ISSN: 2148-9815

Kök Hücre E-Bülteni

Yaşam Bankası FamiCord Group destekleriyle...

www.kokhucrebulteni.com
info@kokhucrebulteni.com

Sayı: 11
Ocak-Şubat 2016

Editör'den

Alp Can

Yeni Yıla Merhaba...

Yeni yılda **KHB**'nin 11. sayısıyla hepinize tekrar merhaba. Kış aylarının hava koşulları nedeniyle kongre-sempozyum gibi bilgi alış-verişinin yoğun yapılageldiği birlikteliklere kısa bir süre için ara versek de kök hücre ile ilgili bilimsel gelişmeler tüm hızıyla sürüyor.

Prof.Dr. Aziz Sancar'ın geçtiğimiz sayıda yer verdiğimiz ve göğsümüzü kabartan Nobel Ödülü, 10 Aralık'ta yapılan görkemli ve geleneksel törenle kendisine sunuldu. Sayın Prof. Sancar, ülkesinin insanlarının bu denli sevgisine ve ilgisine önce şaşırdığını belirtse de doğup temel eğitimini aldığı ülkesinin değerini çok iyi bildiğini her fırsatta belirtirken çok önemli bir jestte de bulundu ve ödülü Ata'mıza ithaf etti. Madalyasını bir törenle 19 Mayıs'ta Anıtkabir'e taşıyacak olan Prof. Sancar, umarız ülkemizde bilim politikasının yönlenmesi için gerekli adımların atılmasına da vesile olur.

Bu sayıya ilk olarak intrauterin kök hücre tedavisi haberiyle başlamak istedik. Fetüs döneminde kendini göstermeye başlayan doğum anomalilerinden birisi olan osteogenezis imperfecta'da 15 hastalık bir klinik çalışmanın başlıyor olması önemli bir gelişme, kuşkusuz. Ardından **Doç.Dr. Özgür Çınar** çok tartışılan bir konudaki son on yılın gelişmelerini kalem aldığı yazısında ovosit öncüsü kök hücrelerin varlığı konusundaki tartışmaların daha süreceğini belirtiyor. Üçüncü olarak **Prof.Dr. Osman Köse** derinin yaşlanmasında epidermal kök hücrelerin önemini ve hücresel tedavilerde potansiyel olarak kullanılabileceğini öne süren bir yazı ile aramıza katıldı. Bio.**Merve Sucu** geçtiğimiz ay yayınlanan ilginç bir doku mühendisliği girişimini sizin için derledi. Bu sayıda daha önce hiç yer vermediğimiz bir konuyu ele aldık. **Uzm.Dr. Zeynep Gülhan Yığman** tarafından derlenen bu yazıda günümüzde araştırmacılara sunulan embriyo ve fetüs dokusu kaynakları ele alındı.

Bu sayıda, **Yeni Çıkan Kitaplar** bölümüne tekrar yer verdik. Konumuzla ilgili 2015 yılının son aylarında piyasaya çıkan üç farklı kitabı sizler için **Dr. Duru Aras** derledi.

Tüm sayılarımızda olduğu gibi son olarak **Sizlerden Gelen**, **Kongre, Sempozyum ve Kurs** duyuruları ve **Ayın Fotoğrafı**'na yer verdik.

Yeni yılınızın mutlu ve başarılı geçmesi dileklerimizle 12. sayıda buluşuncaya kadar hoşça kalın...

Haberler

Alp Can

İntrauterin Kök Hücre Tedavisi Başlıyor!...

Osteogenezis imperfecta (Oİ) olarak bilinen ve kemiklerin kırılgan hâle gelmesine neden olan genetik hastalıkta (Lobstein sendromu) kollajen yapımı bozukluğu söz konusu. Her 20.000-25.000 doğumda bir görülen bu hastalığa sahip fetüslere intrauterin dönemde tanı konabilmekte. Oİ tanısı alan yeni doğan bebeklerde çoklu kemik kırıkları nedeniyle doğum sırasında veya kısa süre sonrasında ölüm riski çok fazla. Sağ kalanlarda da her yıl yaklaşık 15 kemik kırığı, kırılgan diş gelişimi, gevşek eklem hareketleri, kas gücünde azlık, işitme ve büyüme problemleri görülmekte. Temelde (%90) tip 1 kollajen yapımından sorumlu olan *COL1A1* ve *COL1A2* genlerinde mutasyon olan bu bireylerde hafiften ağır forma kadar 8 alt tip görülebiliyor. Hafif tiplerde otozomal dominant iken ağır tiplerde otozomal resesif geçiş söz konusu. Ağır tiplere kıkırdak proteinlerinin bozukluğu da eşlik ediyor ve genellikle ölümcül oluyor. Oİ'nin tanısı DNA testi ve deri biyopsisinde kollajen analiziyle konuyor. İntrautarin fetüslerde tanı ultrasonografi ve mikrotomografi yardımıyla yapılıyor.

Oİ hastalarda vücutta en yaygın bulunan hücre dışı matriks proteinlerinden birisi olan tip 1 kollajenin miktar ve kalite yönünden üretim bozukluğu söz konusu. Aslında bozukluk glisin amino asidinin kollajen üçlü sarmalına katılmasıyla gerçekleşiyor. Ortaya çıkan bozuk kollajen molekülleriyle hücre dışı ortamda bulunan hidroksiapatit kristallerinin oluşturduğu yapılar kemikleri kırılgan hâle getiriyor. Özgün bir tedavisi olmayan Oİ'de hastalara kemik yoğunluğunu artıracak ve kas gücünü kazandıracak girişimler uygulanıyor. Bisfosfonat türü ilaçlar semptomatik olarak kullanılıyor.

Özellikle Oİ'nin ağır tiplerinde gelişim hasarı erken dönede başlıyor ve yaşamı ciddi olarak tehdit ediyor. O nedenle tedavinin intrauterin dönemde başlatılması büyük önem taşıyor. Fetüsün hacimce küçük oluşu, bağışıklık sisteminin henüz gelişmemiş olması ve dışarıdan verilen hücrelerin yüksek yamanma (engraftman) kapasitesi de bir avantaj olarak kabul ediliyor. Fetüs kalbinin sağdan sola kan geçişini sağlaması da hücrelerin sistemik uygulanması için diğer bir üstünlük.

