

Kök Hücreler

STEM CELLS

 Hale ÖREN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, İzmir

ÖZ

Kök hücreler kendini yenileyebilen ve spesifik hücre tiplerine dönüşebilen farklılaşmamış hücrelerdir. Kök hücreler vücutta buldukları yere göre başlıca embriyonik kök hücreler ve erişkin kök hücreler olarak iki ana sınıfa ayrılır. Farklılaşma ve gelişme potansiyellerine göre ise kök hücreler totipotent, pluripotent, multipotent, oligopotent veya unipotent olabilirler. Çeşitli hastalıklarda tedavi amacıyla kullanılabilme ve rejeneratif tıptaki potansiyelleri nedeniyle embriyonik kök hücreler, indüklenmiş pluripotent kök hücreler, mezenkimal kök hücreler, hematopoietik kök hücreler ve kanser kök hücreleri ile farklı bilim alanlarında yapılmış çalışmalar vardır. Bu yazıda kök hücre tanımı, genel özellikleri ve klinikteki kullanımları üzerinde durulacaktır.

Anahtar Kelimeler: kök hücre, embriyonik kök hücre, indüklenmiş pluripotent kök hücre, mezenkimal kök hücre, hematopoietik kök hücre, kanser kök hücre

ABSTRACT

A stem cell is an undifferentiated cell that can self-renew itself and can commit to a specific cell type. Depending on their residency, stem cells are classified into two main categories as embryonic stem cells and adult stem cells. According to their differentiation and developmental potential, stem cells may be classified as totipotent, pluripotent, multipotent, and unipotent. The therapeutic potential in disease states and in regenerative medicine of embryonic stem cells, induced pluripotent stem cells, mesenchymal stem cells, hematopoietic stem cells, and cancer stem cells have been studied in different scientific areas. In this review, the definition, common characteristics, and clinical use of different stem cells will be discussed.

Keywords: stem cell, embryonic stem cell, induced pluripotent stem cell, mesenchymal stem cell, hematopoietic stem cell, cancer stem cell

Hale ÖREN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, 35340 İZMİR,
TÜRKİYE

 orcid.org/0000-0001-5760-8007

KÖK HÜCRE TANIMI VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Kök hücre terimi organizmanın tüm hücrelerinin köken aldığı, değişik hücre tiplerine farklılaşabilen, kendini yenileyebilme ve klon oluşturma özelliklerine sahip farklı yapı ve gelişim sürecindeki hücreleri kapsar (1-3). Kök hücreler vücutta buldukları yere göre başlıca embriyonik kök hücreler (EKH) ve erişkin kök hücreler olarak iki ana sınıfa ayrılır. Farklılaşma ve gelişme potansiyellerine göre ise kök hücreler totipotent,

pluripotent, multipotent, oligopotent veya unipotent olabilirler (3).

Sperm ve ovumun birleşmesi ile ortaya çıkan zigot tek başına tüm organizmayı ortaya çıkarabilecek genetik yapıya sahiptir. İşte bu tüm hücrelere dönüşme potansiyeline sahip ilk embriyonik hücreye "totipotent" hücre adı verilir. Yaklaşık beş-altı gün sonrasında oluşan 64-200 kadar hücreden oluşan hücre kitlesine blastosist denir ki içindeki hücreler vücuttaki tüm hücrelere

farklılaşabilse de tek başlarına bir organizmayı oluşturamazlar, bu nedenle “pluripotent” embriyonik kök hücreler olarak adlandırılırlar. Pluripotent kök hücreler blastosist aşamasındaki iç hücrelerden elde edilebilir ve endoderm, mezoderm ve ektoderm tabakalarını oluşturabilir. Biraz daha özelleşmiş kök hücreler erişkin kök hücrelerini oluştururlar, kaynaklandıkları dokuya ait hücreye farklılaşma yeteneği gösterirler. Mezenkimal kök hücre (MKH), hematopoietik kök hücre (HKH), nöronal kök hücre ve intestinal kök hücre “multipotent” erişkin kök hücrelerine örnek olarak gösterilebilirler (4,5). Her üç germ tabakasının türevlerine farklılaşmadıkları için pluripotent değildirler. Birkaç hücre tipine farklılaşabilen kök hücreler “oligopotent”, tek bir hücre tipine farklılaşabilen kök hücreler ise “unipotent” olarak adlandırılırlar (örnek: kas lifi çevresindeki satellit hücreler, epidermisi yenileyen kök hücreler). Unipotent olanları kök hücre olarak isimlendirmek yerine onları öncü (progenitör, prokürsör) hücre olarak değerlendirenler de vardır (2-5).

Kök hücreler embriyonik dönemde doku ve organların gelişmesini sağlarken daha ileri evrelerde doku ve organların korunması, yenilenme ve onarımında önemli rol oynarlar. Birçok doku için bu süreç hızlı ve kesintisizdir. Örneğin kan hücreleri sürekli kemik iliğinde bulunan hematopoietik kök hücrelerden farklılaşıp olgunlaşırken, bağırsak epitel hücreleri 3-4 günde bir kriptalarda yer alan bağırsak kök hücrelerinden yenilenir. Hücrede kendini yenileme hücrenin eskiyen kısmını onarma değil, kök hücre havuzunun yenilenmesi demektir. Kök hücreler gereken durumlarda geometrik olarak çoğalan geçici hücreleri oluştururlar. Kök hücrenin ilk asimetric bölünmesi sonucunda hücrelerden birisi tekrar kök hücre havuzuna dönerek kök hücre havuzunun sayıca azalmasını engeller. Kök hücreler asimetric olarak bölünürken sadece sitoplazma ve hücre zarı asimetrici değil, bölünen DNA yapısında da asimetrici gelişir. Çeşitli deneylerde kök hücrelerin kromozomlarının sentromer bölgelerinde yer alan bazı moleküler etiketlerin (immortal DNA kalıbı) bölünme sonucunda sadece yavru hücrelerden birisine aktarıldığı ve bu hücrenin kök hücre havuzunda kalacak olan kök hücre olduğu gözlemlenmiştir (3-6). Kök hücreler dokularda az sayıda bulunurlar, yaşam boyu sınırsız bölünürler. Genellikle bölünme hızları yavaştır ancak doku

kayıbı gibi durumlarda bölünme hızlarını en az iki katına çıkartırlar. Kök hücreler dokulardaki en uzun ömürlü ve kalıcı hücrelerdir ancak organizma yaşlanınca sayıları azalır, belli sayıdaki mitoz sonunda yaşlanıp ölürler. Kök hücrelerin klon oluşturma yetenekleri sayesinde tek bir kök hücreden çok sayıda yeni kök hücre ürer (3).

