. Fred Levine ve ark California üniversitesinde insan kadavralarından izole ettikleri hücrelerden insülin salınımını sağlayabilmek için, bu hücreleri insülin salınımını stimüle eden Pdx-1 genini salgılayacak şekilde düzenlemişlerdir. Ancak bu hücreler diyabetik farelere nakledildiklerinde normal adacık hücreleri kadar insülin salgılamadıkları gözlenmiştir (41). Buradaki önemli konu hücrelerin büyüme ve farklılaşmaları arasındaki hassas dengenin devam etmesidir. Yani hücrelerin çoğalmaları sağlansa da insülin üretmeye devam etmeleri sağlanabilmelidir.

Diğer bir erişkin hücre kaynağı da pankreas kanalı hücreleridir. Bonner ve ark, erişkin pankreas dokusundan pankreas kanalı hücrelerini izole ederek kültürde çoğaltarak, kanal hücrelerini ve endokrin hücrelerini içeren hücre kümelerinin farklılaşmaya başladıklarını göstermişlerdir. Elde ettikleri primer kültürler ile hücreleri çoğaltmışlar ancak bu hücrelerin sınırlı büyüme kapasitesine sahip olduklarını düşünmüşlerdir (19). Araştırmacılar, kişinin kendi kanal hücrelerinin alınıp kültürde çoğaltılabildiğini ve otolog nakil yapılabildiğini, ancak oto-immun red olayının önlenemeyip verilen hücrelerin yeniden yıkıma uğradıklarını gözlemişlerdir. Bunun yanı sıra, son dönemlerde ye-

tişkin farelerde, pankreas kanalı epitel hücrelerinden uzun süreli hücre kültürleri hazırlanmış ve çok sayıda ada hücrelerinin insülin üretebildiği gözlenmiştir (42).

Gershengorn ve ark tarafından matür beta hücrelerinin kendilerini yenileyebilme potansiyellerinin olduğu gösterilmiştir (43,44). Ancak bu hücrelerin önce nestin pozitif mezenkimal kök hücrelere dönüştüğü daha sonra ileri yönde farklılaşarak yeni beta hücrelerini oluşturdukları düşünülmektedir (45,46).

Embriyonik kök hücrelerinin (EHK) kültür ortamlarında insülin üreten hücrelere farklılaşabildikleri gösterilmiştir. Fare embriyonik kök hücreleri ile yapılan in vitro çalışmalarda insülin üreten hücrelerin embriyoid cisimden farklılaşabildikleri gösterilmiştir (47). Ayrıca fosfoinositid kinaz inhibitörlerinin çok sayıda embriyonik kök hücrenin fonksiyonel beta hücrelerine farklılaşmasına yardımcı olduğu bildirilmiştir (48). Embriyonik kök hücre kültürlerindeki çeşitlilikler, beta hücreleri özelliğinde hücreler üretilmesini sağlamaktadır (49-51). Örneğin, Pax-4 ya da Pdx-1 kullanılması ve kültür ortamlarındaki çeşitli manipulasyonlar ile beta hücrelerinin üretilmesi sağlanmaktadır (52,53). Lumelsky ve ark embriyonik hücrelerden nestin Salınımı olan hücreleri seçerek kültürde çoğaltmışlar ve adacık hücresi benzeri hücreler elde etmişlerdir. Ancak bu hücreleri diyabetik farelere naklettiklerinde yetersiz kaldık-

larını gözlemişlerdir (54).

Embriyonik kök hücrelerinden insülin üreten hücrelerin oluşturulmasında çeşitli sorunlar ile karşılaşmaktadır. Bunlardan birisi teratoma oluşumudur. Farklanmamış embriyonik kök hücrelerinin iyi huylu tümörler oluşturma riskleri vardır. Diğer bir problem ise bu hücrelerin laboratuvar ortamında üretilirken daha uzun süreli çoğalmalarını sağlamak amacıyla fare fibroblast hücrelerinin kültür ortamına eklenmesidir. Bu hücreler bir insana nakdedildiği zaman viral kökenli enfeksiyonların insana geçmesi mümkündür. Bununla birlikte bazı araştırmacılar insan kökenli fetal ve erişkin fibroblast besleyici tabakalarını kullanarak bu hücrelerin uzun süreli yaşamalarını sağlayabilmişlerdir (55).