İsveç Karolinska Enstitüsünden **K. Le Blanc**, **C. Götherström ve ark**. bundan 10 yıl önce tek olguda bir deneme gerçekleştirmişti [Transplantation 79: 1607-1614, 2005] ve daha sonra iki yıl önce de 2 olguluk bir rapor yayınladılar [Stem Cells Translational Medicine 3: 255-264, 2014]. Bu çalışmalarda kullanılan allojeneik mezenkimal kök hücreler 7 ve 10 haftalık, HLA uyumsuz, iki erkek embriyonun karaciğerinden alınmıştı. İlk hasta olan kız fetüse 31. gebelik haftasında kilo başına 5 milyon hücre ve postnatal dönemde de (8. yaşında) kilo başına 2.8 milyon hücre verilmişti. Diğer kız hastaya 31. gebelik haftasında kilo başına 30 milyon hücre, 1,5 yaşında da kilo başına 10 milyon hücre verilmişti. Her iki olguda da hücre naklinden bir süre sonra FISH tekniği ile verilen hücreler vericinin hücreleri taranmıştı. Alıcı tarafından immün red olayı görülmediği bildirildi. Hem intrauterin hem de postnatal allojeneik insan mezenkimal kök hücre nakli yapılan bu iki bebeğin de verilen hücreleri iyi tolere ettiği bildirilmişti. İlginç olan bulgu, prenatal verilen hücrelerin yamanma oranının (% 7,4) postnatal verilen hücrelere kıyasla (% 0,003) çok daha yüksek oluşu. Bunun ötesinde her ikisinde de beklenenden daha iyi bir klinik seyir rapor edildi. Nakil sonrası uzun süre kemik kırıkları gerçekleşmedi.

Şimdi; bu fetüslere henüz doğmadan kollajen sentezini doğru gerçekleştirecek olan fetüs kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin enjeksiyonunun gerçekleştirileceği 15 hastalık faz 1/2 mezenkimal kök hücre tedavi denemesi gündemde. İsveç'teki Karolinska Enstitüsü ile İngiltere'deki Great Ormond Street Hospital'dan iki grup araştırmacı iki yıl sürecek bu çalışmanın Ocak 2016'da başlayacaklarını duyurdu. Dr. **C. Götherström** çalışmayı yürütecek grubun başında yer alırken İngiltere'den Dr. **Lyn Chitty** tedavi öncesi genetik testleri gerçekleştirecek. Tüm olgularda hem prenatal hem de postnatal enjeksiyon yapılacak. Bir başka 15 bebeklik gruba ise sadece postnatal nakil yapılarak sonuçlar prenatal nakil yapılanlarda kıyaslanacak.

Çalışmaya konu olan Oİ bireyler arasında büyük farklar göstermekte. O nedenle hücresel tedavi girişimlerinde hücre dozu ayarlaması zor gözüküyor. Özellikle fetüs için yüksek dozların toksik olabileceği düşünülmekle birlikte tedavi etkinliği açısından yüksek dozların tercih edilmesi gerektiği vurgulanıyor. Şimdilik çoklu nakillerin (prenatal ve postnatal) gerekliliği kaçınılmaz gözüküyor. Yine de insandaki bu ilk faz 1/2 çalışmanın sonuçlarının olumlu olması durumunda Oİ tanılı hastalar için intrauterin tedavi girişimleri yaygınlaşabilir.

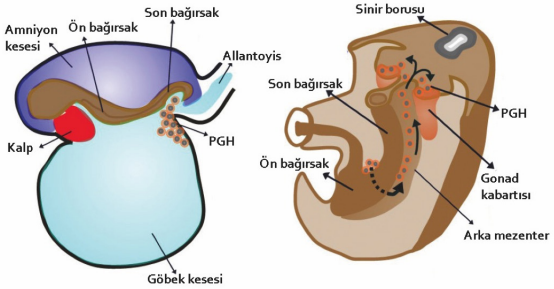
Üreme Hücreleri

Özgür Çınar

Ovosit Öncüsü Kök Hücrelerinde Güncel Durum. On Yılda Ne Değişti?

Zuckerman'ın 1951 yılında "*The number of oocytes in the mature ovary (Recent Prog Horm Res)*" başlıklı makalesiyle ortaya koymuş olduğu sabit ovaryum rezervi dogmasını sorgulayarak, doğumdan sonra da başta ovaryumlar olmak üzere vücutta çeşitli yerlerde ovosite dönüşecek kök hücrelerin olabileceğinin tartışılmasına neden olan **Johnson ve ark**.'ın 2004 yılında Nature'da yayınlanan "*Germ line stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary*" başlıklı çalışmasının yayınlanmasının üzerinden 10 yıldan fazla zaman geçti. Peki bu 10 yılın sonunda Zuckerman'ın 65 yaşına basacak olan tanımlaması değişti mi?

Aslına bakılacak olursa hikaye 1920'li yıllara kadar ovaryumdaki ovosit rezervinin sabit olup olmadığı konusunun tartışılagelmesiyle başlıyor. 1921'e geldiğimizde **Pearl ve Schoppe**'un yayınladıkları "*Studies on the physiology of reproduction in the domestic fowl. (J Exp Zool)*" çalışmaları bu rezervin sabit olduğu yönündeyken, hemen iki yıl sonrasında **Allen**'in "*Ovogenesis during sexual maturity. (Am J Anat 1923)*" makalesi ovaryumun zaten germ hücresi bulunduran bir epitele sahip olduğunu çağrıştıran bir isme sahip germinal epitel (*epithelium germinativum*) bölgesinden, ovosite dönüşecek öncül hücrelerin varlığını bildirmesiyle 1951 yılına kadar rafa kaldırıldı. Yukarıda sözünü ettiğim, Zuckerman'ın geniş çaplı çalışmasıysa bilim dünyasının fikrini tekrar değişerek, bu yazıyı okuyan herkesin üniversite yıllarında öğrenmiş olduğu, sabit ovaryum rezervi görüşünün kabul edilmesine neden oldu. Ne diyordu sabit ovaryum rezervi dogması? Ovosite dönüşecek hücreler, intrauterin dönemin erken aşamalarında (insanda 3. haftada) göbek kesesi (*umbilical vesicle, yolk sac*) duvarında beliren öncül germ hücreleridir (*primordial germ cells, PGH*). Bu hücreler göçe başlayıp inen aorta komşuluğunda arka mezenteri geçip gonad kabartılarına yerleşir (***Şekil***). Mitozlarla sayılarını arttıran bu hücreler, önce ovogonyumlara dönüşür ve ardından mayoza girip profaz-I'in diploten aşamasında ovulasyona kadar bekler.



