

# Kök Hücre Plastisitesi ve Klinik Pratikte Kök Hücre Tedavisi

**Fahri ŞAHİN, Güray SAYDAM, Serdar Bedii OMAV**  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, İZMİR

## ÖZET

Dokuların, sınırlı farklılaşma özellikleri de olsa kendilerine ait kök hücrelerinin var olduğu ve klinik uygulamalara girdiği son 10 yıldır bilinmektedir. Pekçok yeni çalışma erişkin dokularda da çok yönlü farklılaşma özelliği gösteren hücrelerin varlığını bildirmektedir. Kök hücreler özellikle iyileştirici-yenileştirici tıbbi uygulamalardaki potansiyel rolleri nedeniyle araştırılmaktadır. Erişkin kök hücrelerinin uygun ortam şartlarında uygun uyarılarla farklı doku ve hücrelere dönüşebildiğini gösteren pekçok çalışma vardır ve bu olaya transdiferansiyasyon ya da plastisite adı verilmektedir. Özellikle normal şartlarda hassas ve kendi kendini yenileme özelliği olmayan, nöronlar ve kalp kası gibi dokuların kök hücre uygulamaları ile tamirinin mümkün olması gelecekte umut vaadeden tedavi uygulamaları arasındadır. Bu derleme yazımızda kendi klinik tecrübelerimiz eşliğinde kök hücre hakkındaki son gelişmeler ve klinik uygulamalar konusundaki güncel yaklaşımlardan bahsettik.

**Anahtar Kelimeler:** Erişkin kök hücre, Plastisite, Klinik uygulamalar

## ABSTRACT

### **Stem Cell Plasticity and Stem Cell Treatment in Clinical Practice**

It has been known for decades that stem cells with limited differentiation potential are present in post-natal tissues of mammals, and adult stem cells are already clinically. Recent studies report that adult tissues might contain cells with pluripotent characteristics. Stem cells are being investigated for their potential use in regenerative medicine. A series of remarkable studies suggested that adult stem cells undergo novel patterns of development by a process to as trans-differentiation or plasticity. Especially repairing the vulnerable and normally non-regenerative tissues and organs such as neurons and heart tissue by stem cells are going to be promising treatment modalities in the future. In this review article, we summarized the recent developments in stem cell characteristics and practical application in clinical area by using our own institutional experience.

**Key Words:** Adult stem cells, Plasticity, Clinical applications

## KÖK HÜCRE TARİHÇESİ

Kök hücre, bir canlının vücudunda çok uzun bir süre bölünmeye devam ederek kendini yenileyebilen ve bu sayede farklılaşmış hücreler oluşturabilen farklılaşmamış hücrelere verilen addır. Bir başka deyişle farklı hücre tiplerine dönüşebilme potansiyeline ve kendisini yenileyebilme gücüne sahip olan hücrelere kök hücre denir. Vücudumuzdaki kas, karaciğer, cilt hücreleri gibi hücrelerin hedefleri bellidir ve bu hücreler bölündükleri zaman yine kendileri gibi bir hücre oluştururlar. Oysa kök hücrelerin bu hücrelerden farklı olarak belirlenmiş bir fonksiyonları yoktur. Bu yüzden aldıkları sinyallere göre farklı hücre tiplerine dönüşebilirler. Bunu belirleyen en önemli etkenler de genler ve dış uyaranlardır. Vücudumuzdaki herhangi bir hücre grubunda ölüm ya da hasar meydana gelince kök hücreler hangi hücreye ihtiyaç varsa o hücreye dönüşüm gösterirler.

Sperm ile ovumun birleşmesi ile ortaya çıkan zigot tek başına tüm organizmayı meydana getirebilecek genetik bilgiye ve güce sahiptir. Bu, tüm hücrelere dönüşebilme potansiyeline sahip ilk embriyonel hücreye “totipotent” hücre denir. Döllenmeyi takiben ilk 4-5 gün içerisinde bu hücreler aynı güce sahip olup herbiri tek başına bir organizma meydana getirebilme yeteneğinde hücrelerdir. Yaklaşık 5 gün sonrasında yani 2-3 bölünme sonrasında oluşan hücre kitlesine de blastosist denir ki bu kitle (iç hücre kitlesi) içindeki hücreler de vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilme yeteneğine sahiptir. Ancak bu hücreler tek başlarına bir organizmayı oluşturamazlar. Bu nedenle bu hücrelere “puliripotent” hücre denir. Bu aşamadan sonra hücreler daha özel fonksiyonlara sahip olmakta ve erişkin kök hücreleri oluşturmaktadırlar. Biraz daha özelleşmiş olan bu kök hücrelere ise “multipotent” hücre denmektedir. Buna en iyi örnek hem çocukluk döneminde hem de erişkin dönemde kemik iliğinde bulunan hematopoetik kök hücrelerdir. İnsan vücudunda ancak birkaç hücre türüne dönüşebilen bu hücreler, laboratuvar koşullarında gerekli destekleyici ortam ve sinyaller sağlandığında çok daha fazla hücre türüne dönüşebilmektedir. Bu bilgiler ışığında, insanlık tarihi boyunca sorulmuş olan şu soru tekrar gündeme gelmiştir: “Hasara uğramış bir organın fonksiyonlarını restore etmenin, onun yerine yenisini koymaktan daha iyi bir yolu var mıdır?”

