

# KÖK HÜCRELER

Selahattin ÖZMEN\*, Fulya FINDIKÇIOĞLU\*, Maria SIEMIONOW\*\*\*

\* Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi ABD, Ankara-Türkiye.

\*\*\* The Cleveland Clinic Foundation, Dept. of Plastic Surgery, Cl, OH, USA.

## ÖZET

Kök hücreler, son yıllarda tüm tıp camiasının en çok üzerinde durduğu ve her yıl yüzlerce yeni çalışmanın yapıldığı bir konu haline gelmiştir. Sunduğu veya sunacağı öne sürülen muhtemel tedavi olanakları düşüldüğünde, halen tedavisi mümkün olmayan pek çok hastalığa çare olması beklenmektedir. Kök hücrelerin klinik kullanımı günümüzde daha çok onkohematologlar tarafından çalışılmaktadır, ancak en faydalı olacağı alanlardan biri de Plastik Cerrahidir. Kök hücrelerin her türlü allojen doku (gerek karaciğer, böbrek, kalp gibi visceral organlar; gerekse yüz, el, kas, kemik vb. kompozit doku) transplantasyonlarında tolerans oluşturmadaki rolleri yapılan pek çok çalışmada gösterilmiştir. Özellikle son yıllarda doku mühendisliğinde kök hücreler kullanılarak elde edilen başarılar Plastik Cerrahinin tedavi şemalarında ciddi değişiklikler olabileceğinin sinyallerini vermektedir. Ülkemiz koşullarının genellikle yetersizliği nedeniyle ne yazık ki bu tür teknolojilere çok geç adapte olabilmekteyiz. Bu derlemeyi hazırlarken Türk Plastik Cerrahinin bu denli güncel bir konudaki bilgilerini arttırmayı amaçladık. **Anahtar Kelimeler:** Kök hücre, doku mühendisliği, transplantasyon

## SUMMARY

Stem cells become one of the most popular topics of medicine recently, and hundreds of studies are being published every year. Stem cell therapy seems to be a promising tool for the treatment of incurable or challenging diseases. Currently, most of the clinical studies concerning stem cells are being performed by oncohematologists; however, stem cells could offer very important therapeutic alternatives for the plastic surgical therapies, as well. The impact of the stem cells for the induction of the tolerance in the allogeneic tissue (visceral organs including liver, kidney, heart etc. and composite tissues including face, hand, muscle, bone etc.) transplantations field was reported in many studies, previously. The important success reached with the tissue engineering studies using stem cells recently, could be a sign of crucial changes in the field of therapeutic Plastic Surgical applications. Unfortunately most of us are not familiar to the stem cell technology due to insufficient scientific support and financial sources in our country. We wrote this review to increase the knowledge of the Turkish Plastic Surgeons about stem cells and their potential therapeutic applications. **Keywords:** Stem Cell, tissue engineering, transplantation.

## GİRİŞ

Kök hücre transplantasyonu pek çok onko-hematolojik, immünojenik ve metabolik hastalığın tedavisinde gittikçe artan bir öneme sahip olmaya başlamıştır. Tedavi desteğindeki gelişmeler ciddi ve ölümcül yan etki insidansını azaltmıştır, fakat komplikasyonların daha düşük oranlara indirilmesi gerekmektedir.

1949 da Jacobsen<sup>1</sup> ve ark., 1951 de Lorenz<sup>2</sup> ve ark. ilk defa ölümcül dozda ışınlanmış hayvanları kurtarmak için intravenöz kemik iliği infüzyonu ihtimalini ortaya atmışlardır. 1961 de Till ve McCulloch hematopoietik kök hücrelerin sıçanlardaki radyasyona bağlı gelişen hematopoietik yetmezliği düzelttiğini göstermiştir<sup>3</sup>.

O zamanlar hematopoietik kök hücrelerin:

- Radyoaktiviteden korunma kapasitesi olduğuna;
- Tüm hematopoietik seri hücrelerini geliştirebildiğine;
- Kendi kendini yenileme kapasitesi olduğuna, inanılıyordu.

Çok geçmeden hematopoietik kök hücrelerin hematopoietik hücrelerin sadece bir parçası olduğu ve bunların dalak ve kemik iliğinden elde edilebileceği açıklık kazandı.

Hematopoietik hücreler büyüklükleri, yoğunlukları ve belli bazı hücre yüzey işaretlerinin ekspresyonu temel alınarak alt gruplara ayrıldı<sup>4</sup>. Kemik iliği hücrelerinin yaklaşık 1/2000' i (%0,05) hematopoietik kök hücredir<sup>5</sup>.

CD34 kök hücrelerin ve alt gruplarının %1- 4'ü vasküler endotelial hücrelerde bulunan bir transmembran hücre yüzeyi sialomüsindir<sup>5,6</sup>. CD34+ hücrelerin %90'ından fazlası lenfoid, miyeloid veya eritroid serilere farklılaşmasına karar veren karakteristik antijenler taşıy ve bu nedenle pluripotent rekonstrüktif potansiyeli olan kök hücreler olarak düşünülmezler<sup>7</sup>. Uzun- dönem kemik iliği kültürünü başlatan hücreler "(LTC-IC)" CD 34 ekspresye

ederler ve CD3, CD4, CD8, CD10, CD14, CD15, CD19, CD20, CD33, CD38, ve CD71 (CD34+ Lin- hücreler) gibi alt grup antijenlerini taşımazlar. Şu anda hematopoietik kök hücre CD 34 + DR - lin - olarak tanımlanmış ve kullanılmaktadır.

### Hematopoietik Kök Hücre Kaynakları

Hematopoietik kök hücreler kemik iliği, fetal karaciğer hücreleri, periferik kan kök hücreleri, embriyonik kök hücreler, umbilikal kord kanı ve kök hücrelerin in vitro çoğaltılmalarıyla elde edilebilir

#### 1. Kemik İliği Kaynaklı Hematopoietik Kök Hücreler

Geleneksel kök hücre transplantasyonu metodu hiç müdahale edilmemiş tam kemik iliği hücre karışımının damar yolu ile infüzyonudur. Oldukça çok miktarda hücre damardan verilir.

Tam bir kemik iliği hücre süspansiyonu ile kök hücre transplantasyonu için 0,4-1,2 X 10<sup>8</sup> mononükleer hücre/kg (vücut ağırlığı) gerekmektedir<sup>8</sup>, ancak optimum olarak 2-4X10<sup>8</sup>/kg çekirdekli kemik iliği hücresi kullanılmalıdır. Tüm kemik iliğini içeren bir kök hücre transplantı daha düşük oranda greft başarısızlığı ve daha düşük hematolojik malignite nüks oranıyla sonuçlanır. Kemik iliği süspansiyonu temel hematopoietik kök hücre popülasyonunu içeren karışık heterojenitede hücrelerden oluşur. Bir allojen transplant olgusundaki gibi verici ve alıcı arasındaki artmış farklılık GVHD gibi ciddi yan etkilere neden olabilir. Kemik iliği T hücrelerinin oranının azaltılması GVHD sıklık ve şiddetini azaltır fakat sıklıkla zayıf kök hücre yerleşiminde (engraftment) sorunlara neden olabilir<sup>9</sup>.

#### 2. Fetal Karaciğer Hücre Kaynaklı Hematopoietik Kök Hücreler

Hamileliğin 2. ve 7. ayları arasında fetüs karaciğeri fizyolojik olarak hematopoietik dokuların bir parçasıdır. Fetal karaciğer hücreleri hem hematopoietik hem de lenfopoietik sistemleri başarıyla yeniden oluşturabilir ve lenfopoiezin başlamasından önce transplantasyon için kullanılabilirler<sup>10</sup>.

3. Periferik Kandan Hematopoietik Kök Hücreler Kemik iliği ve kan kök hücre havuzları hematopoietik progenitör hücrelerin ekstravasküler kemik iliği bölgelerinden kan dolaşımına ve tam tersi yöne göçüne izin veren dinamik bir denge sağlar. Periferik kanda herhangi bir anda dolaşan kararlı durumdaki progenitör hücrelerin sayısı genellikle güvenli bir transplant dozu için çok düşüktür<sup>11</sup>.

