ISSN: 2148-9815

Kök Hücre E-Bülteni

Yaşam Bankası FamiCord Group destekleriyle...

www.kokhucrebulteni.com
info@kokhucrebulteni.com

Sayı: 12
Mart-Nisan 2016

Editör'den

Alp Can

Kongreler Azalmalı mı?

KHB'nin 12. 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 gelişmelerin tartışılacağı kongreler birer birer duyuruluyor.

Öteden beri tartıştığımız bir konu var. Acaba ülkemizdeki kök hücre ana başlığını taşıyan kongrelerin sıklığı ne olmalı? Ülkemizdeki bu konuda çalışan laboratuvarlar ne sıklıkta veri üretiyor ve bunu kongre tebliği olabilecek düzeye getirebiliyor? Kongrelerde sunulan tebliğlere bakıldığında bu sorunun yanıtını vermek pek de zor olmuyor. Sunumlar alana yeni giren ve belki de ilk kongresi olan genç araştırmacılar için bir motivasyon olsa da bir süre sonra sunulanlar birbirini tekrar eder hale gelebiliyor. Kongre düzenleyicilerin de yakındığı bu durumun giderek artan kongre ve seyahat maliyetlerine koşut olarak bundan sonra dikkate alınacağını sanıyoruz. Alanda faaliyet gösteren iki derneğin (birisi vakıf olmak üzere) ve TÜBA gibi resmi kimliği olan kuruluşların biaraya gelerek güç ve enerjilerini birleştirmeleri kaçınılmaz gözüküyor. Yoksa kongreler, düzenleyicileri üzmekten, yerel tur şirketlerini de zengin etmekten başka bir amaca hizmet etmeyecek gibi duruyor. Belki de bilinen kongre, sempozyum formatlarının ötesine geçmek gerekiyor. Amaç bilgi-alışverişinde bulunmaksa bunu görkemli kongre açılışları ve gala yemekleri vermeden de gerçekleştirmek mümkün. Bunun en iyi örneğini bundan yaklaşık 10 yıl önce başlayan **GABİMAK** etkinliğinde gördük. Katılanlar bilirler, bir günlük bir etkinlik bile akıllarda kalan çok sayıda mesaj ve projeyle sonuçlanabiliyor.

Bu sayıya ilk olarak insan pluripotent hücrelerine ilişkin iki yeni araştırmanın sonuçlarıyla başlamak istedik. İlki insan uPK hücrelerinin kordon yaralanması modelindeki başarısı, ikincisiyse insan pluripotent hücrelerin kültürleri sırasında sıklıkla ortaya çıkan anöploidinin nedenleri üzerine. İkisini de KHB için **Bio. Ceren Mungan** özetledi. Ardından önemli bir haber olduğunu düşündüğümüz Çin'deki yeni mevzuatı **Bio. Merve Sucu** derledi. **Dr. Füsun Öner Soytaş** göbek kordonu mezenkimal kök hücrelerinin kullanıldığı 10 kişilik GvHD serisindeki başarının ele alındığı yeni yayınlanmış bir makaleyi bizler için özetledi. Daha sonra kardiyak progenitörlerin başarıyla çoğaltılması ve yamanmasını konu alan bir çalışmaya yer verdik. Bu sayıda geçen sayımızda ilk bölümüne yer verdiğimiz yazının ikinci ve son bölümüne yer verdik; **Uzm.Dr. Zeynep Gülhan Yığman** tarafından derlenen bu yazıda günümüzde araştırmacılara sunulan embriyo ve fetüs dokusu kaynakları ele alınıyor.

Bu sayıda, **Yeni Çıkan Kitaplar** bölümüne tekrar yer verdik. Konumuzla ilgili 2015 ve 2016 yılının son aylarında piyasaya çıkan üç farklı kitap sizler için derlendi. Tüm sayılarımızda olduğu gibi son olarak **Sizlerden Gelen**, **Kongre, Sempozyum ve Kurs** duyuruları ve **Ayın Fotoğrafı**'na yer verdik.

13. sayıda buluşuncaya kadar hoşça kalın...

Literatürden Seçmeler

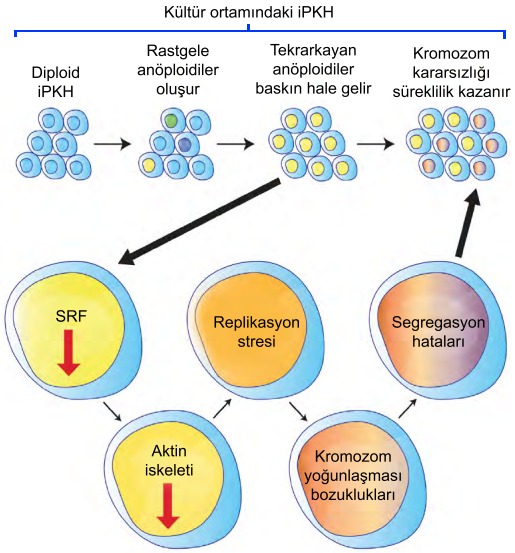
Ceren Mungan

Medulla Spinalis Hasarında İnsan uPK Hücresi Kaynaklı Oligodendrositlerin Başarısı.