2004 yılına gelindiğinde Johnson ve ark.'nın yayınladığı bir Nature makalesi pandoranın kutusunun yeniden açılmasına neden oldu. Bu çalışmada, araştırmacılar özetle, şunları söylediler:

1. Fare ovaryumlarının herhangi bir anda incelenmesiyle izlenen atretik folikül sayısı ele alınarak yapılan bir matematiksel modelleme sonucunda ovaryumlardaki folikül/ovosit dejenerasyon hızının çok daha erken ovaryum rezervinin tükenmesine neden olması gerekirken aslında durum böyle değildir; dolayısıyla ovosite dönüşecek başka bir kaynak olmalıdır.
2. Erişkin fare ovaryumlarında ovosit öncüsü kök hücre belirteçlerinin varlığı izlenmiştir.
3. Yabanıl tip bir farenin ovaryum parçaları alındıktan sonra ovaryumları kesilerek ikiye ayrılmış ve yeşil flüoresan proteini (GFP) ifade eden transjenik farelerin kesilen ovaryumlarının arasına yerleştirildiğinde; bir süre sonra yabanıl tip greft dokusunda GFP ifadesinde bulunmayan granüloza hücrelerinin arasında GFP ifadesi olan ovositlerin izlenmesi, GFP-transjenik konağa ait ovosit öncüsü hücrelerin yabanıl tip doku içine girerek burada bir folikül içinde gelişmeye neden olması söz konusudur. Araştırmacılar tüm bu bulguları alt alta koyarak ovaryumlarda ovosite dönüşebilecek hücreler olduğunu söylediler.

Bilim dünyasında ilgi ve heyecan uyandıran bu çalışmanın tartışmaları henüz başlama aşamasındayken, aynı ekibin bir yıl sonrasında Cell dergisinde yayımladıkları "*Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood (Cell, 2005)*" başlıklı çalışmada kemik iliği ve perifer kanından izole ettikleri öncül hücrelerin GFP transfeksiyonu sonrasında fare ovaryumlarına verilmesi sonucunda ovaryumlarda GFP pozitif ovositlerin varlığını bildirdiler. Bu bulguyla sadece ovaryumlarda değil, kemik iliği ve perifer kanında da ovosit öncüsü kök hücrelerin varlığının olduğunu öne sürdüler.

2004 ve 2005 yılındaki bu makalelerin ardından konu pek çok çalışmada ele alındı. Bunlardan birisi **Eggan ve ark**.'nın 2006 yılında Nature dergisinde yayınlanan çalışması oldu. Bu çalışma sonucunda araştırmacılar ne kemik iliği ne de perifer kanından izole edilen herhangi bir hücrenin ovosite dönüşmediğini bildirdiler.

Bir diğer çalışma, **Zou ve ark**. 2009 yılında Nature Cell Biology dergisinde yayımladıkları "*Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries*." başlıklı çalışması oldu. Bu çalışmada araştırmacılar yeni doğan fareden germline kök hücreler elde edip bunları GFP ile transfekte ettikten sonra başka bir farenin ovaryumlarına verdiklerinde GFP pozitif yavruların oluştuğunu belirttiler.

Lei ve ark.'ın 2013 yılındaki makalelerindeyse, erişkin fare ovaryumlarında aktif bir germline kök hücre kaynağı olmadığı öte yandan doğumla birlikte var olan primordial folikül havuzunun reprodüktif yaşam boyu yetecek düzeyde olduğu vurgulandı.

Tüm bunların yanında ovaryumda kök hücre kaynağı bulunduğunu ve bunların epitelyal ovaryum kanserlerinin nedeni olduğunu vurgulayan pek çok çalışma da bu son 10 yıllık süreçte bilim dünyasına sunuldu.

Şu an itibariyle literatürdeki pek çok derleme ovaryum ya da vücudun herhangi bir yerindeki ovosit öncüsü kök hücrelerin varlığının tartışmalı olduğunu ve daha kuvvetli kanıtlara gereksinimin sürdüğünü vurgulamaktadır. Bakalım önümüzdeki 10 yılda bu sorunun kesin bir yanıtı bulunabilecek mi.

Kök Hücre Biyolojisi

Osman Köse

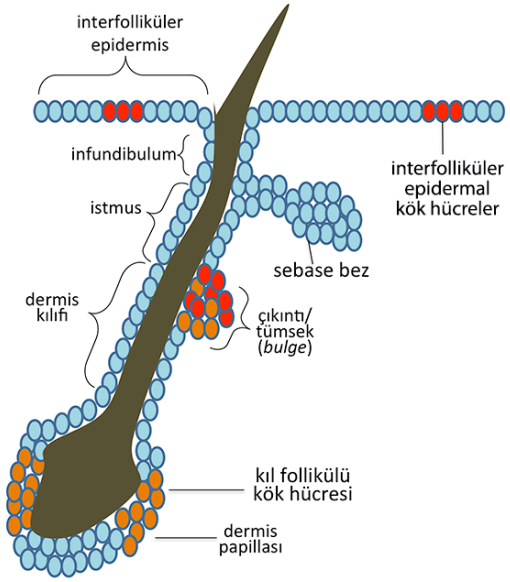
Derinin Yaşlanmasında Epidermal Kök Hücreler

Her yıl sonunda yeni yıla girerken ya da doğum günümüzü kutladığımızda kendimizi birçok nedenden dolayı mutlu hissederiz. Aslında mutlu olduğumuz o günlerde yeni bir yaş daha almışızdır ve vücudumuz tüm organlarıyla bir yıl daha yaşlanmıştır. Yaşlanma-yaş alma- devam edegelen bir süreçtir; bu süreç hücre düzeyinde iç ve dış nedenlerle ortaya çıkar ve önüne geçilemez. Organlarımızdaki tüm kök hücreler yaşamımız boyunca geçirdikleri metabolik değişikliklerle beraber yaşlanırlar. Yaşlanmaya yol açan birçok varsayım olmakla beraber insanlar için yaşam biçimleri, yaşanılan çevre, epigenetik faktörler, genetik yatkınlıklar ve ortaya çıkan hastalıklar yaşlanma sürecini etkilemektedirler. Hücre yaşlanması da iç ve dış faktörlerle ortaya çıkar. Deri, iç faktörlerin yanında dış faktörlerden daha çok etkilenerek bu süreci geçirir. İç nedenlere bağlı yaşlanma konusunda diğer organlarımızdaki kök hücrelere göre tek istisna "epidermal kök hücreler"dir. Epidermal kök hücreler interfolliküler epidermis, kıl follikülü ve aralarında kalan istmus ve çıkıntı-tümsek (*bulge*) bölgesindeki arayüzde bulunur (***Şekil 1***).