İnsülin üreten ya da medyumdan sadece insülin absorbe eden hücrelerin farklanma protokolleri ile tamamen EKH'ye farklanıp farklanmadıkları şüphelidir (56). Farklandığı düşünülen hücrelerin aktif sentez yapabilmesi ve insülin salgılayabilmesi gereklidir. İnsülin hormonunun düzenlenmesinde işlev gören moleküler bileşenler ve insülin içeren veziküller beta hücresi fenotipi göstermektedir. İnsülin üreten hücrelerden köken alan EKH'lerin transplantasyonu ile kemirgenlerde bu hücrelerin insülin üretilip, insülin salgılayan hücrelere dönüştüğü gözlenmiştir (48,52). İn vitro farklanma sırasında EKH'lere transkripsiyon faktörlerinin erken ve kontrolsüz verilmesinin ise istenen sonuçları vermediği gözlenmiştir (51).

## **HEMATOPOETİK ORGANLARDAN KÖKEN ALAN KÖK HÜCRELER**

Kemik iliği hücrelerinden, ilik ya da organ transplantasyonu yapılan alıcı insanlarda karaciğer, bağırsak, deri, akciğer, iskelet kası ve merkezi sinir sistemine verildikten sonra parenkimal hücreler oluşabildiği gösterilmiştir (57-59). Kemirgenlerde, hematopoetik organlardaki hücreler, fonksiyonel pankreatik endokrin hücrelere de farklanabilmektedir (60,61). Kemik iliği transplantasyonundan 1-2 ay sonra, donör-kökenli hücreler alıcı farelerin pankreatik adalarında bulunmuştur (60). Kültürde, hücreler glukozaya yanıt olarak insülin üretmiş ve bu hücrelerde normal beta hücrelerine benzer şekilde intrasellüler kalsiyum fluktasyonları (artış-azalışları) gözlenmiştir. Bununla birlikte ada hücrelerinin sadece %1-3'ü transplante edilen kemik iliğinden

den köken almaktadır (60). Kemik iliği kökenli bir hücre, çeşitli fenotiplere dönüşebilen pluripotent kapasiteli hücreler olarak tanımlanmaktadır (62). Bu hücreler ya da benzer hücre tipleri pankreatik beta hücrelerine farklılaşabilmektedirler.

Benzer deneyler streptozotosin ile yıkılmış beta hücrelerine sahip diyabetik farelerde yapılmıştır. Kemik iliği transplantasyonundan sonra kan glukoz ve insülin konsantrasyonları normal bulunmuş ve yaşam gücünün çok daha iyi olduğu gözlenmiştir (63). Langerhans adacıklarında, kemik iliği kökenli hücrelerin endotelial hücrelere farklılaştığı ve insülin üreten hücrelere dönüştüğü gözlenmiştir. Endotelial engraftment lokal pankreatik progenitörlerin proliferasyonlarını stimüle etmek için yapılmıştır ve insülin üreten hücre kitlelerinde artış gözlenmiştir.

Pankreatik kök hücre çalışmaları insüline bağımlı bir hastalık olan tip I diyabetin tedavisi için büyük umutlar vaat etmektedir. Bu konuda çalışmalar büyük bir hızla devam ederken çözülmesi gereken çok önemli problemler vardır. Transplantasyonlarda karşılaşılan en büyük sorunlar uygun verici bulunamaması, yeterli kök hücrenin elde edilememesi ve transplante edilen hücre/doku ya da organların immün sistem tarafından reddedilmesidir. Transplantasyon yapılan hastalara dokunun reddini önlemek amacıyla immün sistemi baskılayıcı ilaçlar verilir. Bu durumda hastalar birçok enfeksiyon ve virüse karşı savunmasız hale gelirler. 2000 yılında Shapiro ve ark Kanada'da Alberta Üniversitesinden 'Edmonton Protokolü' adı verilen bir yöntem geliştirerek kadavralardan elde ettikleri adacık hücrelerini tip I diyabetli 7 hastanın karaciğer portal ven-lerine implante etmişlerdir (64). Transplantasyon sonrası hastalara glukokortikoid içermeyen bir immunsupresör verilmesi yöntemin iyi bir yönü olarak gözlenirse de her uygulama için en az iki kadavra gerekli olması ve dokuların taze olarak elde edilmesi zorunluluğu doğmuştur.