Kemiricilerden ve insandan elde edilen indüklenmiş pluripotent kök (uPK) hücrelerinden farklılaştırılan nöral kök/ progenitör hücreler, rodent ve primatlarda medulla spinalis hasarlarında, işlevsel bir iyileşme sağlayabiliyor. Hasarlı spinal kordun rejenerasyonunda demiyelinize olmuş aksonların remiyelinizasyonu kritik bir aşama olmasına karşın nöral kök/prekursör hücreler *in vivo* ve *in vitro* koşullarda başarılı şekilde nöronlara farklılaşmakta. Tokyo'daki Keio Üniversitesinden **Dr. H. Okana** ve ekibi yakın zamanda geliştirdikleri bir teknikle insan uPK hücresi kaynaklı oligodendrosit prekürsörü hücrelerinden zengin kültürler elde ettiklerini rapor ettiler. Daha sonra nakledilen bu hücrelerin tedavi etkinliği, medulla spinalis hasarı uygulanan bir modelde sınandı (Kawabata ve ark, Stem Cell Reports 6: 1-8, 2016). Araştırmacılar, bu yaklaşımla demiyelinize aksonun sağlıklı bir şekilde nasıl remiyelinize olduğunu ve nakledilen hücrelerin spinal kord hasarından sonra işlevsel iyileşmeyi nasıl kolaylaştırdığını somut verilerle aktarmaktalar. Araştırıcılar söz konusu hücreleri oluşturmak için Numasawa-Kuroiwa ve ark'nın 2014 yılında geliştirdikleri 201B7 uPK hücresi hattını kullanmış ve bu hücrelerden geliştirdikleri nöral kök/öncü hücrelerin myelin bazik protein içeren olgun oligodendositlere farklılaştığını izlemişler. Bu hücrelerin VEGF ve PDGF-AA ifadeleri anlamlı derecede yüksek bulunurken NGF, BDNF, CNF, GCNF, HGF, NF-3 ve NF-4 ifade etmedikleri saptanmış. Hücrelerin torakal spinal kord lezyonu yapılan SCID farelere naklinden sonra az sayıda hücre lezyon bölgesinde bulunmuş, çoğunun ise etrafa dağıldığı fark edilmiş. Lezyon bölgesindeki hücrelerin kalın myelin kılıflar oluşturduğu, akson büyümesini uyardığı ve nakledilen hücrelerden farklılaşan nöronlarla alıcının nöronları arasında sinaps oluşumuna katıldığı gözlenmiş. Son olarak Basso Fare Skorlaması, Rota çubuk testi ve DigiGait analiziyle motor nöron işlevlerinin geri kazanılıp kazanılmadığı sorgulanmış ve nakilden yaklaşık 35 gün sonra her üç testte de anlamlı iyileşmeler gözlenmiş. Sonuç olarak 201B7 klonunun tümöral gelişim götermeyen güvenli ve yetkin bir klon olduğu sonucuna varılmış.

İnsan Pluripotent Kök Hücrelerindeki Genomik Kararsızlık, Replikatif Stresten ve Kromozom Yoğunlaşması Bozukluklarından Kaynaklanmakta.

İnsan pluripotent kök hücreleri (iPKH) kültür ortamlarında sıklıkla anöploidi gibi kromozom anomalileri kazanır. Bu anomaliler, zamanla artarak hücrelerin özelliklerini değiştirir ve klinik kullanımlarını olumsuz yönde etkiler. Ancak süregelen bu genom kararsızlığının temelini oluşturan mekanizmaların neler olduğu büyük ölçüde bilinmemekte. İsrail ve Amerika Birleşik Devletleri'nden bir grup araştırmacı anöploid özellikteki iPKH'nin DNA replikasyon stresi altında olduğunu ve bu durumun hatalı kromozom yoğunlaşması ve sonrasında da hatalı segregasyonuyla sonuçlandığını gösterdiler (Lamm ve ark, Cell Stem Cell 18; 1-9, 2016). Elde edilen bulgulara göre, anöpolidi özelliği taşıyan iPKH, aktin hücre iskeleti proteinlerini kodlayan ve bir transkripsiyon faktörü olan SRF tarafından kontrol edilmekte olan genlerin değişen ifade düzeylerine sahip. Deneysel olarak SRF'nin yüksek düzeyde ifadelenmesi, anöploidi olan hücrelerde hatalı kromozom yoğunlaşması ve segregasyon bozukluklarını gidermekte. Bunun yanı sıra diploid iPKH'de SRF'nin azaltılması, replikasyon stresini uyarmakta, anöploid hücrelerdekine benzer şekilde kromozom yoğunlaşması bozukluklarına neden olmakta. Sonuç olarak; bu bulgular azalan SRF ifadesinin, replikatif stresi ve kromozom yoğunlaşma bozukluğunu artırdığını göstermekte. Benzer bir mekanizma, kök hücre olmayan diploid hücrelerdeki kararsızlığın nedeni de için de geçerli olabilir.