Erişkin kök hücrelerin ontogenezi günümüzde ilgi çeken araştırma konuları arasındadır. Örneğin, fetüste büyük yer tutan ve etkin olan bir erişkin kök hücre grubu, yetişkin organizmada oluşturduğu organ içinde küçük anatomik bir bölgede istirahat halinde bulunabilir. Bazı dokuların sadece bir tek tür kök hücresi olabileceği hipotezi ortaya konmuştur. Bu konuda dikkati çeken organlardan birisi bağırsak mukozasıdır. Elde edilen veriler LGR5+ kök hücrelerinin çevredeki tüm hücrelerin kökeni olabileceğini göstermektedir (3,5).

Kök hücrelerin karakterlerinin belirlenmesinde hücredeki kromatin modifikasyonlar ve epigenetik değişimler çok önemlidir. Kök hücreler hücre içi düzenleyici mekanizmalar ve mikroçevreden (niş) aldıkları sinyallerle dinlenme evresinde kalabilir, kendini yenileyebilir ve farklılaşma gösterebilir. Kök hücrelerin bu işlevlerinin sinyal ileti yolları, transkripsiyon faktörleri, hücre döngüsü düzenleyicileri ve miRNA'lar üzerinden kontrol edildiği gösterilmiştir. Kök hücrelerin farklılaşmasında ve kendini yenilemesinde LIF-STAT, MAP-ERK, PI3K ve Wnt gibi sinyal ileti yolları rol oynar. Kök hücrelerin farklılaşma sürecindeki hücre içi mekanizmalar arasında miRNA'lar ve Oct4, Sox2, Nanog gibi transkripsiyon faktörleri sayılabilir (7). Halen kök hücrelerin bölünme ile dinlenme arasındaki karar mekanizmaları, hangi koşullarda birden fazla hücre tipine farklılaşabildikleri, farklılaşma yönünü etkileyen unsurlar ve bunların moleküler mekanizmaları net olarak açıklanamamaktadır.

Kök hücrelerde farklılaşma her zaman ileri değil, geriye doğru da olabilir, kök hücrenin plastisitesi söz konusudur. Bir kök hücre köken aldığı dokunun dışında farklı bir dokuya farklılaşabilmektedir. Örneğin, ektoderm kökenli olan bir kök hücrenin in vivo ve/veya in vitro ortamda endoderm veya mezoderm kökenli hücrelere farklılaşmasının gösterilmesi bu hücrelerdeki plastisitesiyi

gösterir. Plastisitenin varlığından söz etmek için değişen hücrenin orijinal kökeni çeşitli hücre belirteçleri ile gösterilmiş olmalı, bulunduğu dokunun morfolojik özelliklerini taşıdığı anlaşılmalı ve bulunduğu doku ya da organın fonksiyonlarına sahip olmalıdır. Bir hücredeki DNA ifadesinin yeniden programlanabilmesi ve hücre içi ve dışındaki sinyallerin doğru kullanılabilmesiyle bir kök hücre başka bir kök hücreye farklılaştırılabilir, bu da tedavi için klinikte kullanılabilir (3).

KLİNİKTE İNSAN EMBRİYONİK KÖK HÜCRELERİ

EKH üç farklı kaynaktan elde edilebilir (4,8,9):

1. İn vitro fertilizasyon ünitelerinde kullanılmayan embriyolardan elde edilen EKH: Bu hücreler gerçek EKH veya fertil EKH olarak isimlendirilir. HLA tam uyumlu hücre serileri nadiren elde edilir, doku reddine neden olabilir. Tümör gelişme riski yüksektir.

2. Somatik nükleer transfer metoduyla elde edilen EKH: Yumurta hücre çekirdeği ince iğne ile çıkarılıp, onun yerine vücut somatik hücre çekirdeği transfer edilir; yeniden programlanan yumurta hücresi aktive edilip çoğalmaya bırakılır. Bu metotla elde edilen hücre nükleer transfer EKH olarak isimlendirilir.

3. Döllenenmemiş yumurta hücrelerinden parthenogenez ile elde edilen EKH: Bu hücrelere parthenogenetik EKH (pgEKH) denir. Elde edilen embriyoya parthenot denir (14). Döllenenmemiş memeli oositi, mekanik ve kimyasal etkenlerle uyarılarak in vitro koşullarda parthenogenetik aktivasyonla embriyonik olmayan blastosist oluşturulabilir. Oluşan blastosist iç hücre kitlesinden pluripotent pgEKH elde edilebilir. Virüs ve plasmidler kullanılmaz. Bu hücrelerde in vitro kendini yenileme özelliği ve klonojenik kapasite vardır; normal embriyonik ve ekstra embriyonik gelişim görülmez. HLA tam uyumlu hücre serileri kolayca elde edilir, doku reddi görülme oranı düşüktür. pgEKH ile tümör gelişme riski azdır.