Sonuç olarak, özellikle tip I diyabet kişinin kendi hücrelerinin kendi immün sistemi tarafından yıkılması nedeniyle tedavisi zor bir hastalıktır. Yakın gelecekte bu immün sistem problemine, Edmonton Protokolünde kullanılan benzer tedaviler ile çözüm bulunabileceğine inanılmaktadır. Bununla birlikte insan ada prekürsör hücreleri ve kök

hücreler dışında yeni hücre kaynakları geliştirilmelidir. Belki de yetişkin dokuda farklı progenitör hücre kaynakları bulunmalı ve kültür şartları geliştirilmelidir.

### KAYNAKLAR

1. Dahlquist G, Blom L, Holmgren G. The epidemiology of diabetes in Swedish children 0-14 years-a six year prospective study. *Diabetologia* 1985; 28:802-808.
2. Ishihara H, Maechler P, Gjinovci A, Herrera PL, Wollheim CB. Islet beta-cell secretion determines glucagon release from neighbouring alpha-cells. *Nature Cell Biology*, 2003; 5:330-335.
3. Rhodin JAG. *Histology*. First Edition. Newyork: Oxford University Press, 1974;579-607.
4. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. *Histology A Text and Atlas*. Fourth Edition. Lippincott Williams&Wilkins 2003; 551-560.
5. Slack JMW. *Developmental biology of pancreas*. Development 1995;121:1569-1580.
6. Hebrok M. Hedgehog signalling in pancreas development. *Mech Dev* 2003;120: 45-57.
7. Kawaguchi Y, Cooper B, Gannon R, MacDonald MRJ, Wright. The role of the transcriptional regulator Ptf1a in converting intestinal to pancreatic progenitors. *Nat Genet* 2002; 32:128-134.
8. Deutsch G, Jung J, Zheng M, Lora J, Zaret KS. A bipotential precursor population for pancreas and liver within the embryonic endoderm. *Development* 2001;128: 871-881.
9. Wilson ME, Scheel D, German MS. Gene expression cascades in pancreatic development. *Mech Dev* 2003; 120:65-80.
10. Gerrish K, Gannon M, Shih D. Pancreatic b cell-specific transcription of the pdx-1 gene: the role of conserved upstream control regions and their hepatic nuclear factor 3b sites. *J Biol Chem* 2000; 275:3485-3492.
11. Morrison H. Contributions to the microscopic anatomy of the pancreas by Paul Langerhans (Berlin, 1869). *Bulletin of the Institute of the History of Medicine*, 1937;5:259-297.
12. Pictet RL, Rutter WJ. Development of the embryonic endocrine pancreas. *Handbook Physiol* 1972; 25-66.
13. Githens S. The pancreatic duct cell: Proliferative capabilities, specific characteristics, metaplasia, isolation and culture. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988; 7:486-506.
14. Hellerstrom C and Swenne I. Growth pattern of pancreatic islets in animals. In *The diabetic pancreas, 2<sup>nd</sup> edition* (ed.S.W. Volk). Plenum Pres, Newyork 1985; 53-79.
15. Hellerstrom C, Swenne I, Anderson. Islet cell replication and diabetes. In *The pathology of the endocrine pancreas in diabetes* (ed P.J. Lefebvre), Springer-Verlag, Berlin 1988; 142-170.
16. Jonsson J, Carlsson L, Edlund T, Edlund H. Insulin-promoter factor1 is required for pancreas development in mice, *Nature* 1994; 371:606-609.
17. Leonard J, Peers B, Johnson T, Ferreri K, Lee MR, Montminy S. Characterization of somatostatin transactivating factor-1, a novel homeobox factor that stimulates somatostatin expression in pancreatic islet cells, *Mol Endocrinol* 1993;7:1275-1283.
18. Miller CP, McGehee Jr RE, Habener JF. IDX-1: a new homeodomain transcription factor expressed in rat pancreatic islets and duodenum that transactivates the somatostatin gene, *EMBO J* 1994; 13:1145-1156.
19. Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, et al. O, In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue, *Proc Natl Acad Sci USA* 97 2000;7999-8004.
20. Ferber S, Halkin A, Cohen H, et al. Pancreatic and duodenal homeobox gene 1 induces expression of insulin genes in liver and ameliorates streptozotocin-induced hyperglycemia, *Nat Med* 2000; 6: 568-572.
21. Ohlsson H, Karlson K, Edlund T. IPF-1, a homeodomain - containing transactivator of insulin gene. *EMBO J* 1993; 12:4251-4259.
22. Jonsson J, Carlsson L, Edlund T, Edlund H. Insulin-promotor-factor 1 is required for pancreas development in mice. *Nature* 1994; 371:606-609.
23. Offield MF, Jetton TL, Lobosky PA, et al. PDX-1 is required for development of the pancreas and differentiation of rostral duodenum. *Development* 1996; 371:983-995.
24. Zaret KS. Molecular genetics of early liver development. *Annu Rev Physiol* 1996; 58:231-251.
25. Wu K, Gannon M, Peshavaria M, et al. Hepatocyte nuclear factor 3B is involved in pancreatic  $\beta$ -cell-specific transcription of pdx-1 gene. *Mol Cell Biol* 1997;17:6002-6013.