Yönetsel Düzenlemeler (Mevzuat)

Merve Sucu

Çin, Kök Hücre Klinik Araştırmalarına Yeni Kurallar Getirdi...

Çin Ulusal Sağlık ve Aile Planlaması Komisyonu (**NHFPC**) (önceki adıyla Çin Sağlık Bakanlığı) kök hücrenin kullanıldığı klinik araştırmalar için uzun süredir beklenen taslak yönetmeliği **22 Ağustos 2015** tarihinde onayladı. Çin'de yönetmelikler genellikle önce taslak (deneme) olarak yürürlüğe giriyor. Her ne kadar taslak adıyla geçse de bu yönetmelikler resmi olarak işlem görüyor, tek farkı kalıcı olan yürürlüğe girene kadar değiştirilebilir olması. Yayınlanan doküman kök hücre tedavilerinde kullanılacak ürünleri ve uygulamaları içermekte. Pekala, Çin'i yakın ve orta gelecekte ne tür bir kök hücre uygulamaları bekliyor? Ve Çinli araştırmacılar, klinisyenler ve şirketlerin yanı sıra uluslararası bilim camiası bundan nasıl etkilenecek? Hep beraber buna kısaca bakalım.

Öncelikle belirtmeli ki, söz konusu taslak yönetmelik insan otolog ve allojeneik kök hücrelerin klinik kullanımları için geçerli. Rutin hematopoetik kök hücre nakilleri ve farmasötik ürün olarak kabul gören kök hücrelerin kullanıldığı klinik araştırmalar bu yönetmeliğin kapsamı dışında bırakılmış durumda. Kapsam altına alınan kök hücre klinik araştırmaları, 2007'den bu yana **Çin Gıda ve İlaç İdaresi** (**CFDA**) tarafından konan ve halen yürürlükte olan Çin'deki "**Klinik İlaç Araştırmalarında Kalite Kontrol Standartları**" ile (Çin'deki İyi Klinik Uygulamaları (GMP) standartları) uyumlu olmalıdır. Ayrıca, "insanda ilk kez" yapılacak klinik çalışmalar, klinik öncesi araştırmalarla terapötik değeri kanıtlanmış sistematik verilere dayanmalı ve tedavinin güvenliği uygun hayvan modeliyle sınanmalıdır.

Kök hücrelerin üretimi, depolanması, standartları ve saklanması için gerekli teknik prosedürler "**Klinik İlaç Araştırmaları için Kalite Kontrol Standartları ve Preklinik Araştırmalar Yönetmeliği**" adı altında ek bir dokuman olarak CFDA tarafından yayınlanmış durumda. Böylece klinik öncesi çalışmalarda güvenlik ve etkinlik değerlendirmesi için gerekli ölçütler belirlenmiş.

Kök hücre klinik araştırmalarının yürütülmesi için sadece 3. seviye hastanelerde -Çin'de en üst seviyede bulunan hastane kategorisi- klinik izin verilmekte. Buna hak kazanmak için, bu tip hastaneler, araştırma enstitüleri kurmalı, sağlık hizmeti ve sağlık eğitimi vermeli; ilgili mesleki niteliklere sahip olmalıdır. Yan etkilerle ve yüksek riskli uygulamalarla yeterince başa çıkabilecek etik ve akademik komitelerinin bulunması gerekmektedir. Ayrıca hastanelerin, uluslararası GMP standartlarına uygun kök hücre hazırlama merkezleri kurması gerekmektedir.

Araştırmacılar klinik kök hücre çalışmaları için bölgesel NHFPC ve CFDA şubelerine başvuru yapmalı ve on-line olarak "**Çin Tıbbi Kayıt ve Yönetim Sistemi**"ne yüklenmelidir. NHFPC ve CFDA şubeleri, oluşturulan uzman komiteler aracılığıyla projeleri bölgesel değerlendirmektedir. Bu komiteler, proje değerlendirmesi yapmanın yanı sıra akademik birimleri yerinde denetleme ve değerlendirme de yapmakta. Bir klinik araştırma başvurusu kabul edilirse çalışmanın 1. fazı başlamakta. Klinik çalışmaların ilerleme raporları düzenli aralıklarla yetkililere gönderilmekte ve her aşamanın sonunda araştırmacılar şubelere araştırma sonuçlarını rapor etmekte. Bu raporlara dayanarak, çalışmanın bir sonraki aşamaya geçmesine ve sonunda da rutin uygulamaya girip girmemesine karar verilmekte.

