

# Kök Hücre Plastisitesi ve Tıptaki Kullanım Alanları

Adalet Meral Güneş

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, Doç.Dr.

İnsanoğlunun ölümsüzlük düşü pek çok uygarlığın yazıtlarına ve gündelik yaşantısına tarih boyunca yansımıştır. Mısır medeniyetinde firavunlar ölümden sonra tekrar dirileceklerini düşünerek kıymetli eşyaları ile birlikte gömülmüşler ve yaşayabilecekleri mekanlar olarak da piramitleri inşa etmişlerdir. Doğu mitolojisinde Lokman hekim ölümsüzlüğün ilacını yazdığı kağıtları rüzgar savurunca kaybetmiş ve insanoğlu ölüme çareyi bulamamıştır. Yunan mitolojisinde ise ateş tanrısı Prometheus baş tanrı Zeus'a karşı geldiği için cezalandırılmış ve çıplak bir şekilde Kaf dağına zincirlenmiştir. Her gün bir akbaba karaciğerinden bir parça kopmasına karşın karaciğeri kendini yenilemiş ve Prometheus ölmemiştir. Belki de insanlık tarihinde kök hücre kavramının ilk izleri bu mitolojik öykülerde saklıdır. Ancak yıllarca pandoranın kutusunda saklı kalan bu gizem günümüzde bilimsel olarak açıklanmaya başlanmış ve tıp tarihinde devrim yaratacak nitelikte gelişmelere yol açmıştır. 21. yüzyılın nefes kesen bu gelişmelerini daha iyi anlayabilmek amacı ile bu yazımızda kök hücrenin ne olduğunu, rejenerasyon ve diferansiyasyon kapasitesini ve tıp alanında gelecek vadeden kullanım alanlarını incelemeye çalıştık.

## Kök Hücre Nedir?

Organizmada kendi kendini yenileyebilen farklı hücre tiplerine dönüşebilen hücrelere kök hücre denir. Kök hücrenin hangi hücreye diferansiye olacağına hücre çekirdeğinde bulunan genler kontrol eder. Bu genlerden çıkan sinyallere göre değişik hücre tipleri ne dönüşebilmektedir.

## Kök Hücre Kaynakları

1. Embriyonel
2. Fetal
3. Erişkin

### Embriyonel Kök Hücre

Bazı kök hücrelerin kendilerini yenileyebilme ve diferansiye olabilme potansiyelleri diğerlerinden daha fazladır. Konsepsiyon sırasında oluşan döllenmiş yumurta yani zigot blastomer isimli bölünebilen hücreleri içermektedir. İşte bu hücreler totipotent özelliktedir. Yani bir organizmayı tümüyle yapabilecek potansiyele sahiptirler. Örneğin, tek yumurta ikiz, üçüz veya dördüzleri gibi.

Döllenmeden 4-5 gün sonra ise bu totipotent hücreler daha özelleşerek blastokist adı verilen yeni bir hücre topluluğuna dönüşür. Blastokistin dış tabakasına trofoektoderm denir ve plasentayı oluşturur. İç tabakasındaki hücreler ise embriyoyu meydana getirirler. İnsan embriyonik hücreleri trofoektoderm kaldırılarak embriyoyu yapacak olan içteki hücre topluluğundan elde edilir. Bu hücreler zigot gibi totipotent değildir. Yani yeni bir insan oluşturamazlar. Ancak, pluripotent özellikte olup, 3 germ tabakasının oluşturabileceği tüm dokulara diferansiye olabilirler (1). (Şekil 1-2).

İnsan embriyonel hücreleri iki kaynaktan elde edilerek bilimsel çalışmalarda kullanılabilir:

1. Tüp bebek ünitelerinde kullanılmayan ve dondurulmuş embriyolardan aile izni ile alınabilirler.,
2. Değişik nedenlerle gebeliği sonlandırılan fetuslardan alınabilirler. Ayrıca uterus içerisinde büyümüş bir fetusun ovum veya sperm olacak hücreleri de kök hücre fonksiyonu görebilirler. Bu nedenle bilimsel çalışmalarda embriyonel hücrelere alternatif olabilirler. Ancak, bunlar gelişimin daha geç döneminde ortaya çıktıkları için çoğalma potansiyelleri daha kısıtlıdır.

Embriyonel kök hücrenin erişkin tip kök hücreden farklı özellikleri vardır. Bunlar;

1. Pluripotent hücrelerdir. Yani, uygun koşullarda her hücre tipine örn : kas, sinir karaciğer gibi dönüşebilirler. Farklılaşma potansiyelleri erişkin tip kök hücreden daha fazladır. Tam bir organizma oluşturamazlar ama, 200'den fazla sayıda değişik hücre tiplerine dönüşebilirler

2. Telomerleri uzun olduğu için çoğalma kapasiteleri çok daha fazladır ve uzun süre çoğalabilirler. Uygun laboratuvar koşullarında 2 yıl yaşayabilirler (2) (Şekil 2).

Embriyonel kök hücrenin sınırsız kendini yenileyebilme ve diferansiye olabilme potansiyeli, günümüzde tedavi olanakları sınırlı olan pek çok hastalığın iyileştirilmesine yol açacak bilimsel çalışmalara öncül olmuştur. (Şekil 3).

Bu çalışmaların amacı ;

1. İnfertilite, gebelik kayıpları veya doğum anomalileri gibi önemli olayları engellemek (3),
2. Embriyotoksik teratojen ilaçlar insan embriyonel kök hücreleri ile yapılan çalışmalarla saptanması (4),
3. İlaçların in vitro doku hücreleri üzerine olan toksik etkilerinin pluripotent bu hücre serilerinde gösterilmesi,
4. Embriyonik kök hücrelerden kalp kası, beyin, pankreas adacık hücreleri ve kan damarları diferansiye olabilir. Bu dokulardaki hasarlaşmalarda dokunun rejenerasyonunu kullanılması (4,5,6,7,8)