Lökoferezle progenitör hücrelerin elde edilme olasılığı ilk defa 1980 de gösterilmiştir<sup>12</sup>. Bunu kısa süre sonra başarılı kan progenitör hücre hareketiyle ilgili klinik çalışmalar ve hematopoietik yeniden oluşum için hareketlendirilmiş kan hücrelerinin avantajıyla ilgili raporlar takip etmiştir.

Periferik kan kök hücre kullanımıyla ilgili detaylı ilk raporun 1981 de yayınlanmasından beri periferik kan kök hücrelerinin klinik kullanımı hızla artmıştır. Periferik kan

kök hücreleri daha hızlı "engraftment" kinetiği ve elde edilme kolaylığı nedeniyle kök hücre kaynağı olarak geniş oranda kemik iliğinin yerini almıştır. Bir vericiden aferez yöntemiyle elde edilen CD34+ hücre sayısı kemik iliği greftinin içerdiği CD34+ hücre sayısının dört katını geçebilir<sup>13</sup>.

Periferik kan kök hücreleri CD34+/CD38- Thy-1 dir ve miyeloid veya lenfoid serilere özgü markerların tam bir komponentini eksprese etmez (Lin-) <sup>14</sup>. Periferik kan kök hücreleri ne fenotipik, ne de immünolojik olarak kemik iliği kaynaklı kök hücrelerle benzemezler. Hareketli periferik kan kök hücreleri hücresele döngüde daha az aktiftir (S fazında daha az hücreleri vardır), daha çok seriye özgü farklılaşma antijeni taşır ve metabolik olarak daha az aktiflerdir<sup>15</sup>. İlave olarak, daha uzun dönem kültür analizlerinde daha yüksek klonojenite gösterirler.

Kemik iliği greftleriyle kıyaslandığında periferik kan kök hücrelerinin çeşitli avantajları vardır:

- Kök hücrelerin toplanması hastaneye yatmayı veya genel anesteziye maruz kalmayı gerektirmez.
- Miyeloablatif tedaviden sonra periferik kan kök hücrelerinde kemik iliği hücrelerinden daha kısa süreli sitopeni olur. Hem nötrofiller hem trombositler büyüme faktörüyle hareketlendirilmiş periferik kan kök hücreleriyle, kemik iliği hücreleriyle olduğundan daha hızlı iyileşir. Kemik iliği mililitrede en yüksek oranda CD 34+ MNC içerir, fakat kemoterapi ve büyüme faktörüyle mobilizasyondan sonra periferik kandan daha da yüksek sayıda CD34+ hücre elde edilebilir.
- Periferik kanın malign hücre içerme olasılığı kemik iliğinden daha azdır.
- Lökoferez sırasında biriktirilen mononükleer hücreler izole edilip dondurularak saklanan "colony-forming unit granulocyte macrophage (CFU-GM)" ve CD34+ hücreler ihtiva eder<sup>16</sup>.

Periferik kan kök hücre transplantasyonunun dezavantajları<sup>17</sup>:

- Vasküler yaklaşım ihtiyacı.
- Hematopoietik kök hücre hareketlendirmesi için çeşitli faktörlere ihtiyaç duyulması ("chemopriming")
- Sitokin tedavisinin yan etkileri
- Hematopoietik kök hücre hareketlendirmesi farklı derecelerde başarılı olmaktadır.
- İmmün sistemdeki lökositlerin aktive hale gelebilmesi.
- Olguların yaklaşık % 80'inde, büyüme faktörlerinin baş ağrısı, ateş, kemik ağrısı ve miyalji gibi minör yan etkileri görülebilir. rHuG-CSF verilmesi sağlıklı vericilerde daha güvenlidir. Dalak rüptürü ve ölümü içeren önemli morbiditeler çok nadir rapor edilmiştir.
- Alicıda kronik GVHD olasılığında artış (Periferik kök hücre paketinde daha çok sayıda T lenfosit varlığı).

#### 4. Embriyonik Kök Hücrelerden Hematopoietik Kök Hücreler

Embriyonik kök hücreler blastositlerin iç hücre kitlesinden izole edilen totipotent hücrelerdir. Olgun

organizmadaki her türlü hücreyi oluşturabilirler<sup>18</sup>. Totipotent kök hücreler tüm üç germ tabakasından kaynaklanan hücreleri oluşturabilir fakat ekstra-embriyonik yapılardan olan hücre ve dokuları oluşturamaz; bu nedenle tüm embriyoyu oluşturamazlar. Blastositten fetüse gelişim sırasında, endoderm, mezoderm veya ektoderm ve en sonunda tek hücre çeşidine doğru sınırlı bir programlamayla yenisiyle değiştirilen totipotent kök hücreler totipotentliklerini kaybeder.

Çeşitli eriyebilen faktörler fare embriyonik kök hücrelerinin farklılaşmasını yönetir; örneğin, IL-6 hücreleri eritroid seriyeye yönlendirir<sup>19</sup>; IL-3 hücreleri makrofaj, mast hücresi veya nötrofil haline yönlendirir<sup>20</sup>; ve retinoik asit oluşumunu uyarır<sup>21</sup>. Büyüme faktörlerinden hiçbirisi farklılaşmayı özellikle bir hücre tipine doğru yönlendirmez. Çoğu büyüme faktörünün bazı hücre tiplerinin farklılaşmasını engellediği düşünülmektedir ve bu engelleyici etki indüksiyon etkisinden daha belirgindir. Bu nedenle belirli büyüme faktörleri belirli germ tabakalarının farklılaşmasını etkiler.

Totipotensleri nedeniyle embriyonik kök hücreler rejeneratif tıpta potansiyel kullanımlara sahip olabilir<sup>22</sup>. Bazı raporlar fare embriyonik kök hücrelerinin hematopoietik hücreler<sup>23</sup>, nöronlar<sup>24</sup>, kardiyomyositler<sup>25</sup> ve miyositleri<sup>26</sup> içeren özel hücre tiplerine dönüşümünün uyarılabildiğini göstermektedir. Embriyonik kök hücrelerin bu kadar geniş spektrumda hücre tipine farklılaşmasındaki kesin mekanizmalar bilinmemektedir, fakat çevrenin önemli olduğuna inanılmaktadır.

Teorik olarak, embriyonik kök hücreler hiç farklılaşmamış aşamada in vitro olarak sonsuza kadar saklanabilir ve vücudun herhangi bir hücre tipine farklılaşmak için yönlendirilebilir. Bu potansiyel pek çok hastalığı tedavi etmek için bazı laboratuvar üretimi yapay dokulara hatta organlara kaynak olabilir. Öte yandan, domuz embriyonik kök hücreleri ilk izole edildiğinden beri yirmi yıldan fazla süre geçmesine rağmen, insanlardaki embriyonik kök hücre teknolojisi hala emekleme aşamasındadır.

Embriyonik kök hücrelerin klinik olarak uygulanabilmesinden önce bir dizi engellerin aşılması gerekir<sup>27</sup>; istenen hücre tipinde saf bir popülasyonu dikkatli bir şekilde seçmek ve genişletmek için bir giriş mekanizmasına ihtiyaç vardır, embriyonik kök hücrelerin kullanılabilirliğiyle ilgili dini ve ahlaki değerler belirlenmelidir ve allojen transplantasyonlar için alıcıda vericiye özgü toleransın uyarılması gerekmektedir.

Embriyonik kök hücre bazlı tedavide ilk basamak özel bir hücre tipine dönüştürülen embriyonik kök hücrelerin tespit edilmesini sağlamak ve bu seriyi karışık popülasyondan ayırmaktır. Şu ana kadar, embriyonik kök hücre farklılaşması için yapılan girişimlerin hiçbirisi %100 saf, olgun 'alt grup' popülasyonu ile sonuçlanmamıştır. Klinik uygulamalar için ya özel hücre tiplerinin saf popülasyonunun ya da yanlış davranan hücrelerin yok edilmesi için intihar genlerini taşıyan hücrelerin üretim ve çoğaltılmasını sağlayan basit bir genetik yaklaşıma ihtiyaç vardır. Farklılaşmamış embriyonik kök hücrelerinin veya uygun olmayan hücre serilerinin verilmesi teratom oluşma

veya doku fonksiyonunun daha ileri zarar görmesi riski taşır. Bu nedenle, bu zorlukların üstesinden gelmek için kök hücrelerin biyolojisiyle ilgili pek çok temel sorunun cevaplanması gerekmektedir.