Derideki kök hücreler heterojen yapılarıyla yaşlanmaya karşı farklı tepkiler verirler. Histolojik olarak epidermisin bazal tabakasındaki "interfolliküler epidermal kök hücreleri (İEKH)", pilosebaz birimin ortasında (*bulge*) ve kıl follikülü ve kıl köküne denk gelen alt kısmında yer alan kök hücrelere göre diğer kök hücrelerin uğradığı hücresel yaşlanma süreçlerinden çok az etkilenirler. **Stern ve ark**'nın yaptığı hayvan deneylerinde, İEKH'lerin rölatif telomer uzunluğunda yaşlı (29 aylık) ve genç (2 aylık) sıçanlar arasında yalnızca % 5 fark bulunmuş ve epidermal kök hücrelerin diğer kök hücrelere göre çok daha yavaş veya az yaşlandığı saptanmıştır [Aging Cell 6; 439-452, 2007]. Telomerler; kromozomların uç kısımlarındaki nükleotid dizileri olup doğumda 1.000-2.000 adet DNA dizileri olarak saptanır. Her hücre bölünmesinde bir parça kısalır, belli bir noktaya gelince de hücre bir daha bölünmez ve yaşamını tamamlar. Bu araştırmada genç ve yaşlı sıçanlardan alınan epidermal kök hücrelerin uzun süreli kültürlerinin benzer çoğlama özelliği gösterdikleri saptanmıştır. Yaşlanmada hücresel düzeydeki en önemli değişiklik süperoksidlerin reaktif oksijen metabolitlerine dönüşmesidir. Sod1 ve Sod2 (süperoksit dismutaz 1 ve 2) süperoksitleri oksijen ve hidrojen peroksite dönüştürerek metabolize ederler. Bu çalışmada, İEKH'in yüksek Sod1

ve Sod2 düzeyleri göstererek düşük düzey süperoksit düzeyi yarattıkları ve süperoksit aracılı hücre yaşlanmasından hücreleri korudukları gösterilmiştir. Buna karşın, kıl follikülünün papillasında yer alan ve keratin 15+ kıl follikülü kök hücreleri (KFKH) yaşlanmayla beraber belirgin değişiklikler göstermektedirler. KFKH'lerinin yaşlanmayla beraber sayılarının artmasına karşın işlevsel kapasitelerinin azaldığı belirlenmiştir. Bu bilgiler ışığında; derideki kök hücre popülasyonlarının heterojen özellikleri nedeniyle derideki yaşlanmaya farklı tepkiler verdiği söylenebilir [Aging, 5: 1-2, 2013]. Ayrıca yaşlanma sırasında artan epidermis kaynaklı sitokin ve kemokinlerin de kök hücre fonksiyonlarını etkilediği ve yaşla artan inflamatuvar uyarıların yaşlılığı artırıcı etkide bulunduğu ileri sürülmüştür [Nature, 477:90-94, 2011].

Şekil 1. Epidermal kök hücreler



Derinin yaşlanması; epidermisteki yapı değişiklikleriyle, interfolliküler epidermal kök hücrelerinin proliferasyonu, dermiste incelme, hipodermiste kalınlaşma, ve periferik immün hücre yapısında azalmayla karakterizedir. Yapılan bir araştırmada normal deri yaşlanmasında intrensek hücre değişikliklerine göre sistemik çevresel faktörlerin daha etkili olduğu ve bunların da daha çok dermis değişikliklerine yol açtığı gösterilmiştir. Yaşlanan epidermiste daha az miktarda T hücresi bulunmuş ve epitelin onarımı ve çevresel etkenlere karşı birinci basamak savunma mekanizmasının en önemli parçası olan γδ TCR+ dentritik epidermal T hücresi (DETC) daha az sayıda saptanmıştır [Aging Cell 7; 250-259, 2008]. İlginç olarak DETC aracılıklı immün regülasyonun bozulması sonucu kimyasal etkenlerle oluşan epidermis kaynaklı karsinogenezde de artış gözlenmektedir.

Bu çalışmalar göstermektedir ki; interfolliküler epidermal kök hücreler, intrensek kökenli hücre yaşlanmasına dirençlidirler. Kıl follikülü kök hücreleriyse hücre yaşlanmasından etkilenmekte ve sayılarını artırmakla beraber işlevlerinde azalma olmaktadır.

Buradaki kritik soru şudur; "*interfolliküler epidermal kök hücreler, intrensek yaşlanmaya gösterdikleri dirençle ulaşılması çok kolay olan derimizden elde edilecek kök hücrelerle ileride planlanan tedavilerde uyarılmış pluripotent kök hücre kaynağı olarak tedavide kullanılabilecek midir?*"; "*bu hücrelerin intrensek faktörlerden etkilenmeyen bu özellikleri diğer hücrelere dönüştüklerinde korunabilecek midir ya da ne kadar devam ettirilebilecektir?*" Bu sorulara verilecek net yanıtlar bizlere yaşlanmanın fizyolojisi hakkında daha net bilgiler vermenin yanında uyarılmış pluripotent kök hücre temeline dayanacak tüm kök hücre tedavilerinde de yeni ufuklar açabilir.

Kök Hücre E-Bülteni **Sayı: 11 (Ocak-Şubat 2016)**
İki ayda bir yayınlanır. *www.kokhucrebulteni.com*
Editör: Prof.Dr. Alp Can (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Ankara)

Bu sayıya katkıda bulunanlar; *(yazıların geliş sırasına göre)*
Bio. Merve Sucu (Ankara Üniversitesi)
Uzm. Dr. Zeynep Gülhan Yığman (Kanuni Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Trabzon)
Prof.Dr. Osman Köse (GATA Dermatoloji AD Emekli Öğr. Üy.)
Doç. Dr. Özgür Çınar (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara)
Bio. Duru Aras (Ankara Üniversitesi)

Doku Mühendisliği

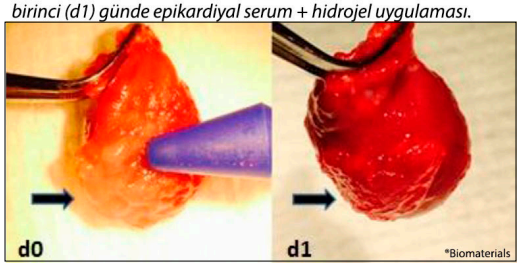
Merve Sucu

Yapışkan Jel Sıçan Kalbinin İyileşmesinde Kök Hücrelere Yardımcı Oluyor.

Johns Hopkins Üniversitesinden bir grup araştırmacının geliştirdiği yapışkan, proteince zengin jel, sıçanda deneysel olarak oluşturulan kalp krizi sonrası kalp işlevlerinin iyileştirilmesi amacıyla nakledilen kök hücrelerin kalpte daha uzun süre kalabilmesini ve beraberinde bu hücrelerin metabolik özelliklerinin kazanılmasını sağlamakta. Biomaterials dergisinin Aralık 2015 sayısında yayınlanan bulgular [Biomaterials 73: 1-11, 2015], insanda kalp krizi sonrası iyileşmenin yeni yöntemlerinin ilk adımını ortaya koymakta.