5. Ayrıca gen teknolojisi kullanılarak yeni organlar yaratılması ve organ transplantasyonunda kullanılması: Bu amaçla hastadan alınan somatik hücrenin çekirdeği, çekirdeği çıkarılmış (enukleasyon) oosite transfer edilir ve hücre aktive edilerek fertilizasyon takiti ile oosit döllenmesi gerçekleştirilir. Fertilize olmuş hücredeki (zigottaki) totipotent hücrelere gerekli sinyaller verilerek istenilen doku (örneğin kalp kası, pankreas, karaciğer, nöronlar hematopoietik dokular) oluşturulabilir. Bu doku örnekleri hasta ile genetik ola-

rak identiktir. Bu nedenle transplantasyon sırasında önemli bir sorun olan alıcı ve verici arasında HLA doku grup antijen farklılığına bağlı gelişen graft versus host hastalığı ve rejeksiyon problemleri yaşanmaz. Bu olay gelecekte organ transplantasyonunun yerini alabilecektir. Bugün dünyada pek çok kişi kanser ve organ yetmezliği gibi kronik hastalıklar nedeniyle kaybedilmektedir. Kronik hastalar psikolojik açıdan kötü etkilenmekte ve hem iş gücü kaybı hem de tedavi masrafları nedeniyle ülke ekonomileri için ağır bir yük oluşturmaktadırlar. Örneğin diabetes mellitus tedavisi için ABD’de 140 milyar dolar harcandığı bildirilmektedir. İşte kök hücre çalışmaları sonucunda hastalıklı hücrelerin yenilenmesi veya yeni organ oluşturulması için sonsuz bir kaynak keşfedilmiştir (2, 9)

6. Klonlama: Bir organizmanın fenotipik ve genetik olarak tıpatıp benzeyen yeni bir organizma üretmesidir. Bir diğer deyişle klonlama organizmanın kendisini kopyalamasıdır. Bu anlamda aseksüel üreyen bakteriler yüzyıllardır kendisini kopyalamaktadır. Memeliler gibi seksüel yol ile çoğalan organizmalarda ise üreme sonucu oluşan yeni canlının genetik şifresinin yarısı anneden yarısı da babadan gelmektedir. Ancak, memelilerde de doğal yol ile klonlama oluşabilmektedir. Döllenmeden hemen sonra ilk 4-5 gün içerisinde meydana gelen totipotent hücrelerin her biri yeni bir canlıyı tam olarak yapabileceği özelliğindedir. Örneğin, tek yumurta ikizleri veya üçüz ve dördüzleri gibi.

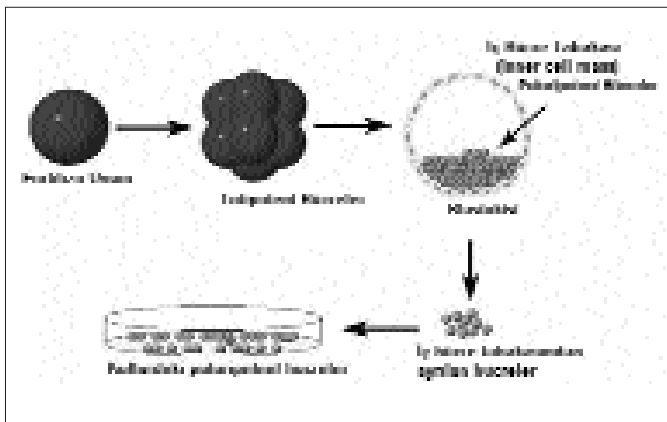
Doğal yolla oluşan klonlama dışında insanoğlu yapay klonlama için de uğraş vermiş ve 1997 yılında İskoçya’da ilk kez bir memeli hayvan (koyun) kopyalanmıştır. Campell ve arkadaşları (10) 6 yaşındaki bir koyun embriyosundan elde edilen epitelyal hücre çekirdeğini başka bir koyundan alınan ve çekirdeği çıkarılmış oosit hücresine transfer etmişler ve elektrik akımı vererek fertilizasyonu sağlamışlardır. Bu şekilde 276 deneme yapmışlar ve sadece 29 tanesinde döllenme başarılı olabilmıştır. Bu döllenmiş yumurtalar koyunun rahmine yerleştirilmiş ve 13 tanesi rahimde tutunmakla birlikte sadece biri canlı olarak doğmuştur ve bu koyuna “Dolly” ismi verilmiştir (Şekil 4). Böylece bilim tarihinde bir ilk başarılı olmuş ve insan kopyalamanın da olası olabileceği düşüncesi iyice yerleşmiştir. Bu çalışmaların ışığı altında 1998 yılında 30 yaşındaki bir kadının vücudundan alınan hücrelerin çekirdeği alınmış ve aynı kadının yumurtası ile döllenmiştir. Döllenme gerçekleşmiş ve 4 hücre düzeyine kadar büyüme olmuştur. Ancak, insan kopyalama yasal olmadığı için bilim adamları bu düzeyde çalışmalara son vermişlerdir. Günümüzdeki teknoloji ile insan kopyalamak teorik olarak mümkündür. Ancak bu olay ahlaki ve dini açıdan tartışmaya açıktır. Ayrıca teknik açıdan da pek çok sınırlamalar halen vardır. Kopyalanan insanlar genetik özelliklerini yeni bireye tam olarak geçirebilmektedir. Ancak, karakter ve davranışların aynı olamayacağı düşünülmektedir. Örneğin, tek yumurta ikizlerinin de karakterleri birbirinden farklı olabilmektedir. Ayrıca, kopyalanan yeni bireylerin hücre yaşı kopyalandıkları kişiler ile aynı olacaktır. Koyun Dolly örneğinde, Dolly 6 yaşında iken erken yaşlanma bulguları ve atipik artrit geliştirmiş ve sonunda da akciğer kanseri nedeni ile yaşamına son verilerek zorunda kalınmıştır. İnsan kopyalamada bir diğer sorun da, yeni bireylerin kopyalandıkları kişilerce organ nakillerinde kullanıma elverişliliğinin olmasıdır. Tüm bu etik tartışmalar nedeni ile insan kopyalama günümüzde halen yasal değildir (11-15).

Klonlama çalışmaları, hakkındaki tartışmalara karşın genetik şifre üzerindeki bilgi ve deneyimizi büyük ölçüde artırmıştır. Kök hücre çalışmalarına itici güç olmuş ve ölümcül pek çok hastalığın tedavisi için kök hücre kullanımını destekleyen bir temel oluşturmuştur.