Kök hücrelerin tedavide kullanımı söz konusu olduğunda güvenlik ön plana geçer. Embriyonik hücrelerin tedavide kullanımı ile tümör oluşumu veya mikrobiyal bulaş görülebilir (10,11). Üretilen ürünün kalitesi belli bir düzeyin üzerinde olmalıdır. Ülkemizde 2005 yılında

yayınlanan bir genelgeyle insan EKH'si ile ilgili araştırmalar durdurulmuştur. EKH dışındaki indüklenmiş hücrelerin klinik kullanımları "İnsan Doku ve Hücreleri ile Bunlarla İlgili Merkezlerin Kalite ve Güvenliği Hakkında Yönetmelik" ile kalite güvenliği açısından denetim altına alınmıştır. İdeal olarak, "İyi Üretim Uygulamaları" (Good Manufacturing Practices, GMP) kalitesindeki bir kültür ortamı kimyasal tanımlanmış kültür ortamı olmalı ve hayvan ürünü içermemelidir. Bu standartlara uygun insan deri fibroblastları üretilmesi, retinadaki pigment epitelinin oluşturulması, omurilik yaralanmalarında indüklenmiş kök hücrelerin kullanılması yapılan klinik çalışmalar arasında sayılabilir, ancak bazı çalışmalar çeşitli nedenlerle sonlandırılmıştır (3,4,12,13).

İNDÜKLENMİŞ PLURİPOTENT KÖK HÜCRELERİN (İPKH) KULLANIMI

İPKH'ler spesifik faktörler yardımıyla uyarılmış somatik hücrelerin pluripotent evreye yeniden programlanması sonucu oluşmaktadır (12,13). İlk olarak retroviral gen aktarım metodu ile Oct^{3/4}, Sox-2, Klf-4, c-Myc genleri kullanılarak fare cilt fibroblast hücreleri pluripotent kök hücreye dönüştürülmesi ile İPK hücresi elde edilmiştir (14). Bir yıl sonra aynı ekip insan cilt fibroblast hücrelerinden pluripotent İPKH'lerini geliştirmiştir (15). Vücut somatik hücreleri, üç temel metot kullanılarak pluripotent kök hücreye dönüştürülmüştür:

1. İlk kez Gurdon ve ark. kurbağa bağırsak epitel hücre çekirdeğini yumurta hücresine naklederek somatik nükleer transfer metodunu geliştirmiş ve kurbağa yavrusu elde etmiştir (16). Benzer bir metotla Wilmut ve ark. (17) memeli epitel hücresini klonlamış ve Dolly'nin doğumunu 1996 yılında rapor etmişlerdir.

2. Somatik hücre füzyonu metodu yeniden programlanmada kullanılan ikinci uygulama olup hücrenin farklılaşma kabiliyeti kazanmasını sağlamıştır (18).

3. Üçüncü yeniden programlama metodu ise bazı transkripsiyon faktörlerini kullanarak vücut somatik hücrelerinin pluripotent kök hücre haline dönüştürülmesidir (12,14,19).

İPKH'ler de morfolojileri, pluripotensi belirteçlerinin ekspresyonu ve kendini sınırsız yenileyebilme kapasitesi açısından EKH'lere benzemektedirler. İPKH'ler benzer pluripotent karaktere sahip olmalarına karşın terapötik kullanım açısından daha iyi bir kaynaktır. EKH'lerin izolasyonu, gelişimini tamamladığında yeni bir canlıya dönüşebilecek blastosistin yok edilmesine neden olduğundan, çeşitli etik ve yasal tartışmalara yol açmaktadır. İPKH'ler çok farklı orijindeki somatik hücrelerden elde edilebildiğinden kullanımına ilişkin etik ve yasal sınırlamalar bulunmamaktadır. EKH'lerin ayrıca doku uyumsuzluğu ve teratom oluşma riski gibi dezavantajları da vardır. Otolog farklılaşmış hücreler için sınırsız kaynak yaratan İPKH'ler doku rejeksiyonu durumunda klinik avantaj sağlarlar. Yeniden programlama işlemi kaynaklı artık DNA veya DNA integrasyonuna bağlı tümörojenite riski ve teratom oluşma riski İPKH'lerle de söz konusudur (12,19,20).

İPK hücre elde etmek için yapılan yeniden programlama işleminde farklı gen aktarım yöntemleri uygulanabilmektedir. Oct4, Sox2, Klf4, Nanog ve c-Myc gibi transkriptasyon faktörleri İPKH'nun yeniden programlama fonksiyonel sürecinde önemli rol oynarlar (18,21). Yeniden programlamada kullanılan hücreye aktarım viral (retrovirüs, lentivirüs, adenovirüs, sendai virüs) veya viral olmayan (çeşitli vektörler, miRNA, mRNA, protein ve küçük moleküller) yöntemlerle gerçekleştirilir. İPKH'lerin programlanma kalitesi ve pluripotensi düzeyleri teratom ve embriyonsu cisim oluşumu ile ölçülebilir. Pluripotensi immünohistokimyasal testler, RT-PCR, akım sitometri ve mikrodizin analizi, Oct4, Nanog, Sox2, Klf4, SSEA3/4 gibi belirteçlerin taranması ve alkalen fosfataz boyama ile değerlendirilebilir (12,21,22).