Araştırmanın sorumlu yazarı **Dr. Roselle Abraham** hasarlanan kalbin onarımında kök hücre tedavilerinin büyük umut vadettiğini, ancak deneyler sonrasında beklenen yararın elde edilemediğini, bunun nedeninin nakledilen kök hücrelerin ancak çok az bir bölümünün kalpte kalabilmesi olduğunu belirtmekte. Hipertrofik Kardiyomiyopati Mükemmeliyet Merkezi'nin medikal direktörü olan Dr. Abraham bunu "*kalp duvarına enjekte edilen hücreler, duvara tutunma şansı bulamadan kalbin atımıyla akciğere gönderilmekte*" şeklinde açıklamakta. Bunun yanı sıra, kök hücreler kültür flasklarından kaldırıldıktan sonra enjekte edilecekleri sıvı içine alındıklarında, dokuya tutunma fırsatı bulamadan metabolizmalarında yavaşlama olmakta ve bunun sonucunda hızla ölmekteler. Dr. Abraham bu konuda "*araştırmacılar kalbe enjekte edilen kök hücre sayısını milyonlara çıkararak hücrelerin dokuya yerleşmelerini geliştirmeye çalışmaktalar; ancak sadece enjeksiyondan 1 saat sonra bile hücrelerin ancak %10-20'sinde dokuya tutunma gözlenmekte; bu durumda bile çok sayıda hücre düşük metabolizma sebebiyle 24 saat içinde ölmekte*" ve "*eğer kalp krizinden kısa bir süre sonra hücre enjekte edilebilmiş olsak ve hücre nakli sonrası onları çoğalmaya yönlendirebilmiş olsak, daha az sayıda hücreyle yara oluşumunu sınırlayabilir ve yeniden gelişen yeni kalp kasıyla daha başarılı olabiliriz*" demekte.

Şekil 1. Atımları sürmekte olan sıçan kalbine sıfırıncı (d0) ve birinci (d1) günde epikardiyal serum + hidrojel uygulaması.



Bu zorluklara karşın Dr. R. Abraham, **Dr. Angel Chan** (biyomedikal mühendisi) ve **Dr. Jennifer Elisseeff** (biyomedikal mühendisi, oftalmolog, ortopedist) ile birlikte çalışmaya başlayarak bir hidrojel geliştirmiş, böylece hücrelerin sağ kalımı için her türlüs maddeyi içeren kan serumu proteinleriyle kardiyomiyositlerin çevresindeki matriks içindeki bulunan hiyaluronik asidi bir araya getirmiş. Kök hücre nişi gibi işlev gören bu yapışkan jel, kök hücreleri besleyerek metabolizmalarını düzenlemekte. Deneyler sonucunda, yetişkin ve embriyonik kök hücreler bu hidrojelle çevrelenmiş ve tamamı sağ kalarak çoğalmayı başarmış. Ayrıca bu hücrelerin matriks içerisinde olmayan hücrelere göre kalbin onarımında rol oynayan büyüme faktörlerini daha fazla ürettiği gözlenmiş durumda.

Hücre-jel birleşimi canlı sıçan kalbine enjekte edildiğinde sonraki 1 saat içinde hücrelerin yaklaşık %73'ü korunurken solüsyon içerisinde süspanse edilen hücrelerin %12 oranında kaldığı gözlenmiş. Sonraki 7 günde ise hidrojel içindeki hücrelerin sayısının arttığı, solüsyon içinde nakledilen hücrelerin sayısının ise azaldığı dikkati çekmekte. Dr. Abraham ve ark'nın makalesinde sıçanda kalp krizi modelinde, hidrojelde bulunan hücrelerin enjekte edildiği hayvanlarda 4 hafta sonra sol ventrikülün pompa gücünün %12 oranında, süspanse hücrelerin verildiği hayvanlarda ise %8 oranında arttığı belirtilmiş. Hidrojel grubunda kalp işlevlerinin arttığı ve iskemik kalp bölgesinde kan damarı sayısında artış belirlenmiş durumda.

Çalışmanın birinci yazarı Dr. Chan bu projeyi niçin seçtiğinden söz ederken "*bu proje sayesinde malzeme bilimindeki bilgi birikimimi kardiyak jel uygulamalarında tasarım ve düzenlemeler için kullanabiliyorum ve aynı zamanda kök hücre biyolojisi, kardiyak görüntüleme ve çoklu modelleme konularında eğitim alıyorum*" şeklinde açıklamada bulunmakta.

Teknik ve Uygulamalar

Zeynep Gülhan Yığman

İnsan Embriyon ve Fetüs Doku Kaynakları

Gelişim biyolojisinin önemli bir amacı da insan embriyon/fetüs gelişimini ve konjenital anomalilerin nedenlerini anlamaktır. Gelişim anomalilerine yol açan gen yolaklarının daha iyi anlaşılması, hastalıkların tedavisi ve önlenmesi için yeni tıbbi yaklaşımlara yardımcı olacaktır. Büyük bir kısmını muhtemelen multifaktöryel etiyolojinin oluşturduğu konjenital anomali sebepleri çeşitli genetik ve çevresel faktörleri içermektedir. Avrupa'da kayıtlı majör konjenital anomali yaygınlığı 1000 gebelikte 23,9'dur. Bu majör konjenital anomalilerin %80'i canlı doğumla, %20'si ise gebeliğin sonlandırılması, fetüs ölümü veya ölü doğumla sonuçlanmaktadır. Konjenital anomaliye rağmen yaşayan çocuklarda çoğunlukla kalıcı bir sakatlık mevcuttur. Örneğin anomalilerin en yaygın grubu, konjenital kalp defekti olan hastalarda doğum sonrası ilk bir kaç gün içinde genellikle erken cerrahi girişim gerektiren ağır yetmezlik gelişebilir (örn; büyük damarların transpozisyonu). Ekonomik açıdan ele alındığındaysa, spina bifida gibi ağır bir doğum anomalisi olan bir bebeğin yaşam boyu bakım maliyetinin 0,5 milyon doların üzerinde olduğu tahmin ediliyor [Yi ve ark., 2011]. Bu durum, sadece bireyler ve aileler için değil, sağlık sistemleri için de bir sorun oluşturmaktadır. Son yıllarda bazı konjenital anomalileri önlemek mümkün hale gelmiştir. Bunun çarpıcı iki örneğinden biri konjenital rubella sendromlu yenidoğan sayısını azaltmak için kadınların rubellaya karşı aşılanması [Tookey ve Peckham, 1999], diğeri de nöral tüp defekti prevelansını azaltmak için gebeliğin erken dönemlerinde folik asit desteği verilmesidir [Eichholzer ve ark., 2006].

Hayvan modelleri, embriyon ve fetüs gelişimiyle ilgili varsayımları çözümlemek için yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Son on yılı aşkın süredir, tüm genomun sekanslanması, gen düzenleyici mekanizmaların tanımlanması ve gelişim mekanizmalarının belirlenmesi açısından, model organizmaların anlaşılmasında çok büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Çarpıcı bulgulardan biri protein kodlayan genlerin çoğunun fare ve insanlarda ortak olmasıdır [Yue et al., 2014]. Bu yüzden türler arası farklılıklar, gen farklılıkları nedeniyle değil de esas olarak genlerin nerede ve ne zaman ifade bulduklarını kontrol eden düzenleyici programlardaki değişiklikler nedeniyledir. Gen ifadesinin uzamsal ve zamansal kontrolü bu nedenle son derece önemli olup bizleri insan yapan özellikleri açıklamamıza yardım edebilir.