Ayrıca, tüm allojen transplantlarda olduğu gibi alıcı tarafından transplantın reddedilme riski vardır. Öte yandan, embriyonik kök hücre kaynaklı hücre transplantı yüksek oranda immünojenik olgun dendritik hücrelerden arınmış olabilir ve transplantasyon sırasında sadece MHC kompleks class I, (class II'yi değil), ekspres edecektir. Uzun dönem immünespresif tedavinin sağlanması başarılı klinik uygulamayı etkileyebileceği için, immün toleransın oluşturulması embriyonik kök hücre kaynaklı tedavinin kullanılmasını sağlayacaktır.

İnsan embriyonik kök hücre kaynaklı tedaviler tamamen yenidir ve insan klinik denemeleri başlamadan önce güvenlik ve etkinlik konusundaki kaygılar belirlenmeli ve açıklığa kavuşmalıdır.

### 5.Umbilikal Kord Kanından Hematopoietik Kök Hücreler

Hematopoietik kök hücreler kana ulaşırlar ve hematopoez için perinatal yer değiştirmeleri sırasında olduğu gibi gelişmeleri süresince kanda dolaşırlar. Umbilikal kord kanındaki hematopoietik kök hücrelerinin engraftment'inin daha kolay olabilme ve GVHD insidansının olasılığının daha az olması son zamanlarda ilgiyi daha çok umbilikal kord kanı üzerine yoğunlaştırmıştır. Umbilikal kord kanının doğum sırasında fetüsü ya da anneyi etkilemeden alınabilmesi oldukça avantajlıdır.

Bazı otörler umbilikal kord kanının hematopoietik kök hücrelerinin zenginleştirilmiş kaynağı olabileceğini rapor etmiştir. Klinik denemelerde, umbilikal kord kanı kök hücre transplantasyonu yüksek bir engraftment potansiyeli ve düşük akut GVHD riski göstermiştir<sup>28</sup>. Verici için risk olmaması ve çok düşük enfeksiyöz hastalık taşıma riski olması umbilikal kord kanı kök hücre transplantasyonunun avantajlarıdır<sup>28</sup>. Her yenidoğan potansiyel bir verici olduğu için, umbilikal kord kanı bankası oluşturulması teorik olarak her HLA tipi için kullanıma hazır hematopoietik kök hücre kaynağı sağlayabilir.

Umbilikal kord kanının ana dezavantajı tek bir vericiden toplanabilen kan miktarının sınırlı olması ve toplama işleminin sadece bir kez yapılabilmesidir.

Geliştirilmiş tekniklerle 200 ml'ye kadar umbilikal kord kanı elde edilebilir ve bu kan 4x10<sup>6</sup> myeloid progenitör içerebilir; fakat rapor edilmiş olan toplanabilen umbilikal kord kanı hacimleri değişkendir<sup>29</sup> ve sadece 20-40 ml elde edilmesi nadir değildir<sup>30</sup>.

Toplanan hacmi; gebelik süresi, kord uzunluğu, kordun klemplenme pozisyonu, kord klemplenene kadar infantan doğum süresi, yenidoğanın ağırlığı ve kord klemplenmesi sırasında ve öncesinde yenidoğanın plasentaya göre seviyesi gibi bazı doğumsal faktörler etkileyebilir<sup>31</sup>. Takip edilen işlem sırası ve toplama sırasında kullanılan aletler de sonuçta elde edilen miktarı etkileyebilir.

Açık ve kapalı toplama sistemleri tanımlanmıştır<sup>32,33</sup>. Plazenta halen uterusstayken veya plasentanın doğumundan hemen sonra, açık sistemler kesilmişi kordun maternal

tarafından kanı kavanoz veya tüplere drene eder. Kapalı sistemler ise veni delerek kanı, kan biriktirme poşetlerine veya şırıngalara aktırır<sup>32</sup>. Klinik kullanım için umbilikal kord kanı genellikle plasenta doğumundan sonra bakteriyel ve maternal kan kontaminasyonunu engellemek ve doğum işlemine olabilecek müdahalelerden kaçınmak için kapalı sistemler kullanılarak toplanır<sup>33</sup>.

Sonuç olarak, geliştirilmiş hematopoietik kök hücre in vitro genişletme teknikleriyle birlikte umbilikal kord kanı biriktirme işlemlerinin optimizasyonu umbilikal kord kanının klinik faydalarını artırabilir. Dondurarak saklama yöntemini kullanarak umbilikal kord kanı kök hücreleri daha büyük kardeşlerdeki transplantasyon için veya gen transferinde hedef hücre olarak kullanılabilir<sup>34</sup>.

#### 6. Hematopoietik Kök Hücrelerin İn vitro Çoğaltılması

Progenitör ve postprogenitör hücrelerin in vitro çoğaltılması lökoferez için olan ihtiyacı azaltabilir ve düşük sayıda progenitör hücre içeren bir aferez ürünü yeterli hücre sağlayabilmek için çoğaltabilir<sup>35</sup>.

- Hematopoietik kök hücrelerine gen transferi genetik olarak modifiye edilmiş hematopoietik hücrelerin sürekli bir kaynağının oluşmasına neden olur. Hematopoietik kök hücreleri içeri sokulan geni taşıyan kuvvetlendirilmiş serinin bir yaşam boyu kaynağını sağlayabilir.

- Potansiyel viral vektörler, özellikle retrovirüsler, erken hematopoietik progenitör hücrelerin DNA'sıyla birleştirilebilirler.

- Başarılı allojen kemik iliği transplantasyonu çeşitli kan ve immün hücre hastalıklarını düzeltebilir ve bu hastalıklar muhtemelen hematopoietik kök hücrelerdeki doğal tip genlerin ekspresyonuyla tedavi edilebilir.

- Pek çok kalıtsal enzim eksikliği hastalığı hematopoietik kök hücre kaynaklı pek çok kan ve immün hücre sclarlerinin tüm organizmada dolaşıma girmesiyle tedavi edilebilir.

- Retroviral vektörler, genleri güvenli ve etkili bir şekilde hedef hücrelerin genomuna ekleyebilir. Vaşî tip virüs bulunmayan ve replikasyon-defektif rekombinant virüs üretilmesine izin veren paketleyici hücreler etkin ve güvenli retrovirüsler tarafından yönetilen gen transferi sağlayabilir<sup>36</sup>. Ayrıca adeno-bağlantılı virüsler genlerin hedef hücrelere transferi için kullanılabilir. Adenovirüsler yüksek virion titrelerinin oluşturulmasına imkan verir, yardımcı hücre bulaşı olmadan rekombinant virionları stabilize eder, ve potansiyel olarak daha iyi güvenlik özelliklerine sahiptirler<sup>37</sup>.

Gen tedavisinin çeşilli dezavantajları vardır. İn vitro koşullarda işlemler sırasında biyolojik özelliği kolaylıkla kaybedilebilir; kültür yapılmış kök hücrelerden zayıf engraftment rapor edilmiştir<sup>38</sup>. Ayrıca kemik iliğindeki hematopoietik progenitör hücreler kök hücre yeteneklerini periferik kandaki hematopoietik kök hücrelerinden daha kolay kaybederler<sup>39</sup>. Bu nedenle hematopoietik kök hücreleri içeren tedavi edici stratejileri tasarlamak, gelişimlerinin değişik basamaklarındaki kök hücreler arasındaki farklı biyolojik davranış göz önünde bulundurulmalıdır<sup>40</sup>.

Gen transfer deneylerinde farklılaşmanın uyarılıp

başlatılması olgun fonksiyonel hücre elde etmek için önemlidir; fakat farklılaşma da bir problem olabilir çünkü gerçek kök hücrelerin in vitro korunması gerekir. Homolog rekombinasyon oranını arttırmak için yeni teknikler gelişim aşamasındadır.

#### Kök Hücre Tedavisinde Yenilikler

Kök hücreler tarafından sunulan muhtemel tedavileri anlatmadan önce kök hücre ailesinin iki üyesinden bahsetmek gerekir. Bunlar erişkin kök hücreler ve mezenkimal kök hücrelerdir. Yukarıda anlatıldığı gibi embriyonik, periferik kan ve umbilikal kord kök hücrelerinin önemi iyi bilinmektedir. Son yıllarda erişkin kök hücrelerin içinde buldukları dokudan farklı diğer çeşitli hücre tiplerine farklılaşma yetenekleri kanıtlandı. Erişkin ve mezenkimal kök hücrelerinin in vitro koşullarda çoğaltılması ve bu hücrelerin doku mühendisliğinde kullanılması değişik tipte dokuların yeniden yapılandırılması için umut verici tekniklerdir.