Yönetmelik hastaların çıkarlarını şu şekilde korumayı amaçlamakta; her şeyden önce klinik araştırmacılar, klinik çalışmalarda yer alan hastalardan ücret talep edemezler ve hastaneler kök hücre tedavilerini reklam malzemesi olarak kullanamazlar. Hastaneler, söz konusu araştırmanın potansiyel risklerini hastaya tam anlamıyla bildirmeli ve yüksek risk içeren projeler için sigorta teminatı düzenlemelidir. Acil bir durumda yaşam kurtarıcı imkanların yerinde olması gerekmektedir. Ayrıca istenmeyen ciddi durumlar hastane etik kurulu ve il sağlık yetkililerine rapor edilmelidir. Bu durumda araştırma projesi acilen sonlandırılmakta, kök hücre uygulaması için verilen onay geri alınmaktadır.

Kök hücre çalışmaları 2007 yılında **İnsan Denekleri Biyomedikal Araştırma ve İnceleme Geçici Yönetmeliği** (şimdiki adıyla NHFPC; yani Çin Ulusal Sağlık ve Aile Planlaması Komisyonu) ile 2001 Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan "**İlaç İdaresi Kanunu**" çerçevesinde gerçekleştirilmelidir. İnsan embriyonik kök hücreleri kullanılarak yapılan klinik çalışmalar, **Bilim-Teknoloji ve Sağlık Bakanlığı** tarafından 2003 yılında yayınlanan ortak bir düzenleme ile "**İnsan Embriyonik Kök Hücre Araştırmaları için Etik İlkeler**" doğrultusunda ilerlemekte ve buna göre işlemektedir. Klinik kök hücre uygulamaları bundan böyle 2009 yılında yayınlanmış olan sınıf-III tıbbi teknolojilere göre değil yeni yönetmeliğe göre düzenlenmektedir. Böylece önceki düzenlemeler geçerliliğini yitirmiş sayılmaktadır.

Mevzuat hükümlerini ihlal eden sağlık kurumları ve personel, doğrudan doğruya, oluşturulan ceza prosedürlerince sorumlu tutulurlar. NHFPC ve CFDA, kök hücre çalışmalarını askıya alma ve yasalara uygun olarak araştırmacılarla ve personelleri cezalandırma hakkına sahiptir.

Çin, son yıllarda kök hücre alanına yüklüce bir bütçe yatırdı. Bu da sayıları hızla artan bilimsel yayınlara ve olası yeni tedavi seçeneklerinin ortaya çıkmasını sağladı. Bununla birlikte ülke çapında ticari amaç güden çok sayıda kök hücre tedavisi merkezi açıldı. Çin, adeta kanıtlanmamış ve kâr amaçlı girişimlerin merkezi haline geldi. Bunu engellemek için ilk olarak 2009 yılında bir yönetmelik çıkarıldı. Ancak tıbbi camiada büyük tartışmalara neden olan bu yönetmelik hükümleri kök hücre çalışmaları için pek de uygulandı denemez. Bu nedenle son beş yılda kanıta dayalı olmayan birçok kök hücre uygulaması rapor edildi. 2012 yılında Çin Sağlık Bakanlığı yeni bir kararnameyle öncesinde izin almaksızın yapılan tüm kök hücre uygulamalarını durdurma kararı aldı. Ancak, bu kararın özellikle devlet destekli bilimsel kurumlarında sınırlı etkisi oldu; kararın yayınlanmasından yaklaşık üç ay sonra birçok merkez çalışmalarını kaldığı yerden sürdürmeye başladı. Ardından Mart 2013'te bugünkü NHFPC, halkın bu konuya olan yorumlarına yanıt verecek nitelikte 3 genelde yayınlayarak konuyu daha sıkı kontrol etmeye karar verdi. Ağustos 2015 yılında yayınlanan taslak yönetmelik bu 3 genelgenin ana hatlarıyla uyumlu olarak çıktı. Yeni yönetmelik tüm bulguların kanıta dayandırılmasını ön koşul olarak benimsiyor ve tüm taraflara daha büyük sorumluluklar yüklüyor. Hastadan para talep edilmeyecek olması ve girişimlerin reklamının yapılmayacak olması sadece kâr etmek amacıyla çalışmakta olan birçok merkezin kapanması anlamına gelebilir. Hastaneler klinik çalışmalar için gerekli standartlarını yükseltebilir; yüksek riskli hastaları çalışma dışı bırakabilir veya daha ılımlı girişimlerde bulunabilir.