Tarih boyunca transplantasyon düşüncesi bu soru üzerine yoğunlaşmış olup sfenksler, deniz-kızları ve kantaronlar mitolojide birer zenotransplantasyon örneği olarak yerini almıştır. Mitolojide ateşi Olimpos Dağından, tanrılardan çalarak insanlığa hediye etmesi üzerine Zeus tarafından cezalandırılan Prometheus’un hikayesi de buna bir örnektir. Zeus tarafından Kafkas (Kaf) dağında bir kayaya bağlanarak karaciğerinin hergün bir kartal tarafından yenmesi şeklinde bir cezaya çarptırılan Prometheus’un karaciğeri hergün kendisini yenilmektedir. Bu, karaciğer hücresinin rejenerasyon yeteneği ve dolayısı ile kök hücre kavramını ortaya koyan ilk hikayedir. Yüzyıllar sonra bu transplantasyon fantezisi ve teknolojisi, tıbbi bir profesyonelin eline geçerek klasik edebiyatın bir uç örneğini oluşturacak şekilde Mary Shelley’in Frankenstein romanına malzeme olmuştur.

Bugünün kök hücre tedavisi üzerine dünyada belki de ilk çalışmaları yapan, insan ömrünü uzatmanın yolunun, doğum sonrası atılan plasentalarda, kordon hücrelerinde olduğunu söyleyen araştırmacı Prof.Dr.Süreyya Tahsin Aygün’dür. 1950-1960’lı yıllarda kendisi hayvanlarda fetal greftler ve kordon kanı greftleri ile çeşitli hastalıkların tedavisinde araştırmalar yapmış ve almanca tıp dergilerinde yayınlamıştır.

İlk olarak 1967 yılında tanımlanan embriyonel karsinoma hücrelerinin kültür ortamında çoğaltılması da bu alanda ileri doğru atılmış önemli bir adımdır ve o zamandan beri insan ve fare teratokarsinomlarından çok sayıda hücre serisi tanımlanmıştır. Bu hücrelerin diferansiyasyonu; embriyoid cisimcikler olarak adlandırılan embriyobenzeri oluşumların meydana gelmesiyle sonuçlanan hücre agregasyonu ile gelişir. Söz konusu embriyoid cisimcikler ilk olarak, embriyonel karsinomlu farelerin asit sıvılarında gözlenmiştir. Bu hücrelerin, gelişimsel biyologlar için de önemli bir model oluşturdukları, çünkü in-vitro diferansiyasyon paternlerinin, embriyogenezin çeşitli yönlerini açıkladığı ve 3 germ tabakasının tümünü temsil edici hücrelerin oluşumu ile sonuçlandığı görülmektedir.

Aynı zaman döneminde; in vitro fertilizasyon kliniklerinden alınan fazla embriyolar kullanılarak insan embriyonik kök hücrelerinin üretilmesine yönelik çalışmalar da başlamıştır. Bu çalışmalar

başlangıçta başarısız olmuş ancak pre-implantasyon blastosistlerinden izole edilen hücrelerde diferansiyasyonu incelemek için yapılan bir teşebbüste tavşan embriyo hücreleri kültür ortamına getirilebilmiştir. 1998’de ilk insan embriyonik kök hücreleri kültüre edilebilmiştir. Aynı zaman diliminde, insan primordial germ hücrelerinden embriyonik germ hücreleri elde edilmiştir. Bu kök hücrelerin gelecekte hastalık tedavisi için kullanılabilir olması büyük bir heyecan yaratırken, henüz çözümlenmemiş etik sorunlar ciddi bir direnç yaratmıştır. Bu hücrelere karşı gösterilen etik reaksiyonlar sonucu, erişkin kök hücreleri ile ilgili çalışmalar da yoğunlaşmış ve bu hücrelerin belirgin plastisiteleri “kemik iliğinden kas”, “beynin kana çevrilmesi”, “kanın beyne çevrilmesi” gibi başlıkların görülmesine neden olmuştur. Bu ilk çalışmalardan sonra erişkin ve embriyonik kök hücrelerle ilgili çok sayıda yayın ortaya çıkmıştır. Bunların hepsi aynı amacı taşımaktadır: “kök hücre esaslı tedavi”(1).

## **KÖK HÜCRE PLASTİSİTESİ**

Temelde gerçek kök hücre tanımını oluşturan prensipler şunlardır: 1- Kendi kendini yenileyebilme yeteneği ya da başlangıçtaki hücrenin karakterlerini taşıyan en az bir benzer hücre oluşturabilme yeteneği (self-renewal), 2-Tek bir hücreden birden fazla seri hücrelerine farklılaşabilme (multi-lineage differentiation), 3-Belli bir dokunun in-vivo fonksiyonel rekonstrüksiyonu (2). İlk olarak farelerden ve daha sonra da insan-dışı primatlardan ve çok daha yakın bir zaman önce insan blastosistlerinden elde edilen embriyonik kök hücreler (EKH) bu temel prensiplerin tümüne uymaktadır. Erişkin kök hücrelerin büyük bir bölümü, self-renewal ve diferansiyasyon potansiyellerinin Embriyonik kök hücrelerindeki kadar düşük derecede olmasına karşın bu kriterlere uymaktadırlar. Üzerinde en iyi çalışılmış erişkin kök hücreler olan Hematopoietik kök hücreler (HKH) en azından in vivo olarak self-renewing (kendi-kendini yenileyen) hücre bölünmelerine uğramakta, tek hücre düzeyinde bütün matür kan elemanlarına diferansiyasyon olabilmekte ve myeloablasyona uğramış bir insanın veya hayvanın kemik iliğini yeniden popüle edebilmektedir. Diğer erişkin kök hücreler ise daha yakın zamanlarda

tanımlanmışlardır ve bu nedenle de üzerlerinde daha az çalışılmıştır. Bununla beraber nöronal kök hücreler (NKH), mezenkimal kök hücreler (MKH) ve epidermal kök hücreler yukarıda açıklanan temel kriterlere uymaktadırlar. Korneal kök hücreler ve angioblastlar ya da endoteliyal kök hücreler olarak adlandırılan diğer kök hücreler de tek bir diferansiyasyon hücre tipine diferansiyasyon olabilmeleri özelliklerinin dışında bu kriterlere uymaktadırlar (3).