İlk İPKH hücrelerinin elde edilmesinden kısa süre sonra orak hücreli anemi, Fanconi anemisi, juvenil miyelomonositik lösemi, konjenital megakaryositik trombositopeni, kronik granülatöz hastalık gibi hematolojik hastalıklar, spinal kord yaralanması, amiyotrofik lateral sklerozis ve Parkinson gibi nörolojik hastalıklar, miyokard enfarktüsü gibi kardiyolojik hastalıklar ve genetik defektin saptandığı diğer bazı hastalıkların düzeltilmesi için iyi modeller oluşturulmuş; tip 1 diyabet, ADA eksikliği, talasemi majör, Gaucher

hastalığı, kas distrofi, astım ve işitme kayıpları diğer araştırılan hastalıklar arasında yer almıştır (4,12,22-31). Son yıllarda eritroid, megakaryosit ve miyeloid hücreler gibi kan ürünleri de elde edilmeye çalışılmaktadır (32). İPKH teknolojisinde hızlı ve umut veren gelişmeler olmasına rağmen, bu hücrelerin klinik uygulamasında bazı temel sorunlar devam etmektedir. Yeniden programlama sürecinin geliştirilmesi, epigenetik ve kromozomal aberasyonlara yol açmayacak farklılaştırma hücre kültürü çalışmalarının kullanılabilmesi, tüm İPKH'lerin istenilen hücre tipine farklılaştığının gösterilmesi ve daha kısa sürede daha ekonomik hücre serileri elde edilmesi beklenen gelişmeler arasında sayılabilir.

KLİNİKTE MEZENKİMAL KÖK HÜCRE KULLANIMI

MKH'ler erişkin tip kök hücrelerdir. Stromal kökenlidirler ve "destek hücresi" özelliği taşımaları nedeniyle tıbbın birçok alanında kullanım potansiyelleri vardır. Yağ, kemik, kırık, kas, tendon, ligament, sinir gibi hücrelere farklılaşabilirler (33-39). MKH'ler homojen bir topluluk olmayıp içerisinde değişik kök hücreleri de bulundurlar. Multipotent erişkin progenitör hücreler, multilineage uyarılabilir kök hücreler ve çok küçük embriyonik hücre benzeri kök hücreler bunlar arasında sayılabilir; bu kök hücrelerin klasik MKH ve hematopoietik kök hücrelerin öncülü oldukları düşünülmektedir. MKH'ler kemik iliği dışında kemik, kas dokusu, karaciğer, diş pulpası ve maksillofasial dokular, lipoaspirasyon materyalleri, kordon kanı, kordon stroması, plasenta ve zarları, endometriyum, amniyon sıvısı, sinoviyal sıvı, hatta mobilize periferik kandan izole edilebilirler. Farklı dokulardan elde edilebilen MKH'ler proliferasyon, differansiyasyon ve immunomodülatuar etkileri açısından incelendiğinde aralarında bazı farklılıklar saptanmıştır. Örneğin özellikle fetal membranlardan elde edilen MKH'lerin proliferasyon kapasitelerinin daha iyi olduğu ancak diferansiyasyon kapasitelerinin zayıf olduğu bulunmuştur. Ancak bu hücrelerin in vitro immunsupresif etkilerinin kemik iliği ve kordon kanı hücrelerinden daha iyi olduğu gösterilmiştir (40). Yetişkin organizmada MKH sayısı yaşla ters orantılı değişiklik göstermektedir.

Mezenkimal kök hücreler rejeneratif tıp için uygun hücrelerdir. İn vitro koşullarda uygun uyarımlarla

osteojenik, adipojenik, kondrojenik, miyojenik farklılaşma kapasitelerinin olduğu ve hematopoietik stroma oluşturabildikleri gösterilmiştir (41-43). Klinik deneyim en fazla hematopoietik kök hücre nakli alanındadır, MKH tedavisi akut greft versus host hastalığında ikinci sıra tedaviler arasına girmiştir (43-45). MKH'lerle ilgili kemik, kıkırdak, tendon ve kas tamirinde ortopedik, beta adacık hücrelerin rejenesyonunda endokrinolojik, kardiyovasküler hasarların giderilmesinde kardiyolojik amaçlı araştırmalar vardır. Kemik yenilenmesi ya da tamirinde MKH'nin kullanımı çok önemlidir; ancak olumlu etkilerini, güvenilirliğini, en uygun kaynak ve tedavi bölgesine uygulanma yöntemini belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Kardiyak tamirde MKH'nin istenilen bölgeye yerleşimi çok düşük ve tamir için yetersiz kaldığı, etkilerini daha çok parakrin olarak gerçekleştirdiği rapor edilmiştir (41,42). Yara iyileşmesi, oral patolojiler, diş implantları, periferik arter hastalığına bağlı iskemiler, iskemik inmeler, multipl skleroz başta olmak üzere bazı nöral hastalıklar, spinal yaralanmalar, retinal hastalıklar ve otizm tedavisinde de denenmiştir (41,46). Bazı uygulamalarda istenilen sonuca ulaşamamıştır, örneğin nöral hastalıklarda uygun uyaranlarla MKH'lerden nöronal morfolojide ve nöronal antijenleri taşıyan hücreler farklılaştırılsa da bu hücrelerin gerçek nöron özelliklerinde ve fonksiyonunda olduğu kanıtlanamamıştır (47,48). Bazı retinal hastalıklarda in vivo uygulamalar yapılmış olup, özellikle diabetik retinopatide faydalı olabileceği bildirilmiştir (49,50). Çalışmalardaki çelişkili sonuçlar nedeniyle MKH'nin standart diyabet tedavisinde uygulanabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Kronik karaciğer hastalıklarında MKH uygulamaları olmasına rağmen henüz insanlara uygulanması ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Akut respiratuvar distres sendromu ve kronik solunum yolu hastalıklarında MKH kullanımı olumlu sonuç verebilmektedir (51,52).