Kuşkusuz, yeni çıkan yönetmeliğinin etkili olup olamayacağı aksini yapanlar üzerindeki baskı ve yaptırımlara bağlı. Çin, şimdi bu çalışmaları değerlendirebilecek yeterli kalifiye bilim insanı yetiştirme çabası içine girecektir. Yıllardır bizim ülkemiz için de mutlak gerekli olan bir eksikliktir bu. Az sayıda da olsa kök hücre klinik araştırması çoğunlukla bu işin uzmanı olmayan, hiç klinik çalışma yürütmemiş uzmanlar tarafından değerlendirilmekte. Bu da kurulların kararlarında homojen bir sonucun ortaya çıkmamasına neden olmakta. Yeni yönetmelik gereği, kök hücre klinik çalışmalarının sadece 3. derece sağlık kurumlarında yürütülebilme izni başarılı olursa yukarıdaki kaygıların önemli bir bölümü giderilmiş olabilir. Çünkü, Çin'de çalışmalarını yürüten bir kısım elit kök hücre bilim insanı öteden beri buna benzer kuralların getirilmesi gerektiğini savunuyordu. Ancak Çin'in bu konudaki en büyük dezavantajı büyük bir coğrafyaya yayılmış olması. Bu da bölgesel komitelerin vereceği kararlarda ve değerlendirmelerde farklılıkların ortaya çıkabilecek olması anlamına gelecektir. Bunun yanı sıra, Çin'de çok sayıda bulunan ve kendine özgü kuralları olan askeri ve polis akademisi hastanelerinin bu yönetmeliğin kapsamı içinde olup olmayacağı da kesinlik kazanmamış durumda değil.

Böyle bir yönetmeliğin çıkması başta Çin olmak üzere Çin biliminin etkilediği tüm dünyada olumlu bir gelişme olarak varsayılabilir. Ancak klinik sonuçların rutin tedavi rejimlerine nasıl yansıyacağı, marketin nasıl oluşturulacağı büyük bu soru olmayı sürdürmekte.

Alp Can

Hücresel Tedavi ve Rejeneratif Tıp

Füsun Öner Soytaş

GvHD Tedavisinde Göbek Kordonu Mezenkimal Kök Hücrelerinin Kullanımı: 10 Olguluk Rapor

Hematolojik ve neoplastik hastalıklarda miyeloablatif rejimle yüksek doz kemoterapi verilerek kemik iliği tamamen kurutulduğunda hematopoetik kök hücre nakli gerekmektedir. Bu tedavilerde hematopoetik kök hücreler genellikle periferik kana mobilize edilmiş olanlardan, kemik iliğinden veya göbek kordonu kanından elde edilmektedir. Kök hücre nakli olan hastaların yaklaşık %50'sinde akut veya kronik **Graft-versus-Host Hastalığı** (**GvHD**) gelişmektedir. Yaşamı tehdit eden bir komplikasyon olan GvHD, vericinin (donör) bağışıklık sistemindeki hücrelerin alıcı (hasta) hücrelerini yabancı olarak algılayıp saldırması sonucu ortaya çıkar. Verici hücrelerin tetiklediği sistemik inflamasyon cilt, mide-bağırsak, ve karaciğer gibi alıcının birçok organında yıkıcı etki yapar.

Mezenkimal kök hücreler (MKH) immün düzenleyici özelliklere sahip multipotent stroma hücreleridir. Erişkin ve neonatal dokulardan elde edilebildiği gibi en iyi bilineni kemik iliğidir. Bu hücreler plastik yüzeye tutunabilmekte, osteoblast, kondroblast ve adipositlere dönüşebilmekte ve belirli bir yüzey antijen profili göstermektedir. MKH, ayrıca immün yanıtı engelleme veya artırma yetenekleri sayesinde bağışıklık yanıtlarında da plastisite özelliğine sahiptir.

Kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinin (Kİ-MKH) immün baskılayıcı etkisi ile GvHD tedavisini olumlu yönde etkilediği daha önceleri birçok klinik çalışmada gösterilmişti. Yakın zamanda **FamiCord Group merkez firması** ve **Polonya Kök Hücre Bankası** (*Polish Stem Cell Bank*) medikal direktörü **Dr. Dariusz Boruczkowski** ile Polonya'daki farklı üniversitelerin tıp fakülteleri ve klinikleri ile işbirliği içerisinde gerçekleştirilen bir çalışma davet üzerine Turkish Journal of Biology dergisinde yayınlandı (Boruczkowski ve ark, Turk J Biol, 2015). Bu çalışmada steroide dirençli akut GvHD ve kronik GvHD olan 10 hastanın tedavisinde serum-içermeyen kültür medyumunda çoğaltılmış göbek kordonu mezenkimal kök hücrelerinin (GK-MKH) allojeneik kullanımı söz konusu edilmiş durumda. Çalışmaya katılım için tek kriter standart tedavi sonrasında klinik bir gelişme olmaması olarak belirtilmiş; yani MKH infüzyonu "kurtarma tedavisi (*salvage therapy*)" olarak kabul edilmiştir. Çalışmaya alınan hastalarda yaş, öncesinde uygulanan tedavi, hücre infüzyonu sayısı ve dozu, GvHD tipi bakımından farlılık göstermektedir. Bu nedenle, klinik sonuçların analizinde istatistiksel bir değerlendirme yapmak mümkün olmamıştır. Olgu temelinde ele alınan bu çalışmada, alıcının vücut ağırlığı başına ortalama 1,5 x 10^6 hücre/kg ile 1-3 defa intravenöz olarak GK-MKH infüzyonu yapıldıktan sonra akut GvHD olan hastalarda 4/7 ve kronik GvHD hastalarında 2/3 oranında tam veya kısmi yanıt gözlenmiştir. Yanıt veren 6 hastadan 5'i (%83,3) ve yanıt vermeyen 4'ünden sadece 1'i (%25) takip döneminde sağ kalmıştır. Ölümler sadece akut GvHD hastalarında görülmüştür. Yanıt veren grupta, 2 hasta tam remisyon gösterirken 4 hastanın semptomları hafiflemiş ve immünsüpresif tedavisinin dozu azaltılmıştır. Hiçbir ciddi yan etkiyle karşılaşılmamıştır. Akut GvHD'nin tedavisinde Kİ-MKH'lerinin kullanımıyla ilgili literatürde bir dizi çalışma yapılmıştır. Ancak, GK-MKH'lerin kullanımına ilişkin çok sınırlı veri bulunmaktadır. Bu çalışma sonuç olarak GK-MKH infüzyonunun güvenli olduğunu ve akut ve kronik GvHD'de "kurtarma tedavisi" olarak kullanıldığında bazı hastalarda klinik iyileşme sağlayabildiğini göstermiştir. Bu tedavi yönteminin halen sürmekte olan çalışmalarla optimize edilmesi gerekmektedir. Önceki çalışmalara ve deneyimlere dayanarak, tedavinin etkisini en üst düzeye çıkartmak için hücrelerin GvHD tanısı konduktan kısa süre sonra uygulanması ve ilk yanıt yeterli değilse birkaç defa infüzyon yapılması önerilmektedir.

Pluripotent Hücreler

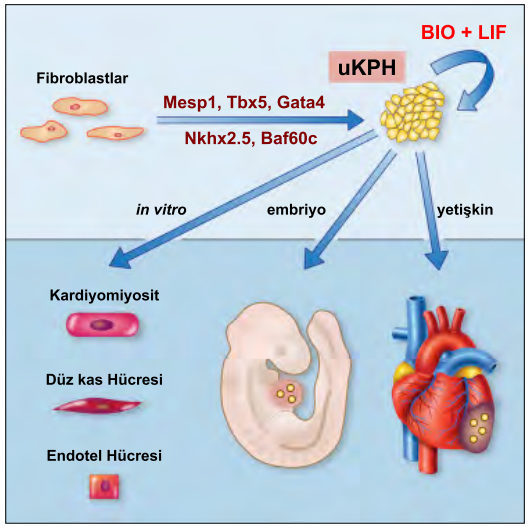
Alp Can

Fibroblastların Çoğalabilen İşlevsel Kardiyak Progenitörlere Dönüştürülmesi Başarıldı.

Bilindiği üzere kalp hastalıkları sonucu ortaya çıkan nekrotik dokunun yenilenmesi üzerine gerçekleştirilen çalışmalar doku rejenerasyonu çalışmalarının neredeyse birinci sırasında yer almakta. Kalpte tüm çabalar özellikle doku hasarı gelişen durumlarda endojen kalp kası hücresi (kardiyomiyosit) yenilenmesinin artırılması, beslenmeyen dokunun tekrar damar kazanarak beslenir hale getirilmesinin sağlanmasına yönelik.