#### Erişkin Kök Hücreleri

Erişkin kök hücreleri her dokudaki toplam hücre sayısının küçük bir parçasıdır. Bir erişkin kök hücre tüm hayatı boyunca kendini yenileme yeteneği olan farklılaşmamış bir hücredir. Erişkin insan kemik iliğinde toplam kan hücrelerinin 1/104 ile 1/105 arası veya daha fazlasını oluştururlar.

Erişkin kök hücreleri iki ana özellikleriyle tanınırlar: hücre morfoloji ve içinde buldukları doku veya organa onları bağlayan özel işaret proteinleri. Son zamanlara kadar insan erişkin kök hücrelerinin gelişimsel olarak yapıldığı ve sadece içinde buldukları dokunun hücre serilerine farklılaşabildikleri düşünülüyordu. Fakat bir dizi deney erişkin kök hücrelerinin 'plastisite' veya 'transdiferasyon' olarak nitelenen çeşitli hücre tiplerine farklılaşma yeteneğine sahip olduklarını göstermiştir. İnsan erişkin kök hücre çalışmaları kalp kası hücrelerine<sup>41</sup>, iskelet miyoblastlarına<sup>42</sup>, nöroektodermal hücrelere (nöronlar, oligodendrositler ve astrositler)<sup>43</sup>, hepatositler ve kolanjiositlere<sup>44</sup>, deri, karaciğer, sindirim (ösefagus, barsaklar ve mide) ve solunum sistemi epitel hücrelerine<sup>45</sup> ve endotel hücrelerine<sup>46</sup> farklılaşmayı göstermiştir. Transdiferasyon çalışmaları özel bir çevrenin dokuya özel kök hücrelerin gelişimini belirlediği fikri üzerine kurulmuştur. Uzak veya yakın dokudan sinyaller bu sınırlayıcı sinyalleri ertelleyebilir ve hücrelerin özel dokulara farklılaşmasına rehber olabilir<sup>47</sup>.

Erişkin kök hücrelerinin diğer bir önemli özelliği buldukları yerden doku gelişimi ve onarımı olan bölgelere göç etme yetenekleridir. Kemik iliği kaynaklı kök hücreler kemik iliğinden deri, akciğer, barsak ve mide dokularına farklılaşır<sup>45</sup>.

Teorik olarak bu hücreler laboratuarda farklılaştırılıp doku onarımı için aynı bir yere geri verilebilir; böylece immünyüpresyon ihtiyacı da olmaz. Fakat bazı kök hücre tipleri için buldukları yere erişme ve hücreleri izole etmedeki zorluklar, düşük frekans, hücre kültüründe zayıf gelişme ve sınırlı serilere dönüşebilme potansiyeli bunların doku mühendisliği için kullanımlarını elverişsiz hale getirir<sup>48</sup>.

### Mezenkimal Kök Hücreler

Erişkin kemik iliği stroması mezenkimal kök hücreleri veya mezenkimal progenitor hücreler olarak bilinen hematopoietik hücre olmayan bir hücre grubu içerir. Bunlar kemik, kırıldak, yağ, tendon, kas ve kemik iliği stromasını içeren farklı mezenkimal dokulara in vitro veya in-vivo olarak gelişebilen multipotent öncüllerdir ve bu onları doku mühendisliği çalışmaları için çekici bir hücre kaynağı yapar<sup>49</sup>. Bunlar kemik iliği hücrelerinin yaklaşık sadece %0,01 ile %0,001'ini temsil eder; fakat cam ve plastiğe yapıştıkları için hematopoietik kök hücrelerinden kolaylıkla ayrılabilirler<sup>50</sup>. Vücutta kemik iliği, kemik, kırıldak, düz kas ve iskelet kası gibi dokularda bulunduğu ve deri, karaciğer, beyin hücreleri (nöronlar ve glia) gibi hücrelere dönüşebildiği gösterilmiş olan mezenkimal kök hücreler vardır. Tam tersi olarak nöral kök hücrelerden kan hücrelerine de dönüşüm gösterilmiştir<sup>51,52</sup>.

İnsanlarda ana mezenkimal kök hücre kaynağı kemik iliği stromasıdır. Mezenkimal kök hücre elde etmek için crista iliaca'dan alınan kemik iliğinin en uygun olduğu düşünülmektedir<sup>53</sup>. Fakat yaşla birlikte kemik iliğindeki mezenkimal kök hücre sayısı önemli oranda azalır; bu nedenle, olog ve allojen kullanım için alternatif kaynaklar gerekmektedir<sup>54</sup>. Umbilikal kord kanı kök ve progenitor hücreler için zengin bir kaynaktır ve insan umbilikal kord veninden kültür edilen mezenkimal kök hücre benzeri hücrelerin immünofenotipleme ve morfolojik çalışmalarının sonuçları, bu hücrelerin kemik iliği ve diğer kaynaklardan elde edilen kültüre edilmiş mezenkimal kök hücrelerine çok benzediği fikrinin ileri sürülmesine neden olmuştur<sup>51</sup>.

Mezenkimal kök hücreleri kemik iliğinden izole ettikten sonra in vitro kültür koşullarında çoğaltılmak mümkün hale gelmiştir. Doku mühendisliğindeki olası kullanımlarına ve hücre bazlı tedaviye<sup>55,56</sup> ek olarak, mezenkimal kök hücreler değişik retroviral ve diğer vektörlerle değiştirilebilir, sistemik ve lokal hastalıkların somatik gen terapileri için kullanılabilir. Kanser hastalarının malign hücrelerine kemoterapötik ilaçların taşınmasını sağlayan genlerle modifiye edilmiş mezenkimal kök hücrelerle yapılmış başarılı çalışmalar mevcuttur. Kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin, de novo myokard oluşturduğu ve enfarkt alanına yapılan mezenkimal kök hücre infüzyonunun artmış global kalp fonksiyonu sağladığı bilinmektedir. Aynı hücrelerin başka uyaranlarla nöral hücre serisine dönüşmesiyle mezenkimal kök hücrelerin; felç, travmatik hasarlar, Parkinson hastalığı, spinal kord yaralanmaları gibi durumlarda kullanılabileceğini gösteren deneysel çalışmalar da bulunmaktadır. Kemp ve arkadaşları yaptıkları prelinik ve klinik çalışmalar neticesinde hematolojik hastalığı olup myeloablative terapi görmüş hastaların hematopoietik kök hücre engraftmanını arttırmada hematopoietik prekürsörlerle birlikte mezenkimal kök hücrelerin de kullanılabileceğini göstermişlerdir<sup>57,58</sup>.

Mezenkimal kök hücreler çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda kullanılabilir ve omurga cerrahisinde kullanımı da oldukça akla yatkın gözükmektedir. Helm ve Gazit klinik olarak intervertebral disk onarımı ve spinal artrodezlerde kök hücre kullanımının yakın gelecekte gerçekleştirilebileceğini öne sürmektedirler<sup>59,60</sup>.

### Allojenik Transplantasyonda Kök Ve Progenitor Hücreler

Solid organ transplantasyonu son evre organ yetmezliği için neredeyse sıradan bir tedavi haline gelmiştir. Fakat gelişmiş immünespresif rejimlere rağmen, şu andaki immünespresif ilaçlar idealden uzaktır; kronik greft reddi engellenemez ve tüm greftlerin uzun dönem yaşayabilirliği sınırlıdır. Gecikmiş allogreft kaybının ana sebebi kronik rejeksiyondur<sup>54</sup>.

İmmünespresif ilaçların yaşam boyu kullanılması gecikmiş yara iyileşmesi, fırsatçı enfeksiyonlar, ilaca bağımlı toksisiteler, deri maligniteleri, düşük dereceli lenfomalar (transplant sonrası lenfoproliferatif bozukluklar), böbrek yetmezliğiyle birlikte organ toksisitesini içeren pek çok komplikasyonlara neden olur<sup>55</sup>.