Klinik uygulamalarda MKH'ler sıklıkla intravenöz infüzyonla hastaya verildikten sonra mikroçevre koşullarına bağlı olarak nasıl bir karakter kazanacağı, proveya anti-enflamatuvar yanıt ortaya çıkaracağı iyi bilinmemektedir (46). Ayrıca, MKH olarak verilmesinde immün baskılayıcı özellik göstermesi beklenirken hastaya verildikten sonra farklılaşma gösterdiği takdirde bu

özelliğın aksi bir cevaba dönüşebileceği de tartışılmaktadır (27). MKH ile bir dokunun tamirinde sadece tamiri gerçekleştirilecek hücrelerin yerine geçmesi genellikle yeterli olmamakta, aktarılan bölgede çoğalabilmesi için özel büyüme faktörleri ve sitokinlerle etkileşebileceği bir yapıya da ihtiyaç duyulmaktadır (30). MKH'ler ile yeterince klinik deneyim kazanılmadan, hücre hazırlama metotları optimize edilmeden kullanımının potansiyel sakıncaları üzerinde durulmakta ve bu nedenle klinikte gerçekleştirilen çalışma sayısı beklenenin altında kalmaktadır.

KLİNİKTE HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE KULLANIMI

HKH'ler kemik iliği, kordon kanı ve mobilize edilmiş periferik kanda bulunurlar (3). Hücre seri belirteçleri yoktur (Lin-), ancak CD34+ hücrelerdir; kemik iliği hücrelerinin %0.5-5 kadarını oluştururlar. Erken progenitorlarda CD34+ bulunurken, olgun hücrelerde saptanmaz. Hematopoietik potansiyeli olan kök hücrelerin saflaştırılmasında kullanılan diğer önemli belirteçler arasında CD133, vasküler endotelial büyüme faktör (VEGF) reseptör 2, CD90 (Thy-1), CD117 (c-kit), CD164, CXC-kemokin reseptör 4 (CXCR-4), p-glikoprotein, Sca-1, AA4, CD45 sayılabilir. Kültür yöntemleri sayesinde kök hücreleri ve progenitor hücreleri en farklılaşmamıştan en olgun olana dek tanıma imkanı ortaya çıkmıştır. Hücre farklılaştıkça proliferasyon kapasitesi azalmakta, diferansiasyonu artmaktadır. HKH'den progenitor hücrelere, onlardan da kemik iliği aspirasyon yaymalarında morfolojik olarak tanımlanabilen prekürsör hücrelere farklılaşma olur. Prekürsör hücreler olgunlaşmalarını tamamlayarak periferik kan hücrelerini oluştururlar. HKH'ler nötrofil, monosit/makrofaj, bazofil/mast hücresi, eozinofil, eritrosit, trombosit, dendritik hücre, B ve T lenfositler, NK hücreleri gibi farklı olgun hücre tiplerini oluşturabilirler.

HKH'ler kendi kendini yenileyebilen, uzun süre hücre oluşturabilme kapasitesi olan, daha olgun hücrelere farklılaşabilme özelliklerine sahip multipotent erişkin kök hücreleridir. HKH'lerin gelişimi, kendi kendini yenilemeleri, farklılaşmaları, istirahatte kalmaları, periferik kana mobilize olmaları veya kök hücre nakli sonrasında

tekrar bulunduğu mikroçevre içerisine dönmeleri, çeşitli sitokin kombinasyonları, transkripsiyon ve büyüme faktörleri aracılığıyla sağlanmaktadır (53-56). Kemik iliğinde, MKH'lerden kaynaklanan osteoblast, fibroblast, adipozit gibi kemik iliği stroma hücreleri nişi oluştururlar; salgıladıkları sitokinler ve hücre adezyonuyla başlatılan hücreler arası sinyallerle HKH'lerin kendi kendilerini yenileme ve farklılaşmasını düzenlerler (54,56). Hematopoietik organlardan elde edilen kök hücrelerin, hematopoietik hücrelerden farklı olarak kemik, kırık, nöral hücreler, pnömositler, kas, deri, endotel, epitel hücreleri, hepatositler gibi hücreleri oluşturma kapasiteleri vardır (3). Hematopoietik hücreleri oluşturan dokularda HKH'ler yanısıra başka progenitor kök hücreler de yer alır:

1. Hemanjioblastlar: Damar endotel hücrelerinin prekürsörüdür.

2. MKH: Osteojenik, adipojenik, kondrojenik, miyojenik farklılaşma kapasiteleri vardır, hematopoietik stroma oluşturabilirler.

3. Erişkin kök hücreler: Ektodermal, endodermal, mezodermal kökenli hücrelerin çoğuna farklılaşabilirler.

HKH nakli bazı malign ve benign hastalıklarda günümüzde başarıyla uygulanan bir tedavi komponenti olmuştur. Otolog HKH nakli hastanın kendi HKH'lerinin kendisine verilmesiyle yapılır; hastaya yüksek doz kemoterapi vermeyi sağlar. Doku tipi uygun akraba veya akraba dışı vericilerden yapılan allojeneik HKH nakli günümüzde daha az toksik ve verimli hale geldiyse de %10-%30'a kadar düşürülebilmemiş transplanta bağlı mortalite yine de büyük sorun olmaya devam etmektedir. Hazırlık rejiminde indirgenmiş yoğunlukta kemoterapi, destek tedavilerdeki gelişmeler ve HLA tiplendirilmesindeki hassasiyet ile önemli ölçüde mortalite azalmasına rağmen, posttransplant gelişebilen greft versus hastalığı, hastalık tekrarı, azalan yaşam kalitesi ve ikincil kanserler önemli sorunları oluşturmaktadır. Haploidentik akraba vericiden yapılan HKH nakilleri mortalite ve komplikasyon gelişimi açısından riskli olsa da ülkemizde de başarıyla yapılmaya başlanmış, endikasyonu olan hastalarda kullanmaya başlanmıştır (53).