Bugüne dek birçok çalışmada fibroblastların kardiyomiyositlere dönüşümü gerçekleştirilmişti. Bu kez farklı kökenden gelen fibroblastlar yeniden programlama yöntemiyle çoğalabilen uyarılmış **kardiyak progenitörlere** (uKP) dönüştürüldü. **Cell Stem Cell** dergisinin 3 Mart 2016 tarihinde çıkan sayısında Minesota Üniversitesinden **Dr. Timothy J. Kamp ve ekibi**nin yayınladığı çalışmada (Lalit ve ark, Cell Stem Cell 18: 1-14; 2016) kanonik Wnt sinyal yolağı üzerinden etkili olduğu bilinen 11 transkripsiyon faktörü ve 5 kardiyak gelişim faktörü kullanılarak yetişkin farenin kalp, akciğer ve kuyruk ucu derisindeki fibroblastlar normal koşullarda sadece embriyo kalbinde bulunan uKP'ye dönüştürüldü; daha sonra bu öncü hücreler çoğaltılarak *in vitro* ortamda kardiyomiyositlere, düz kas hücrelerine ve endotel hücrelerine dönüştürüldü. Önce, elde edilen uKP'ler gelişmekte olan embriyo kalbindeki kalp yarımayına nakledildi ve kardiyomiyositlere dönüşümü izlendi. Daha sonra deneysel miyokard enfarktüsü modelinde denenen bu hücrelerin *in vivo* olarak kardiyomiyositlere, düz kas hücrelerine ve endotel hücrelerine başarıyla dönüştüğü görüldü. Elde edilen başarılı sonuçların doku rejenerasyonu girişimlerinin yanı sıra ilaç testleri ve hastalık modellemesi çalışmalarında da kullanılabileceği belirtilmekte.

Son yapılan çalışmalarda somatik hücrelerden sonuna kadar farklılaşmış hücrelerin elde edilmesi yerine öncü hücrelere kadar ulaşılması daha çok kabul görür bir girişim olarak düşünülmekte. Çünkü öncü hücrelerin çoğalabilme yetileri diğerlerine göre daha fazla ve bu da büyük miktarlarda hücre elde edilebilmesi anlamına geliyor. Ancak somatik bir hücreyi öncü hücre konumuna kalıcı olarak programlamak sanıldığı kadar kolay değil. Bunun için öncü hücrenin türüne göre bir "temel programlayıcı" moleküle ve özgün kültür koşullarına gereksinim var. Temel programlayıcının yanı sıra bir dizi transkripsiyon faktörüne (TF) ve kromatin düzenleyicisine de gerek duyuluyor. Dr. Kamp ve ekibi önce 22 aday gen belirleyerek bunların programlama yetilerini saptamış. Bunu yaparken kardiyomiyosit öncülerinde varlığı bilinen Nkx2.5'i ifade eden raportör fare modeli kullanılmış. Sarı flüoresan proteine bağlanmış olan bu gen etkinliği doğrudan kalp öncüsü hücrelerin varlığını ve gelişim aşamalarını göstermek için kullanılmış. Yetişkin kalbinden alınan fibroblastların bu TF'yi ifade etmediği görüldükten sonra bilinen pluripotensi faktörleri ve kardiyak progenitör faktörlerin (Gata4, Mef2c, Tbx5) kullanımı durumunda da öncü hücre konumuna geçemedikleri görülmüş. Ancak aynı deney embriyo kalbinden alınan fibroblastlar kullanıldığında pozitif sonuçlanmış. 22 genle başlayan çalışmada 18 gene inilmiş. Daha sonra bunlar arasında kardiyak faktörler bir kez daha seçilmiş ve sonuçta 11 adet kardiyak faktörün (Mesp1, Mesp2, Gata4, Gata6, Baf60c, SRF, Isl1, Nkx2.5, Irx4, Tbx5, and Tbx20) yetişkin kalp fibroblastlarını başarıyla programladığı görülmüş. Bu faktörlerle programlanan fibroblastlardan yaklaşık 50.000 öncü hücre elde edilmiş ve programlama etkinliğinin %0,008 olduğu hesaplanmış.



Teknik ve Uygulamalar

Zeynep Gülhan Yığman

İnsan Embriyon ve Fetüs Doku Kaynakları

11. sayıda yer alan aynı adlı yazının devamını sunuyoruz.

İngiltere'de çalışan araştırmacılara projenin etik incelemesine gerek olmaksızın materyal sağlanabildiği gibi, uluslararası gruplara da ilgili etik kurul onayıyla materyal sağlanabilmektedir. Son beş yılda 10.000'nin üzerinde preparat ve doku örneği kayıtlı kullanıcılara ulaştırılmış bulunmakta ve her yıl yaklaşık 100 yeni proje kayıt olmaktadır. Projelerin çoğu İngiltere merkezli olmakla birlikte, ABD'den (%17), kıta Avrupası'ndan (%11) ve dünyanın diğer bölgelerinden başvuran kullanıcı sayısı artmaktadır. İnsan embriyon ve fetüs dokusu dağıtımında konjenital bozuklukları araştıran projelere öncelik verilmekte. Erken gelişim için önemli olan genlerin, bilişsel fonksiyonlara ve lisan gibi insana özgü işlevlerle ilişkili genlerin ve insan ile fare arasındaki önemli anatomik veya işlevsel farklılıklarla ilişkili genlerin fonksiyonlarını anlamayı hedefleyen çalışmalar da ilgi çekmektedir.