İnsan ile fare gibi model organizmaların gelişimleri arasında benzerliklerin yanı sıra bilinen birçok farklılık da bulunmaktadır. Bunlardan en dikkat çekici olanı, evrim sırasında beynin boyut ve şeklinin değişmiş olmasıdır. Hücre sayısındaki ve hücre tiplerinin karmaşıklığındaki olağanüstü artışla, insan serebral korteksinin gelişiminde farklılıklar özellikle belirgindir [Bae ve ark., 2015]. Ayrıca, insan beyninin korteksi, kortikal nöron sayısını artıran ve "grileşme" (serebral korteksin katlanması, girus ve sulkuslarının oluşumu) olarak bilinen bir katlanma sürecinden geçer. Bu sürecinin artan bilişsel yetilerle ilişkili olduğu düşünülmektedir [Gautam ve ark., 2015]. Fare beyni ise grileşme sürecinden geçmemektedir.

Başka bir örnek de daha karmaşık bir yapı gösteren insan gözüdür. Farede sadece iki tip olmasına karşın insan gözü üç tip koni hücresi içerir; ayrıca insan retinasının arka kısmındaki yoğun pigmente alan, yani makula, farelerde bulunmaz. *KAL1* (*ANOS1*) [Cadman ve ark., 2007] ve *SHOX* [Blaschke ve Rappold, 2006] gibi genlerin mutasyonları, yani insan konjenital sendromlarıyla ilişkili bir takım genler fare genomunda bulunmamaktadır. Dolayısıyla, gelişimsel süreçlerin anlaşılmasında model organizmaların son derece değerli olduğu kanıtlanmış olsa da, doğrudan insan dokularıyla çalışmaya da gereksinim vardır.

KHB'nin bu ve bir sonraki sayısında insan gelişimini incelemek için araştırmacıların kullandığı kaynaklara ilişkin, özellikle de **İnsan Gelişim Biyolojisi Kaynakları** (*Human Developmental Biology Resources; HDBR*)'na odaklanarak, genel bir bakış sunmayı amaçladık. Doku bankaları, biyoinformatik portalları ve arşiv koleksiyonları gibi kaynaklar, insan gelişimi ve bununla ilişkili konjenital anomalileri incelemek için araştırmacılara önemli bilgiler ve materyaller sağlamaktadır.

Araştırma Doku Bankaları

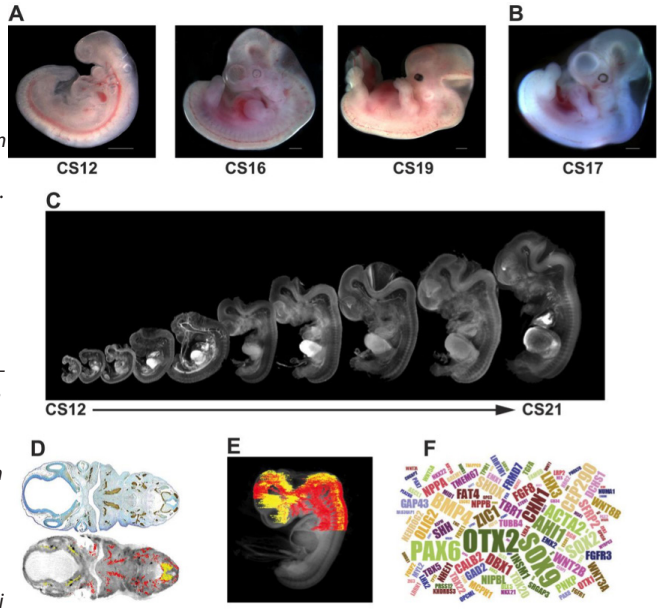
Araştırmacıların, insan embriyon ve fetüs örneklerine erişimini sağlamak için İngiltere ve bazı ülkelerde birbirinden farklı araştırma doku bankaları oluşturulmuş olup bu bankalar dokuları düzenli bir biçimde toplamaktadır ve yüksek etik standartlara uyarak araştırmacı denetimine açık olarak çalışmaktadır.

İnsan Gelişim Biyolojisi Kaynakları (HDBR)

HDBR 1999'da kurulmuştur ve *Medical Research Council* (Tıbbi Araştırma Kurulu) ve *Wellcome Trust* tarafından da finanse edilmiştir. HDBR, Ulusal Araştırma Etik Kurulu (*National Research Ethics Service*) ruhsatına sahiptir ve İngiltere İnsan Doku Kurumu (*UK Human Tissue Authority*) tarafından yetkilendirilmiştir. Gebeliğin planlı olarak sonlandırılmasından elde edilen materyallerin koleksiyonu halihazırda, yaşları 3-20 haftası (döllenmeden sonra) arasında değişen 4000'den fazla örnek içermektedir. Her yıl eklenen 400 yeni örnekle, bu kaynak materyal toplamayı sürdürmektedir. Çoğunluğu 21 trizomisi ve monozomi X olmak üzere, %4 oranında kromozomal anomalili ve %9 oranında da bazı fenotipik anomali tiplerini sergileyen örneklerin tümü karyotiplendirilmiştir.

HDBR aracılığıyla çok çeşitli tipte örneğe ulaşılabilmektedir (***Şekil 1***). Bankanın sağladığı dokuların çoğu kromozomal olarak normal örneklerden elde edilmekle birlikte, kromozomal anomalili örneklerden de materyal temin edilebilmektedir. Primer hücre hattı ya da kök hücreler elde etmek üzere veya insan fetüsünün belirli hücre popülasyonlarının saflaştırılması için belirli gelişim dönemlerine ait veya belli organlardan alınmış taze dokulardan elde edilen canlı hücreler FACS uygulanmak üzere kullanılabilmektedir. Dondurulmuş dokular ise, mRNA, genomik DNA ya da protein üretilmesi için kullanılabilmektedir. Bu örnekler, insan ve hayvan modellerinin, belirli dokuların, cinsiyetlerin, normal ve karyotipik olarak anormal örneklerin karşılaştırılması için, büyük çaplı transkriptom analizlerinde kullanılagelmektedir.