HKH klinik kullanımında diğer alanlarda kardiyoloji öne geçmiş, takiben nörolojik bilimler, karaciğer

rahatsızlıkları ve diyabet hastalığında kemik iliği veya periferik kan kaynaklı HKH'ler hastalara uygulanmıştır (53). By-pass operasyonu ile nekrotik sahadaki hasarlanmış hücrelerle kalp fonksiyonunu düzeltmek mümkün değildir. Bu alana yeni kan akımının sağlanması ve kalp kasının yenilenmesi için yeni hücre desteği yapılmaya çalışılmaktadır; bu amaçla koroner damara veya lezyon içine, by-pass operasyonuna ilave olarak otolog kemik iliği hücrelerinin verildiği araştırmalar vardır (57). Diğer yandan kemik iliği mononükleer hücrelerin alt gruplarından elde edilen MKH ve erişkin kök hücrelerin insan, fare ve ratlarda in vitro olarak nöron, oligodendrosit ve astrositleri oluşturabildikleri rapor edilmiştir (58,59). Lösemi veya immün yetmezlik nedeniyle erkek donörden kemik iliği nakli yapılan kadın hastaların beyinlerinde donör Y kromozomunun olduğu immünohistokimyasal incelemeler ve FISH ile gösterilmiştir (59). Farklı çalışmalarda letal dozda ışınlanmış dişi ratlara singeneik erkek ratlardan HKH nakli yapıldığında erkek donör kemik iliği kaynaklı hücrelerin dişi ratların karaciğerinde yamalandığı ve karaciğerin oval hücrelerine, bilier epitel hücrelerine ve hepatositlere diferansiye olduğu izlenmiştir (60,61). Kemik iliği kökenli hücreler in vivo pankreas adacık hücrelerine de farklılaşabilirler. Bir çalışmada, GFP+ erkek fare kemik iliği hücrelerinin dişi farelere naklinden 4-6 hafta sonra alıcı farelerin pankreas adacık hücrelerinden GFP+ hücreler izole edilmiş, alıcıdaki adacık hücrelerinin %1.7-3'ünün donör kaynaklı olduğu ve in vitro kültüre edildiklerinde kemik iliği kökenli hücrelerin normal morfolojide oldukları ve glukoz ve exendine (glukagona benzer bir peptid) cevaben insülin salgıladıkları saptanmıştır (62). Çalışmaların sayısı artsa da henüz standart klinik kullanım için veriler ve uzun dönem sonuçları yetersizdir.

KANSER KÖK HÜCRELERİ (KKH)

Kendini yenileyebilme ve farklılaşabilme özelliklerine sahip KKH varlığı, hastalarda tedaviye direnç ve nükse neden olabilmektedir. Bu nedenle son yıllarda çeşitli kanser türlerinde KKH'lerin tanımlanmasıyla bu hücrelerin yüzey belirteçleri, sinyal yolları, yerleşim yerleri ve mikroRNA (miRNA) ekspresyonlarına yönelik tedavi yaklaşımları gündeme gelmiştir (63-70). KKH'lerin çoğalma, kendini yenileme ve yayılmasında wnt/ β -catetin, hedgehog, notch,

hox ailesi, BMI-1, PTEN ve nodal/activin sinyal yolları gibi faktörler etkin rol oynamaktadır (64,66). Genellikle vasküler yapılara yakın yerleşim gösteren KKH nişlerinin anti-anjiogenik tedavi ile etkilenmesi, bu yapıların KKH'lerin yaşam, korunma, çoğalma ve farklılaşmasında önemli rol oynadığını göstermektedir (71,72). Ayrıca miRNA'ların KKH gelişiminde tümör supressör ve onkogenler üzerinden etkili olabileceği ve bazı anahtar genlerin sentezlenmesine yol açarak KKH'lerin kendini yenileme ve farklılaşma özelliği kazanmasını sağlayabildikleri gösterilmiştir (73,74). Günümüzde kanser kök hücrelerinin yüzey belirteçleri, sinyal yolları, yerleşim yerleri ve mikroRNA ekspresyonlarını hedefleyen çalışmalar devam etmektedir, gelecekte tedavide remisyonun sağlanmasında ve sağkalmın artırılmasında rol oynayabileceği düşünülmektedir.

SONUÇ

Halen kullanılan tekniklerin geliştirilmesi, GMP koşullarında hedef doku ya da hücrelere farklılaştırılması ve kullanılacakları hedef doku veya organlarla in vivo entegrasyonun sağlanması, tümör gelişiminin ve doku reddinin engellenmesi, daha kısa sürede kullanıma hazır hale getirilmesi ve maliyetin azaltılması gibi konularda problemlerin aşılması gerekse de kök hücrelerin kullanımıyla gelecekte farklı hastalıklarda tedavi temelli yaklaşımlar ve rejeneratif tıpta gelişmeler kaçınılmazdır.

KAYNAKLAR

- Schöler HR. The Potential of Stem Cells: An Inventory. In: Knoepffler N, Schipanski D, Sorgner SL ed. Humanbiotechnology as Social Challenge. London: Ashgate Publishing, 2007.
- Can A. Kök Hücre. In: Can A, ed. Kök Hücre Biyolojisi, Türleri ve Klinik Kullanımları. Ankara: Akademisyen Tıp Kitabevi, 2014.
- Can A. Kök hücrelerin genel özellikleri, embriyonik ve yetişkin kök hücrelere genel bakış. Hematolog 2014;4:238-254.
- Avçılar H, Saraymen B, Özturan OÖ, Köker MY. Embriyonik kök hücreler ve indüklenmiş pluripotent kök hücreler. Asthma Allergy Immunol 2018;16:1-10.
- Dulak J, Szade K, Szade A, Nowak W, Józkwicz A. Adult stem cells: hopes and hypes of regenerative medicine. Acta Biochim Pol 2015;62:329-337.
- Shinin V, Gayraud-Morel B, Gomès D, Tajbakhsh S. Asymmetric division and cosegregation of template DNA strands in adult muscle satellite cells. Nat Cell Biol 2006;8:677-687.
- Kiraz Y, Ünlü M, Yandım MK, Baran Y. Kök hücrelerin moleküler biyolojisi. Hematolog 2014;4:255-265.
- Tachibana M, Amato P, Sparman M, Gutierrez NM, Tippner-Hedges R, Ma H, et al. Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. Cell 2013;153:1228-1238.
- Daughtry B, Mitalipov S. Concise review: Parthenote stem cells for regenerative medicine: Genetic, epigenetic, and developmental features. Stem Cells Transl Med 2014;3:290-8.
- Blum B, Benvenisty N. The tumorigenicity of human embryonic stem cells. Adv Cancer Res 2008;100:133-158.
- Unger C, Skottman H, Blomberg P, Dilber MS, Hovatta O. Good manufacturing practice and clinical-grade human embryonic stem cell lines. Hum Mol Genet 2008;17:48-53.
- Kozan S, Öztuna A. İndüklenmiş pluripotent kök hücrelerin genel özellikleri ve temel kavramlar. Hematolog 2014;4:351-364.
- Ebben D, Zorniak M, Clark PA, Kuo JS. Introduction to induced pluripotent stem cells: advancing the potential for personalized medicine. World Neurosurg 2011;76:270-275.
- Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell 2006;126:663-676.
- Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell 2007;131:861-872.