Kompozit doku allogreftleri deri, tendon, sinir, kas veya kemiğin bir birleşimidir ve rekonstrüktif cerrahide bir sonraki basamak olacaktır. İnsanlarda kompozit doku allogreftlerinin uygulanmasının organ transplantasyonundan daha zor olduğu sanılmaktadır çünkü<sup>61</sup> bu dokulardan bazıları, örneğin derinin, bir organ transplantasyonunun herhangi bir parçasından daha antijenik olduğuna inanılmaktadır ve sağlam kemik iliği transplantasyondan sonra donör antijenlerinin devamlı bir kaynağını sağlayan greftin bir parçası olabilir.

İmmünespresif ilaç kullanan hayvanlarda uzamış kompozit doku allogreft yaşayabilirliği sağlanabilmiştir, fakat hayatı tehdit etmeyen kompozit doku rekonstrüksiyonu için bu ilaçların kullanılması insanlarda klinik olarak uygun olmayabilir<sup>62</sup>. Donöre özgü allogreft toleransının oluşturulması, normal alıcı immün fonksiyonunun korunması ve kalıcı allogreft yaşayabilirliğinin uzun süre immünespresif tedaviden uzak durarak başarılması en uygun yaklaşım olur<sup>63</sup>.

Transplantasyon toleransı başlatarak immünespresif tedaviyi kesmek için çeşitli girişimler yapılmıştır. Transplantasyon toleransını başlatmak için en çok çalışılmış ve en etkin yaklaşımlardan birisi hematopoietik kök hücre kimerizmiyle sonuçlanan kemik iliği transplantasyonudur. Kemik iliği transplantasyonunun karışık lenfoid kimerizm geliştirerek donöre özgü immün tolerans sağladığı düşünülmektedir<sup>64</sup>. Bazı deneysel modellerde kemik iliği transplantasyonu kaynaklı hematopoietik kök hücre makrokimerizmi çeşitli allogreftlere donöre özgü tolerans başlatılabilir<sup>65</sup>. İntraosseöz (intratibial) hücre CD90+ kök hücre transplantasyonu ile ilgili bir çalışmada immünespresif ilaç terapisi yapmadan sıçanların allojen arka ekstremiteletlerinin yaşayabilirliğini 15 güne kadar uzatıldığı gösterilmiştir<sup>66</sup>. Bu çalışmada akım sitometrik analizler allogreft tedavi grubu (kök ve progenitor hücre enjeksiyonu) alıcılarının periferik kanlarında donör özgü kimerizm seviyesinin allogreft kontrol grubu (kök ve progenitor tedavi grubu yok) alıcılarının periferik kanındaki kimerizm seviyesiyle kıyaslandığında daha yüksek donör özgü kimerizm seviyesini ortaya koymuştur.

Sıçan arka bacak ve vaskülarize kasık deri/ kemik modellerinde vaskülarize kemik iliği transplantasyonu kullanılarak allogreft yaşayabilirliğini kısa dönem (7 gün) siklosporin A ve ??-T hücre monoklonal antikolarıyla

tedavi ederek 700 günden fazla uzatılabilmiştir <sup>67</sup>.

Allojen kompozit doku transplantasyonlarında kök hücre kullanarak tolerans oluşturulması umut verici bir yaklaşımdır ve hayatı tehdit eden immünsupresif tedaviler olmadan el, larinks, tendonlar, sinirler ve hatta yüzün bile transplantasyonuna izin verecektir.

#### **Doku Mühendisliğinde Kök ve Progenitör Hücreler**

Doku mühendisliği yaşayan sağlıklı hücreleri vücuttan izole edip, çoğaltıp, onları biyouyumlu taşıyıcı materyallerle birleştirmek ve bunları hastalara yeniden transplante edebilmek olanaklı olduğundan beri hızla gelişen bir alan olmuştur <sup>47</sup>. Son zamanlarda, dikkatler multipotansiyel, embriyonik, periosteal ve mezenkimal kök hücrelere yönelmiştir. Kök hücrelerin çeşitli dokulara farklılaşma potansiyeli rejeneratif tıp için önemlidir, fakat farklılaşma yollarını ve bu hücrelerin gelişimini istediğimiz dokulara doğru nasıl yönlendireceğimiz konusu henüz tam olarak anlaşılabilir. Doku onarımı için kemik iliği stromal hücrelerini kullanan erken çalışmalar kemik eksikliklerinin onarımına odaklanmıştır <sup>68</sup>. Son zamanlarda çalışılan bazı prelinik modeller ve klinik uygulamalar yara ve yanık onarımı için keratinositler ve dermal fibroblastlar <sup>69</sup>, kırık onarımı için kondrositler <sup>70</sup>, miyokard onarımı için miyositler <sup>71</sup>, yaşa bağlı maküler dejenerasyon için retinal pigment epitelyum hücreleri <sup>72</sup> ve merkezi sinir sistemi lezyonlarında miyelini onarmak için Schwann hücre transplantasyonlarını içerir <sup>73</sup>.

İn vitro implant oluşturmak için bir bireyin kendi kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerini kullanarak doku mühendisliği zaman alıcıdır. İki alternatif araştırılmaktadır. İlki kompleks dokuları allojen mezenkimal kök hücrelerle prefabrike etmektir. Allojen mezenkimal kök hücreler transplant için doku üretmek amacıyla kullanılır ve biriktirilip daha sonra implante edilebilir. Geniş hayvan modellerinde, donör kaynaklı mezenkimal kök hücreler otolog mezenkimal kök hücreleri tarafından üretilenlere benzer rejeneratif doku ürettirler <sup>47</sup>. Önceki çalışmalar hem hayvan hem de insan mezenkimal kök hücrelerinin (kostimulatuar) antijenler taşımadığını göstermişti ve bu nedenle immün olarak ayrıcalıklıymış gibi görünüyordular <sup>74</sup>.

Araştırılan ikinci alternatif mezenkimal kök hücrelerin direkt in vivo kullanılmasıdır. Bu yaklaşım için mezenkimal kök hücrelerin kemoçekiciliğini, bölgeye özgü mitotik bölünmelerini arttıran özel bir hücre serisine doğru indüksiyonları ve yeni oluşan dokunun ev sahibi dokuyla birleşmesi için bir dizi faktör gereklidir <sup>74</sup>. Bu faktörleri implantasyondan önce bir yapı iskelesinin üzerine enjekte etmek veya üzerinde hareketsiz hale getirmek mümkündür.

#### **a. Kemik Doku Mühendisliğinde Kök Hücreler**

Geniş kemik parçalarının rekonstrüksiyonu halen hekimlere çekici gelmektedir, ancak şu ana kadar ideal bir seçenek bulunamamıştır. Osteokondüktif bir çatıyla kombine edilen osteojen işlenmiş hücrelerin mühendisliğiyle elde edilen kemik greft materyali ümit veren bir yaklaşım olabilir. Bazı otörler multipotent kök ve progenitör hücreler kullanarak kemik greft mühendisliğinde iyi sonuçlar bildirmişlerdir <sup>75</sup>. Rapor

edilen modellerin çoğunda uzun bir kemikte oluşturulmuş geniş bir segmental eksiklik in vitro çoğaltılmış otolog osteojenik progenitörleri taşıyan silindirik şekilde poröz bir biyoseramikle doldurulmuştur. Stromal osteoprogenitörler lokal olarak biyoseramik çatılara aktarıldığında kök hücreler kritik boyutlu kemik eksiklerinin iyileşmesini geliştirmiştir. Hayvanlardaki bu başarılı sonuçlardan sonra insanlarda kemik yeniden oluşumu için çeşitli klinik denemeler yoldadır <sup>76</sup>. Kök ve progenitör hücreler ve bunların doku rejenerasyonundaki fonksiyonları hakkında yeni bilgiler bunları kraniyofasiyal defektlerin düzeltilmesinde kullanmak için kuvvetli bir temel sağlar.

Yapılan çalışmalarda geniş kemik defektlerinin olduğu durumlarda kemik rejenerasyonu için, izole edilip kültürde çoğaltılmış mezenkimal kök hücreler osteokondüktif, osteoindüktif ve osteopromotif stratejilerle birleştirilmiş ve en az otojen kansellöz kemik grefti kadar başarılı sonuçlar elde edilmiştir <sup>77,78</sup>.