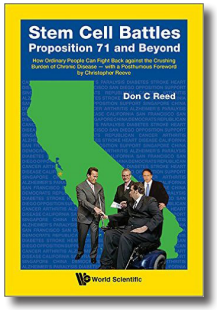
HDBR ayrıca, RNA in situ hibridizasyonu ya da protein immünhistokimya yöntemlerini kullanarak bir gen ifadesi hizmeti de sağlamaktadır. Embriyon ya da fetüs dokusu kesitleri belirli gen ya da proteinlerin zamansal ve uzamsal ifadelenmelerini tanımlamak için kullanılmaktadır. Bu servisin gen ifadesi verileri ve yanı sıra dışarıdan projelerin oluşturduğu veriler, açık erişimli bir veri tabanı racılığıyla dijital olarak görüntülenebilmekte ve erişime sunulmaktadır [www.hudsen.org].



Şekil. 1 HDBR'den temin edilebilecek örnekler.
(A) Soldan sağa doğru sırasıyla CS12 [döllenmeden sonra yaklaşık 26. gün], CS16 döllenmeden sonra yaklaşık 37. gün) ve CS19 (döllenmeden sonra yaklaşık 47. gün) evrelerinde embriyonların görüntüleri. (B) CS17 (döllenmeden sonra yaklaşık 41. gün) evresinde trizomi 21'li bir embriyon. (C) HDBR koleksiyonundaki embriyonlardan optik projeksiyon tomografi (OPT) kullanılarak oluşturulan üç boyutlu modellerin CS12-CS21 serisi embriyolar orantılı boyutlarında gösterilmiştir. HuDSeN internet sitesi (www.hudsen.org) aracılığıyla modellerin videoları ve fotoğrafları görüntülenebilir ya da modellerin bütünü istenebilir. (D) HDBR, gen ifadesi verileri küratörlüğüne erişim sağlamaktadır. Üstteki fotoğrafta GAP43 antikoru ile işaretlenmiş (kahverengi) bir CS17 embriyon kesiti; alttaki fotoğrafta ise aynı kesitin GAP43 ifade verisinin haritalandırıldığı (kırmızı, güçlü ifade; sarı, hafif ifade olmak üzere) CS17 OPT modelindeki karşılığı gösterilmiştir. MAPaint® yazılımı kullanılarak, deney kesitlerinden dijital kesitlere ifade verilerinin haritalama işlemi yapılmıştır (http://www.emouseatlas.org/emap/home.html). (E) Baş ve vücuttaki GAP43 ifadesinin üç boyutlu ifade alanı, D'de gösterilen kesitlerden verilerin haritalandırılmasıyla yapılandırılmıştır. Deneysel ve haritalanmış veriler uzamsal bir veri tabanına yüklenmektedir (www.hudsen.org). (F) Gen ifadesi verilerinin kelime grubu simgeleri, HuDSeN insan gen ifadelerinin uzamsal veri tabanında bulunmaktadır (www.hudsen.org). Kelime grupları her bir gen için veri girişlerinin sayısını yansıtmaktadır ve şu anda 128 genin verileri bulunmaktadır. Çubuk uzunluğu: 1mm.

Devamı 12. sayıda

YENİ ÇIKAN KİTAPLAR

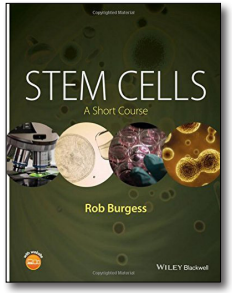


STEM CELL BATTLES: PROPOSITION 71 AND BEYOND

Yazar: Don C. Reed
Ekim 2015, World Scientific Publishing Company.

Bilimi politik savaş oyunlarının gölgesinde, ilham veren öykülerle bütünleştiren benzersiz bir kitap. Kronik hastalık ve/veya sakatlıklara sahip bireylere ve ailelerine bu savaşta nasıl bir fark yaratabileceklerini anlatan, kök hücre tedavilerinden yararlanan sıradan insanların öykülerine yer vererek hastalara umut aşılayan bir eser. Kitapta ideolojik grupların "California Kök Hücre Programı"na yönelik saldırılarına da yer veren yazar Don C. Reed, medikal araştırmaların uluslararası işbirliğiyle yürütülmesinin gerekliliğini ve bu araştırmalardan çıkarılacak derslerin emek ve para yükünü hafifleteceğini vurguluyor.

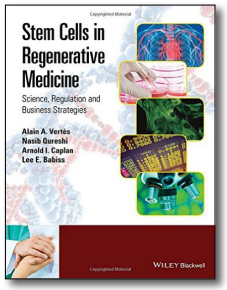
Arka planda yazarın embriyonik kök hücre araştırmalarının başından bu yana, ulusal ve uluslararası pek çok platformda kök hücre tedavilerinin savunucusu olduğunu görüyoruz. Yazar dünyada kök hücre araştırmalarının en büyük kaynağı olarak gösterilen "California Kök Hücre Programı"nın sponsoru Robert N. Klein'la yakın işbirliği içinde. Ödüllü bir öğretmen ve yazar olan Don C. Reed, eğitirken eğlendirmeyi de amaçlıyor. Bu kitap önemli bir kaynak olmanın yanı sıra eğlenceli de. Hasta yakınları, kariyerini tıbbi biyoloji alanında sürdürmek isteyen öğrenci ve akademisyenler, araştırma bütçelerine nasıl sahip çıkmaları gerektiğini öğrenmek isteyen bilim adamları, politikacıların vatandaşların ihtiyaçlarına nasıl yaklaştıklarını görmek isteyenler!.. Bu kitap tam size göre!



STEM CELLS: A SHORT COURSE

Yazar: Rob Burgess
Aralık 2015; Wiley-Blackwell

"Stem Cells: A Short Course" hızla gelişen kök hücre araştırmalarına ilgi duyan öğrencilere yönelik kapsamlı bir metin. Sekiz bölümden oluşan kitap, kök hücre biyolojisinin tüm temel yaklaşım ve disiplinlerini ele alıyor. Okuyucuyu kök hücre araştırmalarının kısa tarihçesiyle karşılayan kitap, önce kök hücrelerin olmazsa olmazlarına, ardından embriyonik ve fötal amniyotik kök hücreler, erişkin kök hücreleri, çekirdeğin yeniden programlanması ve kanser kök hücreleri gibi başlıklara yoğunlaşıyor. Kitap omurilik yaralanması, beyin hasarı, nörolojik ve otoimmün bozukluklar gibi alanlarda yeni ilaç ve tedavilerin keşfinde kök hücrelerin rolüne değinerek sona eriyor. Alanında lider yazarlardan Rob Burgess, bu kitabında adeta kök hücre araştırma ve uygulamalarına ilgi duyan öğrenci ve akademisyenlere tek bir çatıda buluşabilecekleri akademik bir çağrıda bulunuyor.