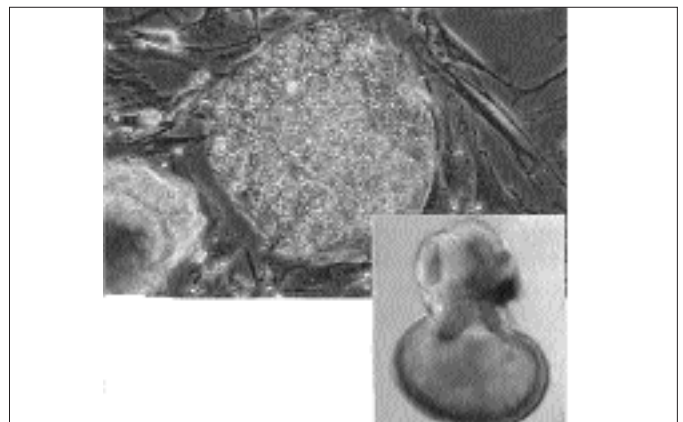
Kök hücre kullanılarak hasarlı organın tamamını değiştirmek yerine organa verilen kök hücreler ile sağlıklı ve yeni hücreler yapmak ve dolayısıyla organ fonksiyonların yenileyebilmek olasıdır. Örneğin, miyokard enfarktüsülü veya miyokarditli hastalar kök hücre nakilleri ile sağlıklı miyokard hücresi üretebilmek mümkündür (16). Aynı yöntem, renal ve hepatik yetmezlik için de kullanılabilir. Ayrıca günümüzde kesin tedavisi olmayan Parkinson, Alzheimer gibi sinir sisteminin dejeneratif hastalıkları da kök hücrelerden elde edilen sağlıklı sinir hücreleri ile tedavi edilebilir. Kaza sonucu medulla spinalis zedelenmesi olan bireylerin omurilik sıvısına kök hücreden elde edilen hücreler verilerek kopan sinirlerin fonksiyonları yeniden kazandırılabilir. Bu çalışmalar felçli hastalar için büyük bir umut ışığıdır (9,17). İleri dönemde gen mühendisliğinin de katkıları ile tek bir kök hücreden istenilen organ farklılaşması yapılabilecek ve nakil bekleyen hastalar için sınırsız bir doku kaynağı oluşturulabilecektir.

### Erişkin Tip Kök Hücre:

Bu hücreler, erişkin dokularında bulunan tam farklılaşmamış hücrelerdir. Organizma yaşadığı sürece kendilerinin kopyalarını üretmek için çoğalırlar ve buldukları dokuda bir hasar olduğunda doku rejenerasyonunu sağlarlar. Erişkin kök hücreleri multipotenttir. Yani diferansiyasyon kapasiteleri sınırlıdır ve tüm hücre tiplerine farklılaşamazlar. Buldukları doku hücreleri dışında bir kaç farklı doku hücresine diferansiye olabilirler. Örneğin ; erişkin tip kan kök hücresinden sinir, kas ve karaciğer hücreleri elde edilebilir. Beyin kök hücresinden de kan ve kas hücreleri oluşturulabilir. Embriyonel kök hücrelerin ise erişkinden farklı olarak daha fazla diferansiye olma potansiyeli vardır ve tüm hücrelere dönüşebilirler. Erişkin kaynaklı kök hücreler her dokudan elde edilemezler. Şu ana kadar çalışmalarda sadece beyin, kas, kemik iliği, deri, diş, sindirim sistemi, göz ve pankreastan elde edilebilmişlerdir. Ayrıca çoğalma, bü-



Şekil 1: Embriyonel kök hücrelerin elde edilmesi.



Şekil 2: Embriyonel kök hücre.

yüme az olduğundan ve kültürde uzun süreli yetiştirilebilmeleri de zor olduğundan bilimsel çalışmalarda daha çok embriyonel kaynaklı kök hücreler tercih edilmektedir (18-21).

Erişkin kök hücrenin plastisite özelliğinin olabileceği ilk kez, kemik iliği transplantı yapılmış olgularda nonhematopoietik dokular da donor hücrelerinin gösterilmesi ile olmuştur. Son yıllarda erişkin kök hücre plastisitesini açıklayan yeni bir kavram gelişmiştir. Buna göre kök hücre farklı bir doku veya organa ait kök hücre fenotipini kazanabilir ve bazı durumlarda mezoderm, ektoderm ve endoderm hücreleri birbirine değişebilir (17). Bu yeni "kök hücre plastisite" kavramını açıklayan 5 farklı mekanizma vardır (Şekil 5):

1. Diferansiyasyon: Bir seriye ait matur bir hücrenin daha immatur bir hücreye diferansiye olup başka bir seriye ait hücrelere diferansiyasyonu

2. Transdeterminasyon: Kök hücrenin farklı bir dokuya ait kök hücreye dönüşümü Örneğin. Drosophila larvası içeren diskler birbirlerine transplant edilirse genellikle transplant edilen hücreler kendi kimliklerini korumakla birlikte yeni diskteki hücrelerin de özelliklerini kazanabilirler.

3. Transdiferansiyasyon: Diferansiye olmuş hücrenin farklı bir dokuya ait diferansiye olmuş hücre fenotipini kazanması. Örnek: Normal gelişim sırasında düz kaslardan özafagusdaki iskelet kaslarının oluşumu

4. Hücre füzyonu: Buna en iyi örnek klonlama sırasında matur bir hücrenin çekirdeğinin enukleasyon ile çekirdeği çıkarılmış ovuma verilmesi ve hücrenin yeni bir programlanmaya gitmesidir.

5. Totipotent kök hücreden multipotent doku spesifik hücrelerin gelişmesidir.

#### Hematopoietik Kök Hücreler :

Hematopoietik dokulardan elde edilen kök hücrelerin plastisite potansiyeli olduğu kemik iliği transplantasyonu kavramı ile birlikte 1961 yılından beri kabul edilmiştir (22). Hematopoietik kök hücreler kemik iliği, umbilikal kord ve periferik kanda bulunmaktadır. İnsanlarda hematopoietik kök hücrelerin yüzey markerları genellikle CD38- olup, CD34+ ve CD133+ tir (23). Son yıllarda hem hematopoietik hem de nonhematopoietik dokularda kök hücrelerin buldukları dokular dışında farklı dokulara ait hücreleri yapabilme özelliğinde olduğu ortaya konmuştur (24). Hematopoietik dokulardaki kök hücrelerden iskelet kası, miyokard, epitel, endotel, nöronlar ve hepatositler gelişebilmektedir (25). Hematopoietik hücrelerden en zengin olan doku kemik iliğidir. Kemik iliğindeki kök hücrelerin en az 3 primitif kök hücre topluluğunu içerdiği düşünülmektedir (26, 27, 28) (Şekil 6):

1. Hemangioblastlar: Hematopoietik ve endotel kök hücrelerinin prekürsörleri

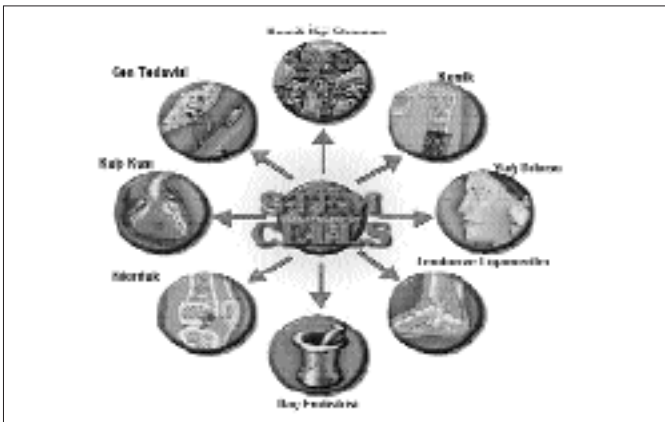
2. Mezenkimal kök hücreler: Stroma, kas, kemik, kartilaj ve yağ hücreleri gelişebilir.