#### **b. Kırık Doku Mühendisliğinde Kök Hücreler**

Hasarlanmış kırıkdağın onarım ve rejenerasyonu için doku mühendisliği kullanılarak in vitro fabrike edilen yapay kırıkdağ kullanımı bir seçenek olabilir <sup>79</sup>. Çeşitli çalışmalar kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin kırıkdağ ve kemik doku mühendisliği için kültüre edilmeleri ve çoğaltılmaları zor olan primer kondrosit ve osteositlerden daha umut verici adaylar olduğunu göstermiştir <sup>80</sup>. Progenitör hücreler defekt olan dokunun içine implante edildikten sonra çoğalır ve kondrositlere farklılaşır. Öte yandan, günümüze kadar kırıkdağın tam olarak onarımı mümkün olmamıştır ve tam olgun kondrositlere farklılaşma için çevreleyen ev sahibi doku içinde yeni oluşan kırıkdağa ihtiyaç vardır. Mezenkimal kök hücre kaynaklı hücre tedavisi ve seçilmiş farklılaşan sitokinlerin gen transferinin birleşimi faydalı olabilir <sup>47</sup>.

#### **c. Yara İyileşmesinde Kök Hücreler**

Endotelial progenitör hücre tedavisi ve terapötik vaskülojenin plastik cerrahide çeşitli uygulamaları vardır. Son zamanlarda problemler alanlarda yeni damar oluşumunu arttırmak için endotelial progenitör hücre transplantasyonu kullanılmaktadır <sup>81</sup>. Sistemik dolaşıma enjekte edildikten sonra endotelial progenitör hücreler seçici bir şekilde iskemik dokulara yerleşir, böylece bu endotelial progenitör hücreler iskemik flepleri kurtarmada önemli olabilir. Bu nedenle, terapötik damar oluşumunun flep yaşayabilirliğini, yara iyileşmesini geliştirme, doku çoğalmasını hızlandırma ve doku mühendisliğini kolaylaştırma potansiyeli vardır. Endotelial kök ve progenitör hücreler diyabetik hastalarda veya yanıklarda olduğu gibi komplike yaraların tedavisinde, tek başına büyüme faktörlerinden ziyade hücreleri yenileyerek faydalı olabilir.

#### **d. Tendon Mühendisliğinde Kök Hücreler**

Çeşitli deneylerde fibroblastlar veya kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler tendon ve ligament onarımını iyileştirmek için tip I kollajen jellerine implante edilebilir <sup>82</sup>. Biyokimyasal ve histolojik analizlerin gelişmiş doku yapısını ortaya koymasına rağmen, tendon ve ligament eksiklerinin tam iyileşmesini temin etmek ve biyomekanik özellikleri ve hasarlanmış tendonun fonksiyonelliğini geliştirmek için daha başka çalışmalara ihtiyaç vardır. Dış

kaynaklı büyüme faktörlerinin kullanımı tendon ve ligament doku mühendisliğinin başarısını arttırabilir.

#### e. Kas Doku Mühendisliğinde Kök Hücreler

Konjenital anomaliler, travma ya da cerrahiler nedeniyle kayıpları olan hastalar için, doku mühendisliği ile üretilmiş in vitro çizgili kas kullanımını engelleyen en önemli problem besleyici damar olmamasıydı. Borschel ve ark. sıçanların solcus kasından doku alıp, miyoblastları izole etmişler; fibrinojen hidrojel içeren bir silindir vasıtasıyla alıcı bir diğer sıçanın femoral arteri etrafına yerleştirip 3 haftalık bir inkübasyon süresi sonunda izometrik kuvvet ölçümleri ve histolojik inceleme yapmışlardır. Yapılan elektriksel stimülasyon testlerinde longitudinal kasılma kuvveti oluştuğu, desmin boyaması olduğu, von Willebrand boyamasıyla da silindirik dokunun içinde anjiogenez ve yeni kapiler oluşumu gözlenmiştir<sup>83</sup>. İskemiye bağlı kardiyomyositlerde skar oluşumu ve ventrikülde azalmış kontraktilite gözlenir. Kardiyomyoplasti için yapılan pek çok girişim sonucu en uygun kaynağın mezenkimal kök hücreler olabileceğine dair yayınlar mevcuttur.<sup>84, 85</sup>

#### f. Damar Mühendisliğinde Kök Hücreler

Vasküler düz kas hücreleri damarların media tabakasında bulunur ve damar duvarının "remodeling" ve vazoaaktivitesinin kontrolü konusunda önemli rol oynarlar. Kemik iliği mezenkimal kök hücreleri vasküler rejenerasyon tedavisi için potansiyel bir hücre kaynağı olup doku mühendisliğiyle vasküler greftler hazırlamak için gereken düz kas hücrelerini oluşturmak için kullanılabilirler<sup>87,88</sup>.

#### g. Nöral Doku Mühendisliğinde Kök Hücreler

Yağ kaynaklı erişkin kök hücreleri bir mezenkimal kök hücre popülasyonu olup; kondrosit, myosit, osteoblast ve nöral progenitör hücrelere dönüşebildikleri rapor edilmiştir. Nöral progenitör hücreler beyin ölümü gerçekleşmiş insan korteksinden de elde edilebilmesine rağmen vericide yarattığı morbidite nedeniyle sağlanan hücre popülasyonu kısıtlı olmaktadır. Vücutta çok miktarda bulunan ve belirgin donör alan morbiditesi yaratmadan elde edilebilecek bir doku olması nedeniyle yağ dokusu üzerinde araştırmalar yoğunlaşmış ve çeşitli indüksiyon solüsyonlarında nöral doku dönüşümü gözlenmiştir. Çeşitli araştırmacılar yağ doku kaynaklı kök hücreleri kullanarak hasarlı sinir sistemlerine intraserebroventriküler olarak enjekte etmiş ve bu hücrelerin daha çok hasarlı bölgelere göç ettiğini göstermişlerdir. Daha ileri düzeyde çalışmalar halen devam etmektedir<sup>89</sup>.

#### Kök Hücrelerin Geleceği

Gen değiştirme tekniklerindeki gelişmeler kök hücrelerin in vitro çoğaltılmaları sırasında değişebilmelerine imkan verir; böylece bir hastanın kendi kök hücrelerini bile daha iyi hale getirmek mümkün olabilir. Örneğin, genetik bir hastalıkta kaybolan bir gen aktivitesini yerine koymak veya bozuk bir gen aktivitesini durdurmak mümkün olabilecektir. Ayrıca bir bireyden elde edilen ve kendi doku onarımı için kullanılan ologok kök ve progenitör hücreler immünojenik olarak idealdir. Fakat pek çok hastalığı ve eksikliği tedavi etmek için kök ve progenitör hücrelerin vaat ettiği büyük potansiyele rağmen çözülme bekleyen

pek çok sorun vardır:

1. Transplantasyonun başarılı olabilmesi için önce tüm kök hücrelerin farklılaşması gerekir; aksi takdirde sürekli bölünüp çoğalma yeteneği taşıyan tek bir farklılaşmamış kök hücrenin bile varlığı tümör oluşumuyla sonuçlanabilir.

2. Bir allojen transplantasyondan sonra farklılaşmış kök hücreler alıcının immün sistemi tarafından kendinden olarak tanınmadığı zaman immünojenik cevap verici hücrelerin alıcıya dahil olmasını engelleyebilir. Bu durumda kök hücreler genetik değişikliklerde bireyselleştirilebilir veya transplante edilen hücrelerle birlikte immünsupresif tedavi kullanılabilir. Değişik MHC zemini içeren geniş bir kök ve progenitör hücre havuzuna sahip olmak ve transplantasyon için en uygun olanlarını kullanmak diğer bir çözüm seçeneği olabilir.

3. Bazı mezenkimal hücre serilerini başlatan ajanlar bilinmesine rağmen, serilerin gelişimini düzenleyen moleküler detayların araştırılması gerekmektedir. Her bireyin genotipi büyüme faktörü ve sitokinlerin salgılanmasını belirler<sup>74</sup>. Ek olarak, mezenkimal kök hücre kültürleri donöre özgü sitokin seviyeleri gösterir. Böylece doku mühendisliği uygulamaları hastaya özgü serileri uyarıcı ve serileri düzenleyici faktör dozları gerektirebilir<sup>74</sup>.