Son yıllarda; belli bir dokudan alınan hücrelerin farklı bir dokuya diferansiyasyon olabilmeleri özelliği gösterdiğini bildiren çalışmaların sayısı giderek artmıştır ve bu çalışmalar, “kök hücre plastisitesi” çatısı altında toplanmışlardır. Kök hücre plastisitesi; bir hücrenin köken aldıkları dokuların dışındaki dokulara diferansiyasyon olabilmeleri özelliğini tanımlamaktadır. Bunun örnekleri arasında endotele, kas hücrelerine, kalp kasına ve hepatositlere dönüşebilen kemik iliği kökenli hücreler ve hatta purifiye edilmiş hematopoietik kök hücreler bulunmaktadır.

## **Hematopoietik Kök Hücre Plastisitesi ve Hematopoietik Kök Hücre ile İlgili Çalışmalar**

Hematopoietik kök hücre diferansiyasyonunun dokuya sınırlı olduğu bilgisinin değişmesi ve sadece hematopoietik hücrelere değil ama aynı zamanda iskelet kasına, kalp kasına, endotele, nöroektoderme, cilt epiteline ve endodermal hücrelere (hepatositler, gastrointestinal sistem epiteli ve akciğer epiteli) diferansiyasyonun tanımlanması ile birlikte plastisite kavramı ortaya çıkmıştır. Hematopoietik kök hücrelerin iyi bilinen diferansiyasyon şemasında en üstte “hematopoietik kök hücre”, ortada bir hücre dizisi oluşturmak üzere yolu çizilen “transit hücreler” ve en sonda “terminal diferansiyasyonu olan hücreler” bulunur. Bu dönüşümün gerçekleştiğini kanıtlamak için yani plastisiteden bahsedebilmek için 3 koşul gerekmektedir: Birincisi değişen hücrenin orijini hücre markırları ile belirlenmelidir, ikincisi, değişen hücrenin bulunduğu dokunun morfolojik parçası olduğu gösterilmelidir ve üçüncüsü, değişen hücre bulunduğu dokunun ya da organın fonksiyonlarını edinmelidir.

Erişkin kök hücre plastisitesini bildiren çalışmaların %80’den fazlası bugüne dek kemik iliği (Kİ) yada hematopoietik kök hücrelerden

zenginleştirilmiş olan Kİ veya periferik kan kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaların tümünde taze Kİ veya periferik kan hücreleri önceden in vivo kültürleri yapılmadan transplante edilmişlerdir. Bu nedenle plastisite özelliği olan hücrelerin kendini yenilemeye uğrayıp uğramadığı sorusu değerlendirilememiştir. Üstelik, greftlenen hücrelerin sekonder alıcılara yeniden-transplante edilmemiş olması da in vivo olarak plastisite özelliğine sahip olan hücrenin self-renewal özelliğinin değerlendirilmesini engellemiştir. Bu çalışmaların istisnaları; tek hücrenin hematopoiezi yeniden başlattığı ve bu şekilde in vivo olarak HKH self-renewal'ını düşündürdüğü Krause ve arkadaşları (4) ile Grant ve arkadaşları (5) tarafından gerçekleştirilen çalışmalardır. HKH'den zenginleştirilmiş fare Kİ hücrelerinin sistemik enjeksiyonunun ardından hepatositlerin fonksiyonel olarak replase olduklarını gösteren bir çalışma Lagasse ve arkadaşları (6) tarafından gerçekleştirilmiş ve bu alana ışık tutan önemli bir çalışma olmuştur. Bu çalışmada kullanılan hayvan modeli, fumaril asetoasetat hidrolaz (FAH) enzimini kodlayan genin delesyonu sonucunda meydana gelen herediter tirozinemi modeli idi. Bu mutasyonun letal olmasına karşın, hayvanlar FAH'ın akım yönünde bulunan (upstream) 4-hidroksifenilpiruvat dioksigenaz enzimini inhibe eden 2-(2-nitro-4-florometilbenzoil)-1,3-sikloheksandione (NTBC) verilmesiyle hayatta tutulabilmektedir. Lagasse ve arkadaşları wild-type Kİ ya da HKH'den zenginleştirilmiş wild-type Kİ'lerle transplantasyon uygulanan hayvanların NTBC tedavisinden kesilebileceklerini ve donör Kİ ve HKH'lerinin, diğer türlü letal olan fenotipi kurtarma açısından fonksiyonel olması gereken hepatositlerin fenotipik karakterlerini taşıyan hücrelere diferansiye olduklarını göstermişlerdir (6,7). Orlic ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer önemli çalışmada araştırmacılar, bir fare myokard iskemisi modelinde infarktüse uğramış olan alanda HKH'den zenginleştirilmiş greftlemenin, Kİ'nden köken alan ve immatür kardiomyositlerin karakterlerini taşıyan hücrelerin greftlenmesine yol açtığını göstermişlerdir. Ayrıca, kardiyak fonksiyonlarda belirgin bir iyileşme gözlenmiştir (8).