26. Ang S L, Wierda A, Wong D. The formation and maintenance of definitive endoderm lineage in the mouse: Involvement of the HNF3/fork head proteins. *Development* 1993;119:1301-1315.
27. Weinstein DC, Ruiz I, Altaba A, et al. The winged-helix transcription factor HNF-3 $\beta$  is required for notokord development in the mouse embryo. *Cell* 1994; 78:575-599.
28. Jacquemin P, Lemaigre FP, Rousseau GG. The Onecut transcription factor HNF-6 (OC-1) is required for timely specification of the pancreas and acts upstream of Pdx-1 in the specification cascade. *Dev Biol* 2003; 258:105-116.
29. Jonsson J, Carlsson L, Edlund T, Edlund H. Insulin-promoter factor-1 is required for pancreas development in mice. *Nature* 1994; 371:606-609.
30. Ahlgren U, Pfaff SL, Jessell TM, Edlund T, Edlund H. Independent requirement for ISL1 in formation of pancreatic mesenchyme and islet cells. *Nature* 1997; 385: 257-260.
31. Gu G, Dubauskaite J, Melton DA. Direct evidence for the pancreatic lineage: NGN3+ cells are islet progenitors and are distinct from duct progenitors. *Development* 2002; 129:2447-2457.
32. Marshak DR, Gardner RL, Gottlieb D. *Stem Cell Biology*. 1th edition. Newyork: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001; 499-513.
33. Sosa-Pineda B, Chowdhury K, Torres M, Oliver G, Gruss P. The Pax4 gene is essential for differentiation of insulin-producing B cells in the mammalian pancreas. *Nature* 1997; 386; 399-402.
34. Sander M, German MS. The B cell transcription factors and development of the pancreas. *J Mol Med* 1997; 75: 327-340.
35. St Onge L, Sosa-Pineda B, Chowdhury K, Mansouri A, Gruss P. The Pax gene is essential for differentiation of insulin-producing  $\beta$  cells in the mammalian pancreas. *Nature* 1997; 386:399-402.
36. Rutter GA. Nutrient-secretion coupling in the pancreatic islet beta-cell: Recent advances. *Molecular Aspects of Medicine* 2001; 22: 247-284.
37. Kulkarni RN, Holzenberger M, Shih DQ, et al. Beta-cell-specific deletion of the Igf1 receptor leads to hyperinsulinemia and glucose intolerance but does not alter beta-cell mass. *Nature Genetics*, 2002; 31: 111-115.
38. Kulkarni RN, Bruning JC, Winnay JN, Postic C, Magnuson MA, Kahn CR. Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic beta cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes. *Cell*, 1999; 96: 329-339.
39. Xuan S, Kitamura T, Nakae J, et al. Defective insulin secretion in pancreatic beta cells lacking type 1 IGF receptor. *Journal of Clinical Investigation*, 2002; 110; 1011-1019.
40. Gu G. Direct lineage tracing reveals the ontogeny of pancreatic cell fates during mouse embryogenesis. *Mech Dev* 2003; 120:35-43.
41. Levine F, Mercola M. No Pancreatic Endocrine Stem Cells? *Clinical Implication of Basic Research* 2004; 351:1024-1026.
42. VK Ramiya, M Maraist, KE Arfors, DA Schatz, AB Peck, JG Cornelius. Reversal of insulin-dependent diabetes using islets generated in vitro from pancreatic stem cells, *Nat Med* 2000; 6:278-282.
43. Gershengorn MC, Hardikar AA, Wei C, Geras-Raaka E, Marcus-Samuels B, Raaka BM. Epithelial-to-mesenchymal transition generates proliferative human islet precursor cells. *Science* 2004; 306:2261-2264.
44. Gershengorn MC, Geras-Raaka E, Hardikar AA, Raaka BM. Are better islet cell precursors generated by epithelial-to-mesenchymal transition? *Cell Cycle* 2005; 4:380-382.
45. Lechner A, Nolan AL, Blacken RA, Habener JF. Redifferentiation of insulin-secreting cells after in vitro expansion of adult human pancreatic islet tissue. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005; 327:581-588.
46. Ouziel-Yahalom L, Zalzman M, Anker-Kitai L, et al. Expansion and redifferentiation of adult human pancreatic islet cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006; 341:291-298.
47. Assady S, Maor G, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Skorecki KL, Tzukerman M. Insulin production by human embryonic stem cells, *Diabetes* 2001; 50:1691-1697.
48. Hori Y, Rulifson IC, Tsai BC, Heit JJ, Cahoy JD, Kim SK. Growth inhibitors promote differentiation of insulin-producing tissue from embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 16105-16110.
49. Kania G, Blyszczuk P, Czyz J, Navarrete-Santos A,