3. MAPC (Multipotent Adult Progenitor Hücre): Ektoderm, mezoderm ve endodermal seri hücrelerini oluşturabilirler. Bu hücre dizilerinin birbirine dönüşebilme özelliği sayesinde kemik iliği kök hücrelerinden pek çok farklı doku hücreleri gelişebilmektedir.

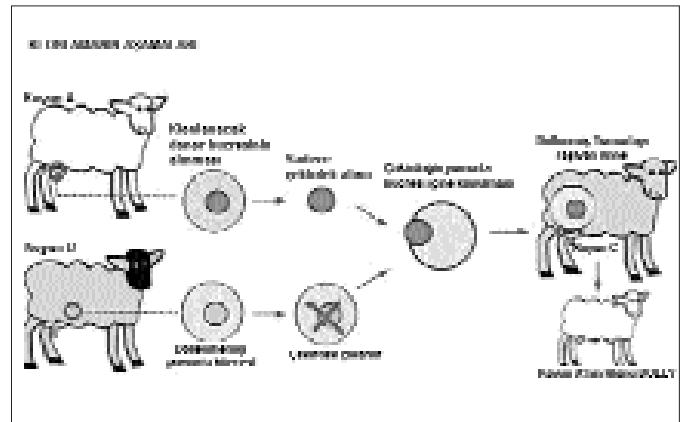
#### Mezoderm-ektoderm-mezoderm dönüşümü:

Kemik iliği kaynaklı hücreler (Bone marrow derived cells-BMDC) fare beyin dokusuna verilmiş ve bu hücreler beynin korteks, se-rebellum, talamus gibi değişik bölgelerinde saptanmışlardır (29). Bu deney BMDC hücrelerinin değişik bölgelere göç ederek nöral, glial hücrelere transdiferansiye olduğunu kanıtlamaktadır. İnsanlarda da buna benzer bir durum kemik iliği transplantından sonra saptanmıştır. Bayan bir hastaya erkek bir donörden kemik iliği hücre transplantasyonu yapılmış ve hastanın beyin dokusunda Y kromozom içeren erkek donör hücreleri saptanmıştır (30). Bu donör kaynaklı hücrelerin büyük bir kısmı hematopoietik hücre özelliğinde olmasına karşın, az bir bölümü de oligodendrosit, astrosit, mikroglia gibi beyin dokusuna ait hücre özelliğindedir. Bu çalışma ile hematopoietik kök hücrelerin beyin dokusu hücrelerine diferansiye olabileceği ve beyin hasarında rejenerasyon amacı ile kullanılabileceği gösterilmiştir. Bu hücrelerin kognitif fonksiyonlarının olup olmadığı henüz bilinmemekle beraber iskemi, konvulziyon ve paraliz tedavilerinde kullanılabilmesi düşünülmektedir. Ayrıca bugün tedavileri mümkün olmayan Parkinson, Alzheimer, multiple skleroz, amiyotrofik lateral skleroz gibi hastalıkların tedavisi için de bir umut ışığı oluşturmaktadır.

Ayrıca pek çok çalışma ile mezodermden köken alan somatik hücre dizilerinin ektodermal doku hücrelerine dönüşebildiği gösterilmiştir (31). Örneğin, BMDC hücrelerinin deri, akciğer, karaciğer ve gastrointestinal epitel hücrelerine diferansiye olabileceği ortaya konmuştur. Cinsiyet farklı fareler ile yapılan kemik iliği transplantasyon deneylerinde hematopoietik hücrelerin donör farelerde hem hematopoietik hücreleri hem de mide, kolon, ince barsak, özafagus epiteli ve tip II pnömositleri yaratabilme kapasitesi olduğu gösterilmiştir (32). Bu hücrelerin engraftment kapasiteleri organlara göre farklılık gösterir. Engraftment en fazla pnömositlerde olmuş ve diğer dokulardaki epitelde daha az oranda gerçekleşmiştir. Dokulardaki bu farklılık, kök hücrenin kapasitesi, her organdaki hasarın derecesi ve normal hücre turnoverının farklı olmasına bağlı olabilir. Bu çalışmalar sonucunda kesin olarak hematopoietik tek bir hücrenin hem hematopoietik hem de farklı doku hücrelerine dönüşebileceği ortaya konmuştur.



Şekil 3: Kök Hücrenin Kullanım Alanları.



Şekil 4: Klonlamanın Aşamaları.

## Mezoderm-Mezoderm Dönüşümü

Ferrari ve ark (33 ) 1998 yılında farelerde BMDC hücrelerin hasarlı kas fibrillerinin olduğu bölgeye göç ederek rejenerasyon sağladığını göstermişlerdir. Böylece kemik iliği kaynaklı progenitör hücrelerin musküler distrofi gibi kas hastalıklarının tedavisinde kullanılabileceği görüşüne varmışlardır. Bu bilgilere dayanılarak musküler distrofili dişi fare modeli yaratılmış (mdx) ve erkek farelerden alınan hematopoietik kök hücreler dişi farelere IV yoldan verilmiştir. Sonuçta bu hücrelerin kas dokusu ile birleştiği ve kas fibrillerinin %1'inin distrofin salgıladığı gösterilmiştir (34 ). Ayrıca kas kökenli hücreler letal dozda radyasyon almış farelere verildiğinde, hematopoietik hücrelere dönüşmüştür. Böylece kas hücrelerinin de in vivo olarak hematopoietik hücrelere dönüşme potansiyeli olduğu tanımlanmıştır. Ancak Mc Kinney Freeman ve ark (35) bu kas hücrelerinin de hematopoietik kök hücre orijini olduğunu göstermişlerdir. Tüm bu deneyler erişkin kök hücrelerin, ister hematolojik isterse diğer farklı dokulardan olsun büyük bir diferansiyasyon kapasitesi olduğunu göstermektedir.