Bjornson ve ark. erişkin fare beyninden nöronal kök hücreleri izole ettiler ve uygun büyüme faktörleri ile in vitro ortamda onları çoğalttılar ve intra-

venöz olarak radyasyona maruz kalmış farelere enjekte etmişlerdir. Yapılan inceleme sonucu nöronal kök hücrelerin hematopoietik yeniden yapılanmayı sağladığını gösterdiler ki bu çalışma; nöroektodermal kökenli kök hücrelerin mezodermal kökenli hematopoietik hücreleri oluşturduğunu göstermesi bakımından değerlidir (9). Yine Clarke ve ark. fare beyninden elde edilen nöronal kök hücrelerin, blastosiste enjeksiyonundan sonra her 3 germ yaprağını oluşturabildiğini göstermişlerdir (10).

### **Mezenkimal Kök Hücre ile İlgili Çalışmalar**

Kemik iliği oluşturan bir diğer hücre grubu da MKH'lerdir. MKH'ler, çok sayıda pasaj boyunca ex-vivo olarak kültürde üretilmekte ve tek hücre düzeyinde osteoblastları, kondroblastları, adipositleri, fibroblastları ve iskelet myoblastlarını da içeren mezodermal hücrelere diferansiye olabilmektedirler (2,11). MKH'ler in vivo olarak kullanıldıklarında yukarıda sayılan hücre tiplerinin aynı dizisine diferansiye olabilmektedir (12). Çok sayıda yeni çalışma MKH'lerin; mezoderminden dışarıda kalan endotel, nöroektoderm ve endoderm de dahil olmak üzere çok çeşitli hücrelerin karakterlerini kazanabileceklerini bildirmektedir. MKH'lerin kullanıldığı tüm çalışmalarda in-vitro olarak çok sayıda pasajdan geçirilerek kültürü yapılmış hücreler kullanıldığı için bu çalışmalar, plastisitesi olan hücrelerde kendini-yenileme özelliğinin de olduğunu göstermektedir(2). Horwitz ve ark. osteogenezis imperfektalı 3 çocuğa allojenik match sibling tüm kemik iliğini içeren transplantasyon yaptılar. 3 çocukta da transplantasyonu izleyen ilk 6 ayda kırık sayısında anlamlı azalma meydana geldiğini gözlemişlerdir. Aynı ekip osteoartozlu hastalara MKH'leri intraartiküler vermişler, hastalarda klinik düzelme olmamasına karşın sinoviyal biyopsi değerlendirmesinde olumlu gelişmeler tespit etmişlerdir (13).

### **Erişkin Hematopoietik Kök Hücrenin Kalp Kası Hücrelerine Diferansiyasyonu**

Orlic ve ark. seçilmiş hematopoietik kök hücreleri (GFP-Yeşil Flöresan Protein- ekspres eden ve lin-, c-kit + ve lin-, c-kit-) koroner arterleri bağlanarak miyokard infarktüsü yapılan farelerin nekrozlu miyokard alanı çevresine enjekte etmişlerdir. Enjeksiyondan 9 gün sonra c-kit +, lin-hücrelerin enjekte edildiği nekrozlu alanın

%68'inde myokardın her 3 katının rejenerasyonunu göstermişlerdir. Ancak c-kit-,lin- hücrelerin enjekte edildiği farelerde myokarda rejenerasyon görülmemiştir. Bu anatomik rejenerasyon ile kalp fonksiyonları hem sistolik (%40 artış) hem de diyastolik (%36) olarak belirgin düzelmiştir. Ayrıca myokard rejenerasyonuna ek olarak endokard ve damarların da eş zamanlı rejenerasyonu görülmüştür (14).

Yine Orlic ve ark. tarafından yapılan diğer bir çalışmada, G-CSF ve kök hücre faktörü (SCF) kullanılarak c-kit+,lin- hücreler periferik dolaşıma çıkarılmış ve dolaşımda artan bu hücrelerin nekrotik myokardın tamirine yol açması sağlanmıştır. Sitokinle mobilize edilen farelerin %70'i post transplant 27 gün yaşamış ve nekroz alanı %40 küçülmüş, kavite dilatasyonu %26, diyastolik stres %70 azalmıştır (15).

Kocher ve ark. da G-CSF ile stimüle edilen CD34+ kök hücreleri intravenöz olarak ratlara enjekte etmişlerdir. Enjeksiyon sonrası nekroz alanı çevresinde neovaskülarizasyon ve anjiogenezin olduğunu göstermişlerdir (16).

Klinik olarak yapılan çalışmalardan biri Strauer ve ark.'na aittir. Bu çalışmada kemik iliği hücreleri intrakoronar enjekte edilerek infarkt sahasında küçülme, ventriküler fonksiyonlarda ve myokardiyal perfüzyonda düzelleme saptanmıştır. Bu çalışmada kök hücre infüzyonundan önce balon anjioplasti ve stent uygulaması ve koroner arter bypass operasyonu yapılmıştır (17).

İngiliz çalışma grubu tarafından yapılan bir diğer çalışmada; myokard infarktüsü geçirmiş ejeksiyon fraksiyonları (EF) düşük, 14 hastaya koroner arter by-pass operasyonu sırasında kendi sternumlarından alınan kemik iliği hücreleri myokardın skar alanına enjekte etmişlerdir. Operasyon öncesi, operasyondan 6 hafta sonra ve 10. ayda dobutaminli stres EKO uygulanarak hücresele kardiyomyoplastinin bölgesel ve global olarak sol ventrikül fonksiyonları üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda da hem bölgesel hem de global duvar hareketlerinde iyileşme ile kardiyak fonksiyonlarda artış sağlanmıştır. Ayrıca 10 aylık takip süresi boyunca hiçbir hastada ventriküler aritmi gözlenmemiştir (18)