16. Gurdon JB, Elsdale TR, Fischberg M. Sexually mature individuals of *Xenopus laevis* from the transplantation of single somatic nuclei. *Nature* 1958;182:64-65.
17. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997;385:810-813.
18. Miyazaki S, Yamamoto H, Miyoshi N, Takahashi H, Suzuki Y, Haraguchi N, et al. Emerging methods for preparing iPS cells. *Jpn J Clin Oncol* 2012;42:773-779.
19. Yamanaka S. A fresh look at iPS cells. *Cell* 2009;137:13-7.
20. Lee AS, Tang C, Rao MS, Weissman IL, Wu JC. Tumorigenicity as a clinical hurdle for pluripotent stem cell therapies. *Nat Med* 2013;19:998-1004.
21. Pei D. Regulation of pluripotency and reprogramming by transcription factors. *J Biol Chem* 2009;284:3365-3369.
22. Kim C. Disease modeling and cell based therapy with iPSC: future therapeutic option with fast and safe application. *Blood Res* 2014;49:7-14.
23. Inoue H, Nagata N, Kurokawa H, Yamanaka S. iPS cells: a game changer for future medicine. *EMBO J* 2014;33:409-417.
24. Greene WA, Kaini RR, Wang HC. Utility of induced pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelium for an in vitro model of proliferative vitreoretinopathy. *Adv Exp Med Biol* 2019;1186:33-53.
25. Dalvi S, Galloway CA, Singh R. Pluripotent stem cells to model degenerative retinal diseases: the RPE perspective. *Adv Exp Med Biol* 2019;1186:1-31.
26. Chen KH, Lin KC, Wallace CG, Li YC, Shao PL, Chiang JY, et al. Human induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cell therapy effectively reduced brain infarct volume and preserved neurological function in rat after acute intracranial hemorrhage. *Am J Transl Res* 2019;11:6232-6248.
27. Taga A, Dastgheyb R, Habela C, Joseph J, Richard JP, Gross SK, et al. Role of human-induced pluripotent stem cell-derived spinal cord astrocytes in the functional maturation of motor neurons in a multielectrode array system. *Stem Cells Transl Med* 2019; doi:10.1002/sctm.19-0147 [Epub ahead of print].
28. Mao SH, Chen CH, Chen CT. Osteogenic potential of induced pluripotent stem cells from human adipose-derived stem cells. *Stem Cell Res Ther* 2019;10:303.
29. Ke M, Chong CM, Su H. Using induced pluripotent stem cells for modeling Parkinson's disease. *World J Stem Cells* 2019;11:634-649.
30. Atkinson-Dell R, Mohamet L. Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Astroglia: a new tool for research towards the treatment of Alzheimer's disease. *Adv Exp Med Biol* 2019;1175:383-405.
31. Gintant G, Burridge P, Gepstein L, Harding S, Herron T, Hong C, et al. Use of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes in preclinical cancer drug cardiotoxicity testing: a scientific statement from the American Heart Association. *Circ Res* 2019;125:e75-e92.
32. Hansen M, von Lindern M, van den Akker E, Varga E. Human-induced pluripotent stem cell-derived blood products: state of the art and future directions. *FEBS Lett* 2019; doi: 10.1002/1873-3468.13599 [Epub ahead of print].
33. Dazzi F, Horwood NJ. Potential of mesenchymal stem cell therapy. *Curr Opin Oncol* 2007;19:650-1655.
34. Dazzi F, Ramasamy R, Glennie S, Jones SP, Roberts I. The role of mesenchymal stem cells in haemopoiesis. *Blood Rev* 2006;20:161-171.
35. Arthur A, Zannettino A, Gronthos S. The therapeutic applications of multipotential mesenchymal/stromal stem cells in skeletal tissue repair. *J Cell Physiol* 2008;218:237-245.
36. Lazarus HM, Haynesworth SE, Gerson SL, Rosenthal NS, Caplan AI. Ex vivo expansion and subsequent infusion of human bone marrow-derived stromal progenitor cells (mesenchymal progenitor cells):