Kardiyomyositler hipoksi ve iskemiyeye çok duyarlıdır ve rejenerasyon kapasiteleri sınırlıdır (36). Myokard enfarktüsünden sonra ilk ölen hücrelerdir. Splenektomize farelerde hematopoietik hücrelerin veya BMDC hücrelerin kardiyomyosit, endotel ve düz kas hücrelerine dönüşebilme potansiyelleri araştırılmıştır. BMDC hücreleri enfarktüsden sonra direkt enfarktüslü alana enjekte edilir ise bu bölgede proliferasyon olmaktadır (37). Bu hücreler kardiyak düz kas hücrelerinin yüzey markerlarını eksprese ederler ve kardiyak fonksiyonlarda iyileşme gözlenmiştir. Bu deney hematopoietik kök hücrenin kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılabilceğini gösteren ilk hayvan çalışmasıdır. İnsanlarda da iskemik kalbde angiogenezin uyarılmasında BMDC hücreleri başarı ile kullanılmıştır ve BMDC (CD34/CD 133+) hücrelerin intrakardiyak enjeksiyonlarının insanlarda güvenilir olduğu gösterilmiştir (38-40). Tüm bu çalışmalar umut vaat edici olmakla birlikte henüz tam olarak tüm soruların yanıtını vermemektedirler. Bir çok çalışma tek olgu sunumları şeklinde olup yeterli veri yoktur. Gelecekte yapılacak olan insan ve hayvan çalışmalarında, bu hücrelerin engraftment kapasiteleri, kalp kası fonksiyonlarının hangi derecelerde arttığı, hücrelerin yaşam süreleri gibi pek çok sorunun yanıtı araştırılacaktır.

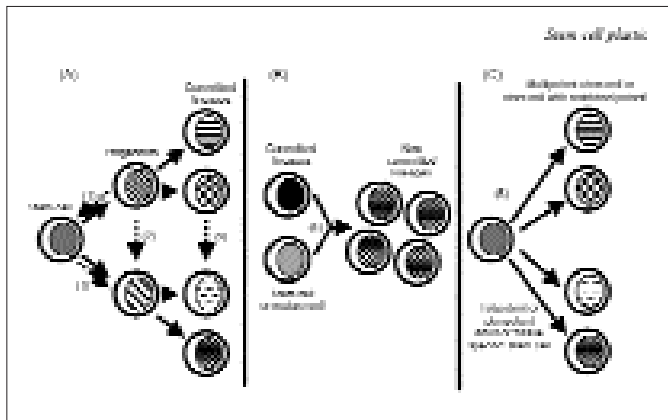
## Mezoderm-Endoderm

Kemirgenlerde ve insanlarda mezodermal kökenli kök hücrelerin örneğin hematopoietik hücrelerin endodermal hücre dizilerine dönüşebildiği bir çok çalışma ile gösterilmiştir (41,42). Hematopoietik hücrelerin hepatositlere farklılaştığı gösterilmiştir. Petersen ve ark (41 ) erkek fareden alınan kemik iliği hücrelerini dişi fareye vermişler ve bu hücrelerin dişi fare karaciğerinde engraftment olduğunu göstermişlerdir. Kök hücre plastisitesini en iyi gösteren çalışmalardan biri Lagasse ve arkadaşları tarafından 2000 yılında yapılmıştır (43). Bu çalışmada Tip 1 Tirozinemi'li (fumarylacetoactate hidrolase-FAH eksikliği) fare modeli yaratılmıştır. FAH eksik farelerdeki karaciğer yetmezliği sağlıklı fare kemik iliği hücrelerinin IV verilmesi ile tedavi edilmiştir. Bu çalışma BMDC hücrelerin hepatositleri rejenere ettiğini ispatlayan önemli bir çalışmadır. Kemik iliği kök hücrelerinin alıcı hepatositleri ile füzyon sonucu yeni hepatositleri oluşturduğu son çalışmalar ile gösterilmiştir (44). İnsanlarda klinik çalışmalarda kemik iliği kaynaklı hücrelerin karaciğerde engraftment olduğu da gösterilmiştir. Alison ve ark (45) erkek donörlerden kemik iliği transplantasyonu yapılmış bayan alıcıların karaciğer hücrelerinde %4-40 arasında Y kromozom ve sitokeratin 8 pozitif hücreler saptamıştır Yeni çalışmalarda donör kaynaklı kemik iliği hücrelerin alıcının karaciğeri dışında gastrointestinal epitel ve deride de olduğu ispatlanmıştır (46). Tüm bu hayvan deneyleri ve insandaki klinik çalışmaların sonucunda; erişkin kemik iliği hücrelerinin hepatositlere farklılaştığı gösterilmiştir. Ancak bu olayın mekanizması tam olarak bilinmemektedir. En son kabul edilen görüş, hücre füzyonudur. Ancak, bu füzyon olayı donör-donor hücresi arasında mı yoksa donör-alıcı hücresi arasında mı olduğu tam bilinmemektedir.

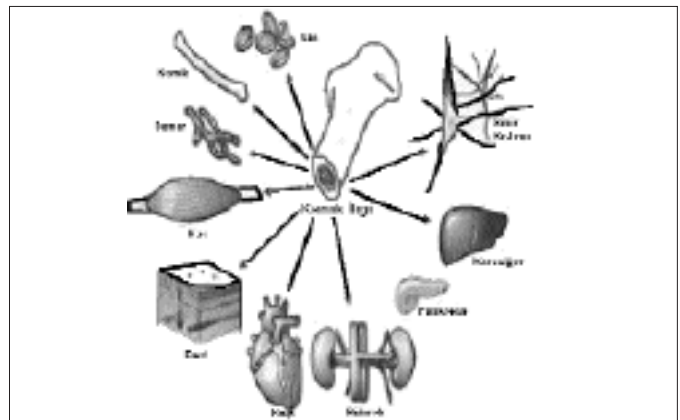
## Kök Hücre Plastisitesini Açıklayan Mekanizmalar

Kök hücre plastisitesini açıklayan 3 ana kriter vardır:

1. Yeni oluşan hücreler tek bir hücreden gelişen homojen bir topluluk olmalı ve bunu gösteren genetik bir marker bulunmalıdır.
2. Hücrelerin farklı bir hücreye dönüştüğü gösterilebilmelidir. Kök hücrelerin in vivo farklılaşmasından önce in vitro pasajlanma esnasında transforme olası olduğu varsayılmaktadır.
3. Alıcı dokuda oluşan yeni donör hücrelerinin fonksiyonel olup olmadığı ortaya konmalıdır. Bu alandaki en iyi çalışma Lagasse ve



Şekil 5: Kök Hücre Plastisitesi.