STEM CELLS IN REGENERATIVE MEDICINE: SCIENCE, REGULATION AND BUSINESS STRATEGIES

Yazarlar: Alain A. Vertes, Nasib Qureshi, Arnold I. Caplan, Lee E. Babiss
Aralık 2015; Wiley-Blackwell

Bu kitap gelişen kök hücre teknolojilerini ve bu teknolojilerin tanıtılabileceği fırsatları ele alan bir rehber. Gelişen kök hücre teknolojilerini yalnız bilimsel altyapısıyla değil, yasal ve finansal zorluklarıyla analiz ediyor ve rejeneratif tıbbın bu gelişen ve dinamik kolunu bütünsel olarak değerlendiriyor.

Kitap;

- Bilimsel araştırmalarda ve/veya hastalıkların tanı ve tedavisinde kullanılan kök hücrelerle ilgili son gelişmeleri teknolojik ve ticari yönden ele alıyor,
- Kök hücrelerin ticari kullanımında ortaya çıkabilecek zorlukları ana hatlarıyla betimliyor ve çözüm önerileri sunuyor,
- Temel ve uygulamalı kök hücre araştırmaları ve sağlık ticareti alanında uzman bir ekip tarafından kaleme alınmış.

Bu özellikleriyle "Stem Cells in Regenerative Medicine: Science, Regulation and Business Strategies" hücre biyolojisi, biyoteknoloji, rejeneratif tıp, doku mühendisliği vb. alanlarda aynı anda hem bilim adamlarına, hem de bu alana yatırım yapmak isteyen profesyonellere önerilebilecek öncü bir kitap.

Derleyen: Duru Aras

KONGRE, SEMPOZYUM ve KURSLAR

Stem Cell Models of Neural Degeneration and Disease
1-3 Şubat 2016 - Dresden, Almanya

6. Ulusal Hücresel Tedavi ve Rejeneratif Tıp Kongresi
26-28 Şubat 2016 - Mersin

9. Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi
3-5 Mart 2016 - Antalya

Keystone Symposia: Stem Cells and Cancer
6-10 Mart 2016 - Breckenridge, Colorado, A.B.D

Pluripotency: From Basic Science to Therapeutic Applications
22-24 Mart 2016, Kyoto, Tokyo

13. Ulusal Histoloji-Embriyoloji Kongresi
30 Nisan-3 Mayıs 2016 - Çeşme, İzmir

15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry (ICHC) 2016
19-22 Haziran 2016 - İstanbul

Sizlerden Gelen...

Çalışmalarınızdan dolayı tebrik ediyor, başarılar diliyorum. Kök hücre çalışmalarındaki gelişmeleri takip edebilme adına iletişim halinde bulunmayı arzu ediyorum. ***Ayşe Yıldırım***

Erişkin hematoloji uzmanıyım. Kök hücre çalışmaları ile ilgileniyorum. Bu konudaki gayret ve emeğiniz için tüm meslektaşlarım adına teşekkür ederim. ***Özlem Şahin Balçık***

Sayın Alp Can Hocam; yine çok güzel bir sayı olmuş, ellerinize sağlık. Tekrar çok teşekkür ederim haberimize yer verdiğiniz için, çalışmalarınızda kolaylıklar dilerim. ***Nurseda Kahveci***

Sayın Alp Hocam; Kök Hücre Bülteni'nin 10. sayısında size ve emeği geçen tüm bilim insanlarına çok teşekkür ederim. Tüm yazarların değerli yazılarının yanında özellikle Çevik Tufan hocamın yorumlamış olduğu ülkemizdeki bilimsel durum ve bunun Dünya bilimi ile karşılaştırması hakkındaki yazısından çok faydalandığımı belirtmek ve bundan sonraki sayı/sayılarda ülkemiz biliminin dünya standartlarını yakalaması için neler yapılması ve bu konuda, bilim insanlarına, üniversitelere ve proje destekleyen kurumlara düşen sorumlulukların neler olduğu konusundaki görüşlerini de bizlerle paylaşmasının önemini vurgulamak isterim. Çalışmalarınızda kolaylıklar diler, saygılar sunarım. ***Özgür Çınar***

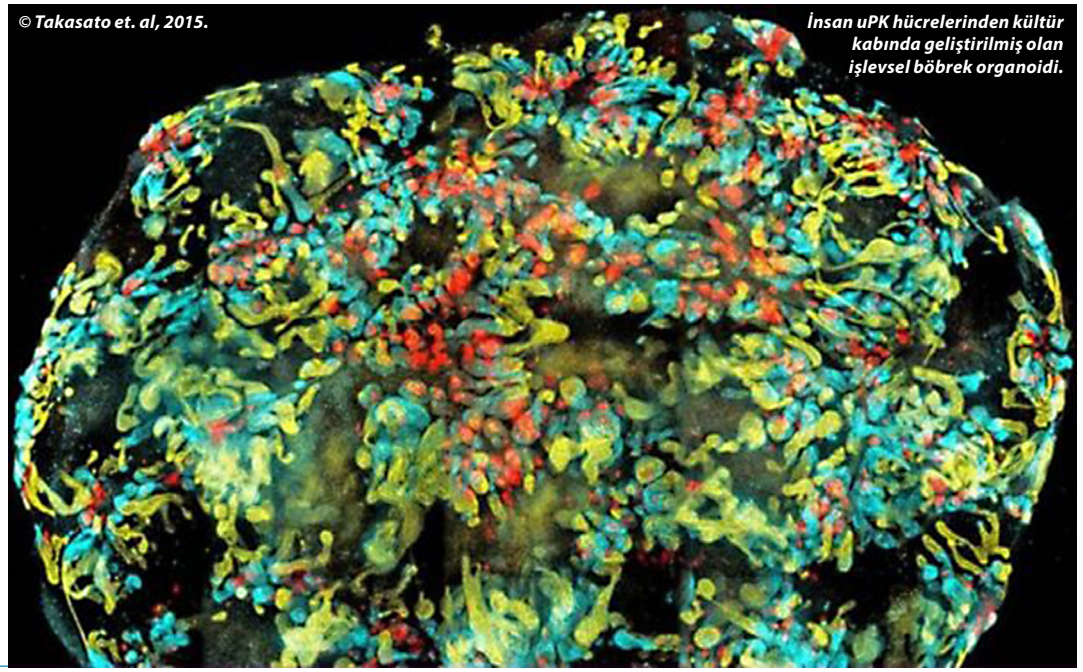
Bülten için teşekkür ederiz. Kısa ama güzel bilgiler var, yararlanıyoruz. ***Saim Özdamar***

Çok güzel bir çalışma. Tebrik ediyorum. ***Feza Korkusuz***

Bu son derece güzel ve faydalı bülten için ellerinize emeğinize sağlık. Teşekkürler... ***Engin Ulukaya***

Böyle bir derginin bizlere kazandırılmasında emeği geçenlere sevgi ve saygılarımı sunuyorum. ***Mete Sivrikaya***

AYIN FOTOĞRAFI



© Takasato et. al, 2015.

İnsan uPK hücrelerinden kültür kabında geliştirilmiş olan işlevsel böbrek organoidi.