- implications for therapeutic use. *Bone Marrow Transplant* 1995;16:557-564.
37. Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp Hematol* 2000;28:875-884.
 38. Atkinson SP. A Preview of Selected Articles. *Stem Cells Transl Med.* 2019;8:871-873.
 39. Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells* 2007;25:2739-2749.
 40. Karlsson H, Erkers T, Nava S, Ruhm S, Westgren M, Ringden O. Stromal cells from term fetal membrane are highly suppressive in allogeneic settings in vitro. *Clin Exp Immunol* 2012;167:543-555.
 41. Pansky A, Roitzheim B, Tobiasch E. Differentiation potential of adult human mesenchymal stem cells. *Clin Lab* 2007;53:81-84.
 42. van den Brink L, Grandela C, Mummery CL, Davis RP. Inherited cardiac diseases, pluripotent stem cells and genome editing combined - the past, present and future. *Stem Cells* 2019; doi: 10.1002/stem.3110 [Epub ahead of print].
 43. Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Götherström C, Hassan M, Uzunel M, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004;363:1439-1441.
 44. Miura Y, Yoshioka S, Yao H, Takaori-Kondo A, Maekawa T, Ichinohe T. Chimerism of bone marrow mesenchymal stem/stromal cells in allogeneic hematopoietic cell transplantation: is it clinically relevant? *Chimerism* 2013;4:78-83.
 45. Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, van Tol MJ, Contoli B, Zwaginga JJ, et al. Multiple infusions of mesenchymal stromal cells induce sustained remission in children with steroid-refractory, grade III-IV acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol* 2013;163:501-509.
 46. Sykova E, Forostyak S. Stem Cells in Regenerative Medicine. *Laser Ther* 2013;22:87-92.
 47. Tropel P, Platet N, Platel JC, Noël D, Albrieux M, Benabid AL, Berger F. Functional neuronal differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006;24:2868-2876.
 48. Volkman R, Offen D. Concise Review: mesenchymal stem cells in neurodegenerative diseases. *Stem Cells* 2017;35:1867-1880.
 49. Ezquer F, Ezquer M, Arango-Rodriguez M, Conget P. Could donor multipotent mesenchymal stromal cells prevent or delay the onset of diabetic retinopathy? *Acta Ophthalmol* 2014;92:e86-e95.
 50. Wu H, Mahato RI. Mesenchymal stem cell-based therapy for type 1 diabetes. *Discov Med* 2014;17:139-143.
 51. Shah TG, Predescu D, Predescu S. Mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles in acute respiratory distress syndrome: a review of current literature and potential future treatment options. *Clin Transl Med.* 2019;8:25-35.
 52. Cruz FF, Rocco PRM. The potential of mesenchymal stem cell therapy for chronic lung disease. *Expert Rev Respir Med* 2019;15:1-9.
 53. Arat M. Hematopoetik kök hücrelerin klinik kullanımı. *Hematolog* 2014;4:298-311.
 54. Uçkan Çetinkaya D, Kılıç E. Hematopoetik kök hücre ve mikroçevre ilişkisi. *Hematolog* 2014;4:284-297.
 55. Huang X, Cho S, Spangrude GJ. Hematopoietic stem cells: generation and self renewal. *Cell Death Differ* 2007;14:1851-1859.
 56. Suda T, Takubo K, Semenza, GL. Metabolic regulation of hematopoietic stem cells in the hypoxic niche. *Cell Stem Cell* 2011;9:298-310.
 57. Akar AR, Durdu S, Arat M, Kilickap M, Kucuk NO, Arslan O, et al. Five-year follow-up after transepicaldial implantation of autologous bone marrow mononuclear cells to ungraftable coronary territories for patients with ischaemic

- cardiomyopathy. *Eur J Cardiothorac Surg* 2009;36:633-643.
58. Özdemir M, Attar A, Kuzu I, Ayten M, Ozgencil E, Bozkurt M, et al. Stem cell therapy in spinal cord injury: in vivo and postmortem tracking of bone marrow mononuclear or mesenchymal stem cells. *Stem Cell Rev* 2012;8:953-962.
 59. Mezey E, Key S, Vogelsang G, Szalayova I, Lange GD, Crain B. Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. *PNAS* 2003;100:1364-1369.
 60. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999;284:1168-1170.
 61. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nature Medicine* 2000;6:1229-1234.
 62. Ianus A, Holz GG, Theise ND, Hussain MA. In vivo derivation of glucose-compentent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *J Clin Invest* 2003;111:843-850.
 63. Yu Z, Pestell TG, Lisanti MP, Pestell RG. Cancer stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2012;44:2144-2451.
 64. Sönmez M, Özbaş HM, Yüzbaşıoğlu Ş. Hedefe yönelik tedavide kanser kök hücreleri. *Hematolog* 2014;4:345-350.
 65. Tu LC, Foltz G, Lin E, Hood L, Tian Q. Targeting stem cells-clinical implications for cancer therapy. *Curr Stem Cell Res Ther* 2009;4:147-53.
 66. Hatina J. The dynamics of cancer stem cells. *Neoplasia* 2012;59:700-707.
 67. Chao MP, Alizadeh AA, Tang C, Jan M, Weisman-Tsukamoto R, Zhao F, et al. Therapeutic antibody targeting of CD47 eliminates human acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res* 2011;71:1374-84.
 68. Akbulut H, Babahan C, Abgarmi SA, Ocal M, Besler M. Recent advances in cancer stem cell targeted therapy. *Crit Rev Oncog* 2019;24:1-20.
 69. Scadden DT. The stem-cell niche as an entity of action. *Nature* 2006;441:1075-1079.
 70. Toh TB, Lim JJ, Chow EK. Epigenetics in cancer stem cells. *Mol Cancer* 2017;16:29-36.
 71. Mak AB, Schnegg C, Lai CY, Ghosh S, Yang MH, Moffat J, et al. CD133-Targeted Niche-Dependent Therapy in Cancer: A Multipronged Approach. *Am J Pathol* 2014;184:1256-1262.
 72. Su J, Zhang L, Zhang W, Choi DS, Wen J, Jiang B, et al. Targeting the biophysical properties of the myeloma initiating cell niches: a pharmaceutical synergism analysis using multi-scale agent-based modeling. *PLoS One* 2014:e85059.
 73. Sassen S, Miska EA, Caldas C. MicroRNA: implications for cancer. *Virchows Arch* 2008;452:1-10.
 74. Liu S, Clouthier SG, Wicha MS. Role of microRNAs in the regulation of breast cancers stem cells. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2012;17:15-21.