Şekil 6: Hematopoietik Kaynaklı Kök Hücrenin Kullanım Alanları.

arkadaşlarınınca (43) yapılmış olup, alıcı farede donör hematopoietik hücrelerinin fonksiyonel hepatositlere dönüştüğü ve faredeki karaciğer yetmezliğinin tamamen iyileştiği gösterilmiştir. Bu olay hücre füzyonu ile meydana gelmektedir. Yani, kemik iliği kaynaklı kök hücreler karaciğerde hepatositler ile füzyon mekanizması sonucunda yeni hepatositler oluşturmaktadır. BMDC hücrelerin kas hücrelerine dönüşümü de aynı mekanizma ile olmaktadır. Ancak, pankreas ve glomeruldeki mezenkimal hücreler, BMDC'den hücre füzyonu ile diferansiye olmamaktadır (47,48). Bu nedenle hücrenin kaderini belirleyen yeni programlamanın nasıl olduğu konusunda daha fazla araştırmaya gerek vardır. Bu epigenetik (dediferansiasyon) programlanmayı açıklamak için çekirdeği çıkarılmış embriyonik germ hücreye erişkin somatik hücre veya hematopoietik hücre çekirdeği verilmiş ve hangi yöne doğru diferansiasyon meydana geldiği incelenmiştir. Ancak halen in vivo koşullarda kök hücrenin hangi hücreye diferansiye olacağını belirleyen mekanizmalar tam olarak açığa kavuşmamıştır.

Kök hücre biyolojisinin ana teması, kök hücrenin kendini yenileme (self-renewal), diferansiasyon ve proliferasyon olaylarını yönlendiren mekanizmaların anlaşılmasıdır. Bugüne kadar pek çok gen ve transkripsiyon faktörlerinin kök hücre plastisitesinde rol aldığı saptanmıştır. Kök hücre kaderini belirleyen ekstrinsek ve intrinsek faktörler bugün yeni bir hipotez ile açıklanmaya çalışılmaktadır (49). Bu teoriye göre birbirini izleyen 4 ana basamak vardır (Şekil 7):

1. Başlatıcı sinyal: Eksternal bir uyarı ile örneğin sitokin, kemokin veya adezyon reseptörleri aracılığı ile transkripsiyon faktörlerinin kök hücrede farklılaşma olayını başlatmak

2. Kromatinin yeniden yapılanması (Chromatin remodelling) :Transkripsiyon faktörlerinin etkisiyle kök hücre çekirdek kromatininde yeniden yapılanma oluşur.

3. Transkripsiyonun aktivasyonu: Çekirdek DNA'sına daha fazla transkripsiyon faktörü entegre olur.

4. Yeni gen ekspresyonu: Çekirdek DNA'sı tamamen değiştiği için yeni gen ekspresyonu olur ve kök hücre /progenitor hücreden farklılaştığı dokuya ait yeni hücre gelişimi olmuştur.

Bu yeni teoriye göre tüm bu olaylar hücre siklusu boyunca olmaktadır. Örneğin kromatinin yeniden yapılanması hücre siklusunun G1 fazında olmaktadır. Böylece kök hücre diferansiasyonu hücre siklusunun değişik fazları ve bu dönemde etkisi olan sitokinler, adezyon reseptörleri gibi faktörlere bağlı olarak gelişmektedir. Bu teori herhangi bir kök hücre ve genomunun yeniden programlanarak istenilen hücre serisine farklılaşabileceğini yani kök hücre plastisitesini en iyi şekilde açıklamaktadır. Bu tezin iyice anlaşılması pek çok hastalığın tedavisinde etkin olacak yeni klinik çalışmalara öncülük edecektir.

## Kök Hücre Tedavisindeki Ahlaki ve Yasal Boyut

İnsanlık tarihi boyunca olan yeni bilimsel gelişmelerin toplum tarafından benimsenmesi her zaman sancılı olmuştur. Örneğin Galile dünyanın yuvarlak olduğunu ve kendi eksenini etrafında döndüğünü söylediğinde, bu yeni buluş o anda bilinen tüm inanışlara ters düşmüş ve engizisyon mahkemesinde yargılanmıştır. Daha yakın dönemde insan anatomisini daha iyi anlamamıza neden olan otopsinin veya infertilite kavramını çözmeye yeni bir boyut yaratan tüp bebeğin kabul görmesi zaman almış ve tartışmalara yol açmıştır. Bu tartışmalar toplumun bilincinin de artmasına neden olmakta ve bir sonraki yeni bilimsel bir gelişmenin benimsenebilmesi için toplumsal bilinci de yüksek tutmaktadır.

Kök hücre tedavi ise daha önceki tedavilerden çok daha farklıdır. Çünkü kök hücre plastisitesi ve kendini yenileyebilme potansiyeli sayesinde dejeneratif hastalıklar, kanser, otoimmün hastalıklar, üreme, organ nakli gibi kavramlar yeniden şekillenmekte ve insanlığı nerede ise ölümsüzlüğe doğru bir adım atmaktadır. Bu durumda pek çok etik ve yasal tartışmanın yapılması kaçınılmazdır.

Dinsel açıdan bakıldığında fetus canlı bir birey olarak kabul edildiği için, özellikle embriyonel kök hücre çalışmaları onaylanmaktadır. Etik anlamdaki bu tartışmalar sonucunda ABD'de kök hücre çalışmalarını düzenlemek için yasal bazı düzenlemeler de yapılmıştır. ABD başkanı George W Bush, 9 Ağustos 2001 tarihinde insan embriyosundan alınan kök hücreler ile yapılan çalışmalara verilen para yardımını kısıtlamıştır. Federal kısıtlamaya karşın özel sektörün desteklediği kök hücre teknolojisi bazı eyaletlerde yasal destek bulmakta ve buralarda insan embriyonel kök hücre çalışmaları daha serbest bir şekilde yapılabilmektedir. Örneğin Kaliforniya'da bu çalışmalar desteklenmektedir. Ancak Utah, Arizona gibi eyaletlerde yasaklamalar vardır. İnsan embriyo kaynaklı kök hücre çalışmalarına verilen haklar her eyalete göre değişmekle birlikte, halen ABD'de hiçbir eyalette insan klonlamak yasal değildir. Klonlamanın üreme amaçlı kullanılması pek çok tartışmayı da beraberinde getirmektedir:

1. Klonlanan bireyin kimliği ve yasal hakları, aile ilişkileri, karakteri,

2. Klonlama ile normal seksüel üremenin yerine aseksüel üreme şeklinin gelmesi ile kadın erkek ilişkisindeki değişikliklerin topluma yansımaları,

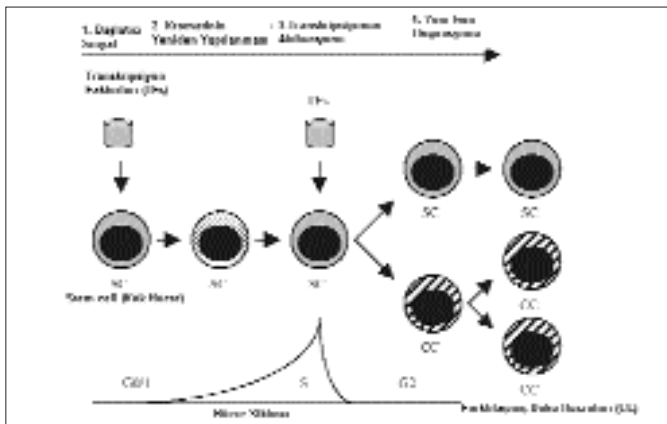
3. Kötü niyetli insanların veya tek bir cinsin daha fazla klonlanması ile toplumsal dengelerde yaşanabilecek bozukluklar,

4. Genetik açıdan daha sağlıklı veya saf bir ırk yaratma kaygısı,

5. Bu işin reklamının yapılması ile para kazanılacak bir sektör oluşturmak ve kötü amaçlar doğrultusunda kullanmak gibi daha pek çok tartışma ve kaygıya da yol açmaktadır.

Bu nedenlerle ABD'de hükümete kök hücre ve klonlama çalışmalarında yol göstermek amacı ile "Başkanlık Biyoetik Kurulu" kurulmuş ve 2002'de insan klonlama resmen yasaklanmış ve kök hücre çalışmalarının sadece organ geliştirme yönünde ilerleyebileceği yasal olarak belirtilmiştir.

Kök hücre biyolojisindeki yeni gelişmeler insanlık tarihinde hem bilimsel hem de toplumsal açıdan devrim yaratabilecek niteliktedir.



Şekil 7: Kök Hücre Farklılaşmasının Açıklayan Teori.

Kök hücrenin kendi kendini yenileyebilmesi ve değişik hücre tiplerine farklılaşabilme özelliği sayesinde; doktorlar yara iyileşmesi, otoimmün hastalıklar, kanser, dejeneratif hastalıklar üreme gibi alanlarda artık çaresiz kalmayacaklardır. Erişkin kök hücrenin plas-tisite potansiyeli halen tam olarak bilinmemektedir. Ancak, embriyonik kök hücre totipotent olup her yöne diferansiye olabile özeliğindedir. Bu nedenle hem terapötik hem de organ geliştirme amaçlı olmak üzere geniş bir yelpazede kullanılabilir. Gelecek dönemde kök hücre biyolojisindeki gelişmeler klinik çalışmalara daha çok yansiyacak ve mitolojik öykülere konu olmuş ölümsüzlüğe doğru bir adım daha yaklaşılacaktır.