- Wobus AM. Differentiation of mouse embryonic stem cells into pancreatic and hepatic cells. *Meth Enzymol* 2003; 365: 287–303.
50. Kahan BW, Jacobson LM, Hullett DA, et al. Pancreatic precursors and differentiated islet cell types from murine embryonic stem cells. *Diabetes* 2003; 52: 2016–2024.
51. Stoffel M, Vallier L, Pedersen RA. Navigating the pathway from embryonic stem cells to beta cells. *Semin Cell Dev Biol* 2004; 15:327–336.
52. Blyszczuk P, Czyz J, Kania G, et al. Expression of Pax4 in embryonic stem cells promotes differentiation of nestin-positive progenitor and insulin-producing cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 998–1003.
53. Miyazaki S, Yamato E, Miyazaki J. Regulated expression of pdx-1 promotes in vitro differentiation of insulin-producing cells from embryonic stem cells. *Diabetes* 2004; 53: 1030–1037.
54. Lumelsky N, Blondel O, Laeng P, Vlesco I, Ravion R, McKay R. Differentiaion of embryonic stem cells to insulin-secreting structures similar to pancreatic islets. *Science* 2001; 292: 1398–1394.
55. Richards M, Tan S, Fong CY, Biswas A, Chan WK, Bongso A. Comparative evaluation of various human feeders for prolonged undifferentiated growth of human embryonic stem cells. *Stem Cells*, 2003; 21:546-556.
56. Rajagopal J, Anderson WJ, Kume S, Martinez OI, Melton DA. Insulin staining of ES cell progeny from insulin uptake. *Science* 2003; 299:363.
57. Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, et al. Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 2000; 32: 11–16.
58. Korbling M, Katz RL, Khanna A, et al. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral blood stem cells. *N Engl J Med* 2002; 346: 738.
59. Herzog EL, Chai L, Krause DS. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood* 2003; 102: 3483–3493.
60. Janus A, Holz GG, Theise ND, Hussain MA. In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *J Clin Invest* 2003; 111: 843–850.
61. Kofman A, Theise ND, Hussain MA. Paradigms of adult stem cell therapy for type 1 diabetes mellitus in mice. *Eur J Endocrinol* 2004; 150: 415–419.
62. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41–49.
63. Hess D, Li L, Martin M, et al. Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration. *Nat Biotechnol* 2003; 21: 763–770.
64. Shapiro AMJ, Jonathan BS, Lakey JRT, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 2000; 343:230-238.