4. Kök hücre tedavisinde diğer bazı problemler alıcıya kök hücre türevlerinin nasıl, nereye ve ne zaman verileceğinin, bu hücrelerin potansiyellerinin zamanla değişip değişmeyeceğinin, istenen forma ulaşmak için yapısal çatıya ihtiyaç olup olmadığının, embriyonik kök hücrelerinden elde edilen hücrelerin etki durumunun erişkin hücrelerinden farklı olup olmadığını ve alıcının hastalığının çok ileri evreye ilerlemeden önce transplantasyon için gereken miktarlara etkin şekilde nasıl farklılaştırılabileceği veya genetik olarak nasıl değiştirilebileceğinin belirlenmesini içerir<sup>90</sup>.

Yrd. Doç. Dr. Selahattin ÖZMEN

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi  
Plastik, Rek. Ve Estetik Cerrahi A.D.  
Beşevler-Ankara, 06500

#### KAYNAKLAR

1. Jacobson LO, Marks EK, Robson MJ, et al. Effect of spleen protection on mortality following x-irradiation. J Lab Clin Med 34:1538, 1949.
2. Lorenz E, Uphoff D, Reid TR, et al. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. J Natl Cancer Inst 12:197, 1951.
3. Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. Radiat Res 14:213, 1961.
4. Smith LG, Weissman IL, Heimfeld S. Clonal analysis of hematopoietic stem-cell differentiation in vivo. Proc Natl Acad Sci USA 88:2788, 1991.
5. Uchida N, Weissman IL. Searching for hematopoietic stem cells: evidence that Thy-1.1low Lin-Sca-1 cells are the only stem cells in C57BL/Ka-Thy-1.1 bone marrow. J Exp Med 175:175, 1992.

6. Andrews RG, Singer JW, Bernstein ID. Precursors of colony-forming cells in humans can be distinguished from colony-forming cells by expression of the CD33 and CD34 antigens and light scatter properties. *Blood* 67:842, 1986.
7. Baumhueter S, Dybdal N, Kyle C, et al. Global vascular expression of murine CD34, a sialomucin-like endothelial ligand for L-selectin. *Blood* 84:2554, 1994.
8. Thomas ED, Storb R. Technique for human marrow grafting. *Blood* 36:507, 1970.
9. Areman EM, Deeg HJ, Sacher RA. Bone Marrow and Stem Cell Processing: A Manual of Current Techniques. Philadelphia: F.A. Davis & Co., 1992.
10. Kernan NA, Flomenberg N, Dupont B, et al. Graft rejection in recipients of T-cell-depleted HLA-nonidentical marrow transplants for leukemia. *Transplantation* 43:842, 1987.
11. Fliedner TM, Steinbach KH. Repopulating potential of hematopoietic precursor cells. *Blood Cells* 14:393, 1988.
12. Valdimarsson H, Moss PD, Holt PJ, Hobbs JR. Treatment of chronic mucocutaneous candidiasis with leucocytes from HL-A compatible sibling. *Lancet* 1:469, 1972.
13. Goldman JM, Th'ing KH, Park DS, et al. Collection, cryopreservation and subsequent viability of haemopoietic stem cells intended for treatment of chronic granulocytic leukemia in blast-cell transformation. *Br J Haematol* 40:185, 1978.
14. Bensinger WI, Weaver CH, Appelbaum FR, Rowley S, Demirer T, Sanders J, et al. Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 85:1655, 1995.
15. Storek J, Gooley T, Siadak M, Bensinger WI, Maloney DG, Chauncey TR, et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation may be associated with a high risk of chronic graft-versus-host disease. *Blood* 90(12):4705, 1997.
16. McNicce IK, Stewart FM, Deacon DM, et al. Detection of a human CFC with a high proliferative potential. *Blood* 74:609, 1989.
17. Runde V, de Witte T, Arnold R, et al. Bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as first-line treatment in patients with myelodysplastic syndromes: early transplantation is associated with improved outcome. *Bone Marrow Transp* 21:255, 1998.
18. Taichman RS, Emerson SG. The role of osteoblasts in the hematopoietic microenvironment. *Stem Cells* 16(1):7, 1998.
19. Briscoe DM, Dharnidharka VR, Isaacs C, et al. The allogeneic response to cultured human skin equivalent in the hu-PBL-SCID mouse model of skin rejection. *Transplantation* 67:1590, 1999.
20. Wiles MV, Keller G. Multiple hematopoietic lineages develop from embryonic stem (ES) cells in culture. *Development* 111(2):259, 1991.
21. Slager HG, Van Inzen W, Freund E, Van den Eijnden-Van Raaij AJ, Mummery CL. Transforming growth factor-beta in the early mouse embryo: implications for the regulation of muscle formation and implantation. *Dev Genet* 14(3):212, 1993.
22. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 292(5819):154, 1981.
23. Potocnik AJ, Kohler H, Eichmann K. Hemato-lymphoid in vivo reconstitution potential of subpopulations derived from in vitro differentiated embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:10295, 1997.
24. Lee S-H, Lumelsky N, Studer L, et al. Efficient generation of midbrain and hindbrain neurons from mouse embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 18:675, 2000.
25. Klug MG, Soonpaa MH, Koh GY, et al. Genetically selected cardiomyocytes from differentiating embryonic stem cells form stable intracardiac grafts. *J Clin Invest* 98:216, 1996.
26. Ng WA, Doetschman T, Robbins J, et al. Muscle isoactin expression during in vitro differentiation of murine embryonic stem cells. *Pediatr Res* 41:285, 1997.
27. Strom TB, Field LJ, Ruediger M. Allogeneic Stem Cells, Clinical Transplantation, and the Origins of Regenerative Medicine. *Curr Opin Immunol* 14(5):601, 2002.
28. Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chamard A, et al. Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. *N Engl J Med* 337:373, 1997.
29. McCullough J, Herr G, Lennon S, et al. Factors influencing the availability of umbilical cord blood for banking and transplantation. *Transfusion* 38:508, 1998.
30. Donaldson C, Armitage WJ, Buchanan RM, et al. Obstetric factors influencing cord blood collections. *Blood* 92:121a, 1998.
31. Shlebak AA, Roberts IAG, Stevens TA, et al. The impact of antenatal and perinatal variables on cord blood hematopoietic stem/progenitor cell yield available for transplantation. *Br J Haematol* 103:1167, 1998.
32. McCullough J, Herr G, Lennon S, et al. Factors influencing the availability of umbilical cord blood for banking and transplantation. *Transfusion* 38:508, 1998.
33. Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 86:3828, 1989.
34. Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med*. 321:1174, 1989.
35. Miller AD, Buttimore C. Redesign of retrovirus packaging cell lines to avoid recombination leading to helper virus production. *Mol Cell Biol*. 6:2895, 1986.
36. Dunbar CE, Emmons RV. Gene transfer into hematopoietic progenitor and stem cells: progress and problems. *Stem Cells* 12:563, 1994.
37. Williams DA. Ex vivo expansion of hematopoietic stem and progenitor cells-robbing Peter to pay Paul. *Blood*. 81:3169, 1993.
38. Bhatia M, Bonnet D, Kapp U, et al. Quantitative analysis reveals expansion of human hematopoietic repopulating cells after short-term ex vivo culture. *J Exp Med* 186:619, 1997.
39. Shimakura Y, Kawada H, Ando K, Sato T, Nakamura Y, Tsuji T, et al. Murine stromal cell line HESS-5 maintains reconstituting ability of ex vivo-generated hematopoietic stem cells from human bone marrow and cytokine-