Yirmi hasta üzerinde otolog progenitör hücrelerin intrakoronar infüzyonu ile yapılan bir çalışmanın

(TOPCARE-AMI) ilk sonuçları yayınlanmıştır. Bu çalışma dahilinde ST segment elevasyonlu infarktüs geçiren ve akut koroner reperfüzyonlu stent uygulanan hastaların 9'una kemik iliği kaynaklı, 11'ine ise periferik kan kaynaklı progenitör hücrelerin intrakoronar infüzyonu yapılmıştır. Global sol ventrikül EF'sinde belirgin artış, infarkt alanında duvar hareketlerinde belirgin iyileşme, sol ventrikül end-diyastolik volümünde azalma ve remodeling üzerine yararlı etkiler gözlenmiştir. Bunların yanısıra pozitron emisyon tomografisi (PET) ile değerlendirilen infarktli segmentlerde myokardiyal canlılığın belirgin olarak arttığı saptanmıştır (19).

### **Kardiyoloji Alanında Kök Hücre Tedavisi ile İlgili Ege Üniversitesi Deneyimi**

Myokarda myosit oluşumunu sağlayacak hücre nakilleri günümüzde kalp nakli dışında tedavi alternatifi olmayan hasta grubu için en umut verici yoldur. Farklı kaynaklardan hücre nakilleri ile ilgili çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir. Allojeneik veya ksenojenik fetal kardiyomyosit nakli deneysel çalışmaları devam etmekte ve önemli immün ve etik sorunlar taşımaktadır. Ototransplantasyonda ise etik ve immün sorunlar söz konusu değildir. Bu amaçla transforme iskelet myoblastları, düz kas hücre nakilleri deneysel olarak çalışılmış ve myokard fonksiyonlarını iyileştirdikleri gösterilememiştir. Son yıllarda kök hücre biyolojisi ile ilgili çok miktarda araştırma yayınlanmıştır. İn vitro ve hayvan çalışmalarıyla farklı kaynaklardan elde edilen kök hücrelerin uygun koşullar altında transdiferansiyasyon gösterebildiği kanıtlanmıştır. Klonlama çalışmaları farklı embriyonal katları kat edebilen transdiferansiyasyon potansiyeline sahip hücrelerin hematopoietik doku, sinir dokusu, karaciğer ve kas dokusunda bulunabildiğini ortaya koymuştur. Özellikle insan blastosit hücrelerinin farklı dokulara diferansiyasyon potansiyelleri en yüksektir. Etik sorunlar sebebiyle bu hücreler kullanılamamaktadır. Blastosit hücrelerine yakın proliferasyon ve transdiferansiyasyon kabiliyetine sahip olan hücreler erişkin hematopoietik kök hücrelerdir. Uygun koşullar altında kültüre edildiklerinde iskelet kası ve myokard hücrelerine farklılaşabilirler. Hayvan infarkt modellerinde otolog hematopoietik hücrelerin myokard rejenerasyonunu sağladığı gös-

terilmiştir. Ege Üniversitesi Kalp Damar Cerrahisinden Özbaran; Omay, Nalbantgil ve ark ile kalp nakli bekleyen 'no-hope patient' hasta grubundan 6 hastada uyguladığı otolog hematopoietik kök hücre transplantasyonu çalışması bu alanda konjestif kalp yetmezliğindeki ilk insan çalışması olup birçok çalışmaya öncülük yaparak yeni bir pencerenin açılmasına neden olacaktır.

35-65 yaş arasında, sistemik hastalığı olmayan EF<%25 , NYHA Class 3-4 olan hastalar çalışmaya alınmıştır. Hastalar çalışmaya alınmadan önce Talyum sintigrafisi, Dobutamin stres EKO ve PET ile değerlendirilip myokardiyal viabilitenin olmadığı gösterilmiştir. Hastalar 5µg/kg/gün G-SCF ile mobilize edilerek aferez yöntemi ile periferik kök hücre ürünü toplanmıştır. Kök hücre içeriği flowsitometrik olarak değerlendirilmiştir. Kök hücre ürünü elde edilen hastalar operasyona alınarak açık kalp cerrahisi ile infarkt alanına multipl enjeksiyonlar yapılmıştır. Hastaların izlemi klinik, EKO, Talyum sintigrafisi ve PET ile yapılmıştır. Çalışmada yer alan hastalarda 1'i operasyon dışı nedenle ex olmuş diğer 5 hastada ise 6. ve 12. ay değerlendirmesinde belirgin klinik iyileşme saptanmıştır. Bu hastaların sol ventrikül EF ile NYHA sınıfları operasyon öncesi değerlerine göre belirgin düzelmiştir. Ex olan hastanın otopsi materyalinden yapılan nekropsi sonucunda da gerek hematoksilen eozin boyası gerekse CD31 ve CD34 boyları ile yapılan değerlendirmelerde anjiyojenik tomurcuklanma gösterilmiştir. Klinik olarak ve EKO incelemesi sonucu belirgin düzelmenin gözlemlendiği hastalardan biri 18. ayında ani kardiyak arrest nedeniyle ex olmuştur. Diğer hastaların 2 yıllık sonuçları değerlendirildiğinde ise klinik olarak belirgin düzelmenin yanısıra EKO ve PET'de de anlamlı düzelmeler gözlenmiştir (20). Bu çalışmanın ön verileri oldukça umut vericidir. Bu çalışmada şu ana kadar 14 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Hasta sayısının artırılması yanısıra, yayınlanan çalışmadaki hastaların uzun dönem sonuçlarının değerlendirilmesi sonucu ileriye daha net bakabileceğimizi ve iskemik kalp hastalıklarının yanısıra dilate kardiyomyopati gibi tedavi alternatiflerinin kısıtlı olduğu birçok kardiyolojik hastalığın tedavisinde kök hücre naklinin yer alacağını umut ediyoruz.