## Kaynaklar

1. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998; 282:1145-7.
2. Şenel F. Kök Hücreler. *Bilim ve Teknik dergisi* 2002. 1-15.
3. Xu RH, Chen X, Li DS, et al. BMP4 initiates human embryonic stem cell differentiation to trophoblast. *Nat Biotechnol*. 2002;20:1261-4.
4. Rohwedel J, Guan K, Hegert C, Wobus AM. Embryonic stem cells as an in vitro model for mutagenicity, cytotoxicity and embryotoxicity studies: present state and future prospects. *Toxicol in vitro*. 2001;15: 741-53.
5. Xu C, Police S, Rao N, Carpenter MK. Characterization and enrichment of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. *Circ res*. 2002;91: 501-8.
6. Carpehnter MK, Inokuma MS, Denham J, Mujitaba T, Chiu CP, Rao MS. Enrichment of neurons and neural precursors from human embryonic stem cells. *Exp Neurol* 2001; 172:383-97.
7. Assady S, Maor G, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Skorecki KL, Tzukerman M. Insulin production by human embryonic stem cells. *Diabetes*. 2001; 50:1691-7.
8. Levenberg S, Golub JS, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Langer R. Endothelial cells derived from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:4391-6.
9. Christopher RC, Steven MG, Ronald CS, et al. An overview of stem cell research and regulatory issues. *Mayo Clin Proc*. 2003; 78:993-1003.
10. Campbell KH, Mc Whir J, Ritchie WA, Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*. 1996;380:64-6.
11. Wilmut I, Schnike AE, Mc Whir J, Kind AJ, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*. 1997;385:810-3.
12. Hill JR, Burghardt RC, Jones K, et al. Evidence for placental abnormality as the major cause of mortality in first trimester somatic cell cloned bovine fetuses. *Biol Reprod*. 2000;63:1787-94.
13. De Sousa PA, King T, Harkness L, Young LE, Walker SK, Wilmut I. Evaluation of gestational deficiencies in cloned sheep fetuses and placentae. *Biol Reprod*. 2001;65:23-30.
14. Ogonuki N, Inoue K, Yamamoto Y, et al. Early death of mice cloned from somatic cells. *Nat Genet*. 2002;30:253-4.
15. Tamashiro KL, Wakayama T, Blanchard RJ, Blanchardt DC, Yanagimachi R. Postnatal growth and behavioral development of mice cloned from adult cumulus cells. *Biol Reprod*. 2000;63:328-34.
16. Orlic D. The strength of plasticity: stem cells for cardiac repair. *Int. J of Cardiol*. 95 suppl:1(2004) 16-9.
17. Rendon-Martin E, Watt SM. Exploitation of stem cell plasticity. *Transfusion Med*. 2003;13:325-49
18. Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science*.1998;279:1528-30.
19. Bjorson CR, Rietze RL, Reynolds BA, Magli MC, Vescovi AL. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science*.1999;283:534-7.
20. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*. 1999;284:1168-70.
21. Vogel G. Breakthrough of the year: capturing the promise of youth. *Science*.1999;286:2238-9.
22. Till, J. & McCulloch, E.A. (1961) A direct measurement of the radiatio sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiation Research*, 14, 213–22.
23. Miraglia, S., Godfrey, W., Yin, A.H., Atkins, K., Warnke, R., Holden, J.T., Bray, R.A., Waller, E.K. & Buck, D.W. (1997) A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen: isolation, characterization, and molecular cloning. *Blood*, 90, 5013–21.
24. Orkin, S.H. & Zon, L.I. (2002) Hematopoiesis and stem cells: plasticity versus developmental heterogeneity. *Nature Immunology*, 3 (4), 323–8.
25. Poulosom, R., Alison, M.R., Forbes, S.J. & Wright, N.A. (2002) Adult stem cell plasticity. *The Journal of Pathology*, 197 (4), 441–56.
26. Dieterlen-Lievre, F., Pardanaud, L., Bollerot, K. & Jaffredo, T. (2002) Hemangioblasts and hemopoietic stem cells during ontogeny. *Critical Reviews in Biology*, 325 (10), 1013–20.
27. Pittenger, M.F., Mackay, A.M., Beck, S.C., Jaiswal, R.K., Douglas, R., Mosca, J.D., Moorman, M.A., Simonetti, D.W., Craig, S. & Marshak, D.R. (1999) Multi-lineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 284 (5411), 143–7.
28. Reyes, M., Dudek, A., Jahagirdar, B., Koodie, L., Marker, P.H. & Verfaillie, C.M. (2002) Origin of endothelial progenitors in human post-natal bone marrow. *The Journal of Clinical Investigation*, 109, 337–46.
29. Zhou, S., Schuetz, J.D., Bunting, K.D., Colapietro, A.M., Sampath, J., Morris, J.J., Lagutina, I., Grosveld, G.C., Osawa, M., Nakauchi, H. & Sorrentino, B.P. (2001) The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype. *Nature Medicine*, 7, 1028–34.
30. Mezey, E., Key, S., Vogelsang, G., Szalayova, I., Lange, G.D. & Crain, B. (2003) Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100 (3), 1364–9.
31. Kotton, D.N., Ma, B.Y., Cardoso, W.V., Sanderson, E.A., Summer, R.S., Williams, M.C. & Fine, A. (2001) Bone marrow-derived cells as progenitors of lung alveolar epithelium. *Development*, 128 (24), 5181–8.
32. Krause, D.S., Thiese, N.D., Collector, M.I., Henegariu, O., Hwang, S., Gardner, R., Neutzel, S. & Sharkis, S.J. (2001) Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell*, 105 (3), 369–77.
33. Ferrari, G., Cusella-DeAngelis, G., Coletta, M., Paolucci, E., Stornaiuolo, A., Cossu, G. & Mavilio, F. (1998) Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science*, 279 (5356), 1528–30.
34. Gussoni, E., Soneoka, Y., Stickland, C.D., Buzney, E.A., Khan, M.K., Flint, A.F., Kunkel, L.M. & Mulligan, R.C. (1999) Dystrophin expression in the mdx Mouse restored by stem cell transplantation. *Nature*, 401 (6751), 390–4.
35. Mc Kinney-Freeman SL, Jackson KA, camargo FD, Ferrari G, Mavilio F, Goodell MA. Muscle derived hematopoietic stem cells are hematopoietic in origin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 2002 :99(3):1341-6.
36. Beltrami, A.P., Urbanak, K., Kajstura, J., Yan, S.M., Finato, N., Bussani, R., Nadal-Ginard, B., Silvestro, F., Leri, A., Beltrami, C.A. & Anversa, P. (2001) Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *The New England Journal of Medicine*, 344 (23), 1750–7.
37. Orlic, D., Kajstura, J., Chimenti, S., Bodine, D.M., Leri, A. & Anversa, P. (2001a) Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice (Discussion 229–30).
38. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Gattermann N, Hernandez A, Sorg RV, Kogler G, Vernet P. Intracoronary human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction *Deutsche medizinische Wochenschrift* 2001;126(34-35):932-8.

39. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, et al. Autologous bone marrow stem cell transplantation for myocardial regeneration *Lancet* 2003; 361(9351):45-6.
40. Perin, E.C., Dohmann, H.F., Borojevic, R., Silva, S.A., Sousa, A.K., Mesquita, C.T., Rossi, M.I., Carvalho, A.C., Dutra, H.S., Dohmann, H.J., Silva, G.V., Bellem, L., Vivacqua, R., Rangel, F.O., Esporcatte, R., Geng, Y.I., Vaughn, W.K., Assad, J.A., Mesquita, E.T. & Willerson, J.T. (2003) Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation*, 107 (18), 2294–302.
41. Petersen, B.E., Bowen, W.C., Patrene, K.D., Mars, W.M., Sullivan, A.K., Murase, N., Boggs, S.S., Greenberger, J.S. & Goff, J.P. (1999) Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*, 284 (5417), 1168–70.
42. Theise, N.D., Badve, S., Saxena, R., Henegariu, O., Sell, S., Crawford, J.M. & Krause, D.S. (2000a) Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology*, 31 (1), 235–40.
43. Lagasse, E., Connors, H., Al-Dhalimy, M., Reitsma, M., Dohse, M., Osborne, L., Wang, X., Finegold, M., Weissman, I.L. & Grompe, M. (2000) Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nature Medicine*, 6 (11), 1229–34.
44. Forbes, S.J., Vig, P., Poulson, R., Wright, N.A. & Alison, M.R. (2002) Adult stem cell plasticity: new pathways of tissue regeneration become visible. *Clinical-Science (London)*, 103 (4), 355–69.
45. Alison, M.R., Poulson, R., Jeffery, R., Dhillon, A.P., Quaglia, A., Jacob, J., Novelli, M., Prentice, G., Williamson, J. & Wright, N.A. (2000) Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature*, 406 (6793), 257.
46. Korbling, M., Katz, R.L., Khanna, A., Ruifrok, A.C., Rondon, G., Albitar, M., Champlin, R.E. & Estrov, Z. (2002) Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *The New England Journal of Medicine*, 346 (10), 738–46.
47. Janus, A., Holz, G.G., Theise, N.D. & Hussain, M.A. (2003) In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *The Journal of Clinical Investigation*, 111 (6), 843–50.
48. Masuya, M., Drake, C.J., Fleming, P.A., Reilly, C.M., Zeng, H., Hill, W.D., Martin-Studard, A., Hess, D.C. & Ogawa, M. (2003) Hematopoietic origin of glomerular mesangial cells. *Blood*, 101 (6), 2215–18.
49. Quesenberry, P.J., Colvin, G.A. & Lambert, J.F. (2002) The chiaroscuro stem cell: a unified stem cell theory. *Blood*, 100 (13), 4266–71.