- mobilized peripheral Blood. *Stem Cells* 18(3):183, 2000.
40. Hanazono Y, Terao K, Ozawa K. Gene transfer into nonhuman primate hematopoietic stem cells: implications for gene therapy. *Stem Cells* 19(1):12, 2001.
  41. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted mouse myocardium. *Nature* 410:701, 2001.
  42. Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, et al. Muscle regeneration by bone marrow derived myogenic progenitors. *Science* 279:1528, 1998.
  43. Mezey E, Chandross K, Harta G, et al. Turning blood in brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. *Science* 290:1779, 2000.
  44. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nature Med.* 6:1229, 2000.
  45. Krause D, Theise N, Collector M, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell.* 105:369, 2001.
  46. Jackson KA, Majka SM, Wang H, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest.* 107:1395, 2001.
  47. Ringe J, Kaps C, Burmester GR, Sittlinger M. Stem cells for regenerative medicine: advances in the engineering of tissues and organs. *Naturwissenschaften.* 89:338, 2002.
  48. Vogel G. Can adult stem cells suffice? *Science.* 292:1820, 2001.
  49. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, et al. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells.* 19:180, 2001.
  50. Colter DC, Class R, DiGirolamo CM, et al. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow. *Proc Natl Acad Sci USA.* 97:3213, 2000.
  51. Campagnoli C, Roberts IAG, Kumar S, et al. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood.* 98:2396, 2001.
  52. Krabbe C, Zimmer J, Meyer M: Neural transdifferentiation of mesenchymal stem cells-a critical review. *APMIS* 113(11-12):831, 2005.
  53. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.* 284:143, 1999.
  54. Rao MS, Mattson MP. Stem cells and aging: expanding the possibilities. *Mech Ageing Dev.* 122:713, 2001.
  55. Tilney NL, Whitley WD, Diamond JR. Chronic rejection: an unidentified conundrum. *Transplantation.* 52:389, 1991.
  56. Dunn DL. Problems related to immunosuppression. Infection and malignancy occurring after solid organ transplantation. *Crit Care Clin.* 6:955, 1990.
  57. Kemp KC, Hows J, Donaldson C: Bonemarrow-derived mesenchymal stem cells. *Leuk Lymphoma* 46(11): 1531, 2005.
  58. Wislet-Gendebien S, Wautier F, Leprince P, Rogister B: Astrocytic and neuronal fate of mesenchymal stem cells expressing nestin. *Brain Res Bull.* 68(1-2):95, 2005.
  59. Helm GA, Gazit Z: Future uses of mesenchymal stem cells in spine surgery. *Neurosurg Focus* 19(6):E13, 2005.
  60. Uccelli A, Zappia E, Benvenuto F, Frassoni F, Mancardi G: Stem cells in inflammatory demyelinating disorders: a dual role for immunosuppression and neuroprotection. *Expert Opin Biol Ther* 6(1):17, 2006.
  61. Lee WP, Yaremchuk MJ, Pan YC, Randolph MA, Tan CM, Weiland AJ. Relative antigenicity of components of a vascularized limb allograft. *Plast Reconstr Surg.* 87(3):401, 1991.
  62. Benhaim P, Anthony JP, Ferreira L, Borsanyi JP, Mathes SJ. Use of combination of low-dose cyclosporine and RS-61443 in a rat hind limb model of composite tissue allotransplantation. *Transplantation.* 61(4):527, 1996.
  63. Foster RD, Ascher NL, McCalmont TH, Neipp M, Anthony JP, Mathes SJ. Mixed allogeneic chimerism as a reliable model for composite tissue allograft tolerance induction across major and minor histocompatibility barriers. *Transplantation.* 72(5):791, 2001.
  64. Sachs DH. Mixed chimerism as an approach to transplantation tolerance. *Clin Immunol.* 95(1 Pt 2):63, 2000.
  65. Fuchimoto Y, Yamada K, Shimizu A, Yasumoto A, Sawada T, Huang CH, et al. Relationship between chimerism and tolerance in a kidney transplantation model. *J Immunol.* 162(10):5704, 1999.
  66. Siemionow M, Zielinski M, Ozmen S, Izycki D, Ozcr K. Intraosseous injection of the donor-derived bone marrow stem and progenitor cells increase donor-specific chimerism and extends composite tissue allograft survival. *Transplant Proc.* 37(5): 2303, 2005.
  67. Siemionow MZ, Izycki DM, Zielinski M. Donor-specific tolerance in fully major histocompatibility major histocompatibility complex-mismatched limb allograft transplants under an anti- $\alpha$ beta T-cell receptor monoclonal antibody and cyclosporine A protocol. *Transplantation.* 76(12):1662, 2003.
  68. Takagi K, Urist MR. The role of bone marrow in bone morphogenetic protein-induced repair of femoral massive diaphyseal defects. *Clin Orthop Relat Res.* 171:224, 1982.
  69. Carsin H, Ainaud P, Le Bever H, Rives J, Lakhel A, Stephanazzi J, et al. Cultured epithelial autografts in extensive burn coverage of severely traumatized patients: a five year single-center experience with 30 patients. *Burns.* 26:379, 2000.
  70. Peterson L, Minas T, Britberg M, Lindahl A. Treatment of osteochondritis dissecans of the knee with autologous chondrocyte transplantation: results at two to ten years. *J Bone Joint Surg Am.* 85-A Suppl 2:17, 2003.
  71. Tran N, Li Y, Bertrand S, Bangratz S, Carreaux JP, Stoltz JF, et al. Autologous cell transplantation and cardiac tissue engineering: potential applications in heart failure. *Biorheology.* 40:411, 2003.
  72. Binder S, Stolba U, Krebs I, Kellner L, Jahn C, Feichtinger H, et al. Transplantation of autologous retinal pigment epithelium in eyes with foveal neovascularization resulting from age-related macular degeneration: a pilot study. *Am J Ophthalmol.* 133:215, 2002.
  73. Cheng B, Chen Z. Fabricating autologous tissue to engineer artificial nerve. *Microsurgery.* 22:133, 2002.
  74. Caplan AL, Bruder SP. Mesenchymal stem cells: building

- blocks for molecular medicine in the 21st century. *Trends Mol Med.* 7:259, 2001.
75. Kon E, Muraglia A, Corsi A, et al. Autologous bone marrow stromal cells loaded onto porous hydroxyapatite ceramic accelerate bone repair in critical-size defects of sheep long bones. *J Biomed Mater Res.* 49:328, 2000.
  76. Grzesik WJ, Cheng H, Oh JS, Kuznetsov SA, Mankani MH, Uzawa K, et al. Cementum-forming cells are phenotypically distinct from bone-forming cells. *J Bone Miner Res.* 15(1):52, 2000.
  77. Kraus KH, Kirker-Head C: Mesenchymal stem cells and bone regeneration. *Vet Surg.* 35(3):232, 2006.
  78. Arinze TL: Mesenchymal stem cells for bone repair: preclinical studies and potential orthopedic applications. *Foot Ankle Clin.* 10(4):651, 2005.
  79. Wakitani S, Goto T, Pineda SJ, et al. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am.* 76:579, 1994.
  80. Lee HS, Huang GT, Chiang H, Chiou LL, Chen MH, Hsieh CH, et al. Multipotential mesenchymal stem cells from femoral bone marrow near the site of osteonecrosis. *Stem Cells* 21:190, 2003.
  81. Cairo MS, Wagner JE. Placental and/or umbilical cord blood: an alternative source of hematopoietic stem cells for transplantation. *Blood.* 90:4665, 1997.
  82. Awad HA, Butler DL, Harris MT, Ibrahim RE, Wu Y, Young RG, et al. In vitro characterization of mesenchymal stem cell-seeded collagen scaffolds for tendon repair: effects of initial seeding density on contraction kinetics. *J Biomed Mater Res.* 51:233, 2000.
  83. Borschel GH, Dow DE, Dennis RG, Brown DL: Tissue-engineered axially vascularized contractile skeletal muscle. *Plast Reconstr Surg.* 2006 June 117(7):2235, 2006.
  84. Minguell JJ, Erices A: Mesenchymal stem cells and the treatment of cardiac disease. *Exp Biol Med (Maywood)* 231(1):39, 2006.
  85. Fukuda K: Progress in myocardial regeneration and cell transplantation. *Circ J* 69(12):1431, 2005.
  86. Zinmet JM, Hare JM: Emerging role for bone marrow derived mesenchymal stem cells in myocardial regenerative therapy. *Basic Res Cardiol* 100(6):471; 2005.
  87. Kurpinski K, Park J, Thakar RG, Li S: Regulation of vascular smooth muscle cells and mesenchymal stem cells by mechanical strain. *Mol Cell Biomech* 3(1):21, 2006.
  88. Riha GM, Lin PH, Lumsden AB, Yao Q, Chen C: Review: application of stem cells for vascular tissue engineering. *Tissue Eng* 11(9-10):1535, 2005.
  89. Kokai LE, Rubin JP, Marra KG: The potential of adipose-derived adult stem cells as a source of neuronal progenitor cells. *Plast Reconstr Surg* 116(5):1453, 2005.
  90. Pfenfender KC, Kawase E. The potential of stem cells. *Obstet Gynecol Sur.* 58(3):197, 2003.