## Endotelial Rejenerasyon

Yeşil Flöresan Protein pozitif (GFP+) hücreler, Lin- Sca-1+ c-kit+ fenotiplerine dayanılarak transjenik fare kemik iliğinden izole edilmiştir. Çok sayıda farelerin her birine tek bir transplante edilmiş GFP+ hücre enjekte edilmiştir. Çok sayıda alıcıda kemik iliği 6 ay içinde yeniden konstrakte edilmiştir. Araştırmacılar daha sonra, bir retinopati modeli olarak retinal vaskulatürde fotokoagulyasyonu indüklemek amacıyla Argon yeşili lazer sistemini uygulamışlardır. Hasara uğramış olan damarların yerini 3 hafta içinde yeni, gelişmekte olan, GFP+ kapiller ağı almıştır. Yazarlar, kan hücrelerinin ve endotelin her ikisinin birden aynı GFP+ hücreden köken almaları nedeniyle bu aktiviteyi, embriyonik hemanjioblastlara benzeyen erişkin kemik iliği hücrelerine atfetmişlerdir (21).

## Erişkin Hematopoietik Kök Hücrenin Nöronal Hücreye Diferansiyasyonu

Beyinde nöronlar ve glial hücreler (mikroglia, makroglia, astroglia ve oligodendrositler) bulunur. Eglitis ve ark. farelere Kİ transplantasyonu yaptıktan sonra beyinde kemik iliğinden kaynaklanan mikrogliaların ve astrositlerin varlığını göstermişlerdir (22). Yine Eglitis ve ark. ile Brazelton ve ark. kemik iliği kökenli hücrelerin nöronlara da diferansiye olabileceğini göstermişlerdir (22,23). Mezey ve ark. kemik iliği transplantasyonu alıcılarının serebral korteksinde ve hipokampusta Y kromozomu içeren donör kaynaklı nöronal hücrelerin seyrek görülen kümelerinin varlığını göstermişlerdir (24).

## Nörolojik Hastalıkların Tedavisinde Kök Hücrenin Yeri ve Ege Üniversitesi Deneyimi

Yakın zamana kadar erişkin memeli canlılarda santral sinir sistemi hücrelerinin rejenere olamadığı düşünülürdü. Bu görüş, uygun ortamda nöron, astrosit veya oligodendrosit olarak diferansiye olabilen multi-potent nöronal kök hücrelerinin mevcudiyetinin gösterilmesi ile terkedilmektedir (22-25). Normalde santral sinir sisteminde rejenere olabilen kök hücrelerinin dentat subgranuler bölgede, lateral ventriküller ve hipokampus çevresinde bulunduğu gösterilmiştir. Bu hücrelerin serebral infarkt gibi durumlarda devreye girerek

iyileşmeye katkıda bulunduğu ancak sayıca yetersiz olmaları ve ortaya çıkan gliosis gibi nedenler ile sınırlı etkileri olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle dışarıdan verilmeleri tedavi için uygun bir seçenek olarak görülmektedir (26).

Kök hücre kaynağı olarak fetal doku kullanılarak yapılan çalışmalarda bazı hastalıklarda başarılı sonuçlar alınmıştır: Bunlardan biri; deneysel olarak omurilik yaralanmasında fetal omurilik transplantları kullanılarak rejenerasyon olduğunun gösterilmesidir (27). İnsanlarda ise son yirmi yıl içinde 300 kadar Parkinson hastasına dopaminerjik hücre transplantasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu uygulamaların çoğunda dopaminerjik nöronlar insan fetaluslarının ventral mezensefalonundan elde edilmiştir. İmplantların fonksiyonel olarak doku ile uyum sağladıkları ve canlılıklarını sürdürdükleri PET-scan ve hastaların klinik olarak düzelmeleri ile kanıtlanmıştır. Ancak bu çalışmalarda bir hasta için 6-7 fetus kullanılması etik bir sorun gibi görünmektedir. Diğer yandan yabancı dokunun immunolojik reddedilme ve transinfeksiyon riskleri de bulunması bu çalışmaların diğer bir dezavantajı olarak karşımıza çıkmaktadır (28, 29).

Serebral infarkt için deney hayvanlarında geliştirilen modellerde kök hücreleri kullanılmış ve anatomik ve fonksiyonel iyileşmeye önemli katkıda bulunduğu görülmüştür. Bu çalışmaların yanı sıra insan teratokarsinom dokusundan izole edilmiş embriyonel karsinom hücreleri serebral infarkt tedavisi için insanlarda kullanılmış ancak bu hücrelerin teratojenik potansiyeli olması kullanımını önemli ölçüde sınırlamıştır. Karaciğer, amniyon membranı, olfaktor bulbus ve post-mortem erken dönemde (~20 saat) insan kadavralarından nöronal kök hücreleri elde edilebildiği gösterilmiştir. Ancak daha önce bahsedilen transinfeksiyon, sayıca yetersiz olması ve etik sakıncalar nedeni ile elde edilmesi ve kullanımı güçtür. Hastaların kendi kemik iliğinden elde edilen otolog kök hücreleri etik açıdan sorunsuz olmaları ve klinik riskleri taşımadığından ideal kaynak gibi görülmektedir. Hematopoetik kök hücrelerin uygun koşullarda nöronal hücre diferansiyasyonu gösterebileceği in vitro ve deney hayvanı çalışmalarında gösterilmiştir (30).

### **Erişkin Hematopoetik Kök Hücrenin İskelet Kası Hücresine Diferansiyasyonu**

Erişkin hematopoetik kök hücrenin iskelet kası hücresine diferansiye olabileceği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. İlk olarak Ferrari ve ark. kemik iliği kaynaklı hücreleri hasarlı kas bölgesine direkt enjekte ederek kök hücrelerin iskelet kasına diferansiyasyonunu gösterdiler. Sadece direkt enjeksiyon değil aynı zamanda Kİ transplantasyonundan sonra kas hasarı meydana getirildiğinde de donör kökenli hücreler yeni kas liflerinin oluşumuna katkıda bulunmuştur (31). Gussoni ve ark. da fare muskuler distrofi modelinde seçilmiş hematopoetik kök hücrelerle yapılan transplantasyon sonrası donör kökenli distrofin ekspresyon eden hücreleri göstermişlerdir (32).

### **Erişkin Hematopoetik Kök Hücrenin Karaciğer Hücresine Diferansiyasyonu**

İlk olarak Peterson ve ark. kemik iliği transplantasyonu yapılan ratların karaciğer hasarına maruz bırakılmasından sonra donör kaynaklı hepatositlerin varlığını göstermişlerdir. Theise ve ark. ise Kİ transplantasyonu yapılan fare ve insanlarda akut karaciğer hasarı olmaksızın da donör kaynaklı hepatositlerin varlığını göstermişlerdir (33). Wang ve ark. yaptığı önemli bir çalışmada da insan kaynaklı hematopoetik kök hücre nakli yapılan immün yetmezlikli farelerde, insan albumini sentez eden hepatositleri göstermişlerdir (34).

### **Erişkin Hematopoetik Kök Hücrenin Renal Hücrelere Diferansiyasyonu**

Kİ transplantasyonundan sonra fare ve insan böbreklerinde donör kökenli böbrek epiteliyal hücrelerinin ve mezenjial hücrelerin varlığı gösterilmiştir. Masuya ve ark. da tek hematopoetik kök hücreden elde edilen hücrelerle yaptıkları transplantasyon ile hematopoetik kök hücrelerin yine fonksiyonel glomerüler mezenjial hücre yapımına katıldığını göstermişlerdir (35).

## **SONUÇ**

Erişkin kök hücre plastisitesinin klinikte büyük ölçüde faydalı olabilmesi için, iyi şekilde karakterize edilmiş erişkin pluripotent kök hücrelerin kolay elde edilebilir bir kaynağına gerek duyulmaktadır. Eğer pluripotens özelliği, de-diferansiyasyona

neden olan ex vivo manüplasyonlar sonucunda kazanılıyorsa, bu olayların meydana gelme sıklığının ve doğruluğunun artırılabilmesi için hücre serisi değişiminin altında yatan moleküler mekanizma(lar)ın tanımlanması gerekecektir. Açıklanması gereken tehlikeli bir nokta, de- ve re-diferansiyasyon süreçlerinin her zaman için, aberan diferansiyasyona yol açabilecek ve hatta onkojenik olabilecek istenmeyen genetik değişiklikler olmadan gerçekleşip gerçekleşmeyeceğidir. Pluripotent kök hücreler gerçekten de in vivo olarak mevcutlarsa, bunların doğal ortamı ve proliferasyonları ve/veya diferansiyasyon davranışları ve hasar yerinde toplanma yetenekleri klinik kullanılabilirlikleri açısından önemli olacaktır. Bu ayrıca, klinisyenleri ve bilim adamlarını, var sayılan sakin pluripotent kök hücrelerin ex vivo kültürlerdeki aktivasyon veya in vivo manüplasyon yoluyla re-aktivasyonunun; embriyonal kök hücreleri in vivo olarak transplante edildiklerinde görülen teratomlara benzer bir şekilde kontrol edilemeyen proliferasyonlara ve/veya diferansiyasyon sürecine yol açıp açmayacağını incelemeye itmelidir.

Erişkin kök hücrelerin en önemli avantajlarından birinin, hastadan toplanabilmeleri ve bu nedenle istenmeyen immun yanıtla yol açmaması olduğu söylenebilir. Ancak, pek çok dejeneratif hastalığın altında yatan mekanizmaların tam olarak bilinmemesi nedeniyle, benzer defektlerin kök hücrelerde de veya onlardan gelişen diğer hücre serilerinde de bulunup bulunmadığı bilinmemektedir.

Çeşitli klinik çalışmaların dünya çapında pek çok merkezde sürdürülmesine rağmen, büyük ölçekli bir klinik çalışmanın rasyonel bir şekilde dizayn edilmesinden önce cevaplandırılması gereken çok sayıda pratik ve bilimsel soru bulunmaktadır. İlk olarak; bir organ ya da dokuda fonksiyonel yarar sağlayabilmek için gerekli olacak minimum hücre sayısını belirlemek çok önemlidir. Dolayısıyla akla şu sorular gelmektedir: doku ya da organı onarmak için kaç tane kök hücreye ihtiyacınız olacak? Replasman amacıyla verilen hücreler ne kadar süreyle fonksiyon göstermeye devam edecek? İkinci olarak; hasarlı doku veya organdan, kemik iliği kökenli kök hücreleri olay yerine çekmek üzere açığa çıkan kemoatraktan maddelerin tanımlanması da kritik bir önem taşımaktadır.

Kök hücrelerin biyolojisinin anlaşılması ve insanlarda kök hücre tedavisinde ortaya çıkan soruları cevaplandırabilmek için çok daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Cevaplanmayı bekleyen tüm sorulara rağmen, kök hücrelerin hastanın kendisinden toplanması, çoğaltılarak hastaya tekrar implante edilmesi yaklaşımı organ transplantasyonu ve immunosüpresif tedavinin yol açacağı sorunlara göre çok daha büyük avantajlar taşımaktadır. Şu an için etkili tedavileri bulunmayan hastalıklar kök hücre araştırmalarının cazibe noktasını oluşturmaktadır. “İnkurabl” yani tedavi edilemez olarak damgalanan hastalıklar, gelecekte yapılacak olan kök hücre esaslı tedavilerin başlıca hedeflerini oluşturacaktır.

#### KAYNAKLAR

1. van der Heyden MA, Hescheler J, Mummery CL. Spotlight on stem cells-makes old hearts fresh. *Cardiovasc Res* 58(2):241-245, 2003.
2. Weissman IL. Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: Barriers and opportunities. *Science* 287:1442-1446, 2000.
3. Verfaillie CM. Adult stem cells: assessing the case for pluripotency. *TRENDS in Cell Biology* 12:502-508, 2002.
4. Krause DS, Theise ND, Collector MI, et al. Multiorgan, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 105:369-377, 2001.
5. Grant MB, May WS, Caballero S, et al. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. *Nat Med* 8:607-612, 2002.
6. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 6:1229-1234, 2000.
7. Grompe M. Therapeutic liver repopulation for the treatment of metabolic liver diseases. *Hum Cell* 12:171-180, 1999.
8. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice. *Ann N Y Acad Sci* 938:221-229, 2001.
9. Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, et al. Turning brain into blood: A hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science* 283:534-537, 1999.
10. Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, et al. Generalized potential of adult neural stem cells. *Science* 288:1660-1663, 2000.



11. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 284:143-147, 1999.
12. Liechty KW, MacKenzie TC, Shaaban AF, et al. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep. *Nat Med* 6:1282-1286, 2000.
13. Horwitz EM, Prockop DJ, Gordon PL, et al. Clinical responses to bone marrow transplantation in children with severe osteogenesis imperfecta. *Blood* 97:1227-1231, 2001.
14. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA*. 98:10344-10349, 2001.
15. Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ Res* 91:1092-1102, 2002.
16. Itescu S, Kocher AA, Schuster MD. Myocardial neovascularization by adult bone marrow-derived angioblasts: Strategies for improvement of cardiomyocyte function. *Ann Hematol* 81 Suppl 2: S21-5, 2002.
17. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Stem cell therapy in acute myocardial infarction. *Med Klin (Munich)* 98 Suppl 2:14-18, 2003.
18. Galinanes M, Loubani M, Davies J, et al. Autotransplantation of unmanipulated bone marrow into scarred myocardium is safe and enhances cardiac function in humans. *Cell Transplant* 13:7-13, 2004.
19. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 106: 3009-3017, 2002.
20. Ozbaran M, Omay SB, Nalbantgil S, et al. Autologous peripheral stem cell transplantation in patients with congestive heart failure due to ischemic heart disease. *Eur J Cardiothorac Surg* 25:342-350, 2004.
21. Grant MB, May WS, Caballero S, et al. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. *Nat Med* 8:607-612, 2002.
22. Eglitis MA, Mezey E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 4080-4085, 1997.
23. Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, et al. From marrow to brain: Expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science* 290:1775-1779, 2000.
24. Mezey E, Nagy A, Szalayova I, et al. Comment on "Failure of bone marrow cells to transdifferentiate into neural cells in vivo". *Science* 299: 1184, 2003.
25. Arlotta P, Magavi SS, Macklis JD. Molecular manipulation of neural precursors in situ: Induction of adult cortical neurogenesis. *Exp Gerontol* 38:173-182, 2003.
26. Okano H, Yoshizaki T, Shimazaki T, Sawamoto K. Isolation and transplantation of dopaminergic neurons and neural stem cells. *Parkinsonism Relat Disord* 9:23-28, 2002.
27. Bai H, Suzuki Y, Noda T, et al. Dissemination and proliferation of neural stem cells on the spinal cord by injection into the fourth ventricle of the rat: A method for cell transplantation. *J Neurosci Methods* 124:181-187, 2003.
28. Armstrong RJ, Tyers P, Jain M, et al. Transplantation of expanded neural precursor cells from the developing pig ventral mesencephalon in a rat model of Parkinson's disease. *Exp Brain Res*. 151(2):204-217, 2003.
29. Ourednik J, Ourednik V, Snyder EY. Fetal neural tissue and stem cell grafts may induce regenerative plasticity in damaged mammalian brain. *Clin Neuroscience Res* 2:80-85, 2002.
30. Greco B, Recht L. Somatic plasticity of neural stem cells: fact or fancy? *J Cell Biochem* 88:51-56, 2003.
31. Ferrari G, Cusella-De Angelis G. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science* 279:1528-1530, 1998.
32. Gussoni E, Soneoka Y, Strickland CD, et al. Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature* 401:390-4, 1999.
33. Theise ND, Badve S, Saxena R, et al. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology* 31:235-240, 2000.
34. Wang X, Ge S, McNamara G. Albumin-expressing hepatocyte-like cells develop in the livers of immune-deficient mice that received transplants of highly purified human hematopoietic stem cells. *Blood* 101:4201-4208, 2003.
35. Masuya M, Drake CJ, Fleming PA, et al. Hematopoietic origin of glomerular mesangial cells. *Blood* 101:2215-2218, 2003.

**Yazışma Adresi:**

Dr. Fahri Şahin  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Hematoloji Bilim Dalı  
Bornova / İZMİR