HDBR'de saklanan materyallerin kullanıldığı çeşitli çalışmalar Şekil 1 kısaca özetlenmiştir. Bu çalışmalar, genetik bozuklukların altında yatan tek gen araştırılmasından (Tischfield et al., 2010; Thomas et al., 2014), transkriptomların (Kang et al., 2011) ve düzenleyici dizilerin (Necsulea et al., 2014) yüksek girdili çalışmalarına kadar değişkenlik göstermekte. Yüksek girdili dizileme teknolojilerindeki ilerlemeler, insan ile model organizmalar arasında transkript dizisindeki, alternatif kesip eklenme (alternative splicing), ifade düzeyindeki ve regülasyondaki farklılıkları aydınlatan, büyük ölçekli türlerin çapraz karşılaştırmalarının önünü açmıştır (Cotney et al., 2013; Bae et al., 2014). Civciv ve insanda kuyruk gelişiminin araştırılması (Olivera-Martinez et al., 2012) gibi bazı çalışmalar, erken gelişimin kilit süreçlerini konu edinmektedir. Primer hücre hatları ve kök hücreler elde etmek için organlara özgü dokular kullanılmaktadır (U et al., 2014).

Diğer Doku Bankaları

İngiltere ve ABD'deki bazı gruplar, insan fetüs materyallerinin koleksiyonunu kurmuş durumdalar. Bunlar bilimsel projeler kapsamında kurulmuş olup genellikle proje çalışmacıları dışındaki kişilerin örneklere erişimine izin verilmemektedir. Ancak araştırmalarda kullanılmak üzere doku bankaların kurulduğu örnekler de vardır. Örneğin; fetüs dokuları için Güney Wales İnisiyatifi (South Wales Initiative for Fetal Tissues), esas olarak insan klinik projelerinde kullanılmak üzere klinik dereceli fetüs dokusu (5 ve 12 pcw) sağlarken, ABD'deki Maryland Üniversitesi Beyin ve Doku Bankası (University of Maryland Brain and Tissue Bank) hem erişkin hem de fetüs dokusuna erişim sağlamaktadır.

Biyoinformatik Portalları

Çok sayıda internet sitesi, araştırmacılara insan gelişimiyle ilgili değerli bilgiler sağlamakta. Örneğin, BrainSpan projesi embriyon, fetüs ve erişkin beyninin bir çok bölgesinden transkriptom ve gen ifadesi verileri oluşturmuştur. UNSW Embryology Portalı ise, insan embriyon ve fetüs örneklerinin çok sayıda koleksiyonuna erişim sağlayan bir eğitim ve araştırma sitesidir.

İngiltere'de, UKCRC fon sağlayıcıları konsorsiyumu, Ulusal Doku Dizini ve Koordinasyon Merkezi (*The National Tissue Directory and Coordination Centre*) kurmuşlardır. Bu dizin, araştırmacılara İngiltere'de insan biyobankaları bulmalarını ve bir ağ üzerinden koleksiyonlarına erişme imkanını sağlayacak biçimde tasarlanmıştır. Bu ve diğer biyoinformatik veri tabanları özellikle primer dokulara erişimi kısıtlı olan araştırmacılar için gerekli kaynaklardır.

Carnegie Koleksiyonu

Washington D.C. Ulusal Sağlık ve Tıp Müzesi'ndeki (*The National Museum of Health and Medicine*) Carnegie koleksiyonunda 7.000 insan embriyonu bulunmaktadır. Bu materyaller, dış özelliklerinin yanı sıra iç özelliklere de dayanan ayrıntılı Carnegie evrelendirme sistemini geliştirmek için kullanılmıştır. Carnegie evrelendirmesi (CS1-23) insan embriyon araştırmalarında evrensel olarak kullanılmaktadır. Farklı dönemlerde elde edilen embriyonların kesitleri alınarak, koleksiyonu araştırma ve eğitim için daha erişilebilir bir hale getirmek üzere, bunların bir alt grubundan dijital görüntüler elde edilmiştir. Görüntüler, yorumlamayı kolaylaştırmak için standart anatomi terimleriyle işaretlenmiş veya üç boyutlu modeller ve 252 adet video oluşturmak için kullanılmıştır.

Kyoto Koleksiyonu

CS7 ve CS23 aralığındaki 44.000'den fazla örneğiyle, dünyadaki en geniş insan embriyon koleksiyonudur. Her bir örnek için, annenin epidemiyolojik verileri ve gebeliklere ilişkin detaylı klinik bilgiler toplanmıştır. Beş yüz adet normal ve beş yüz adet anormal embriyonun seri olarak kesitleri alınmış ve bir diğer 1.300 adet evrelendirilmiş insan embriyonları, manyetik rezonans mikroskopi tekniğiyle dijital olarak görüntülenip üç boyutlu rekonstrüksiyonları üretilmiştir.

Sonuçlar

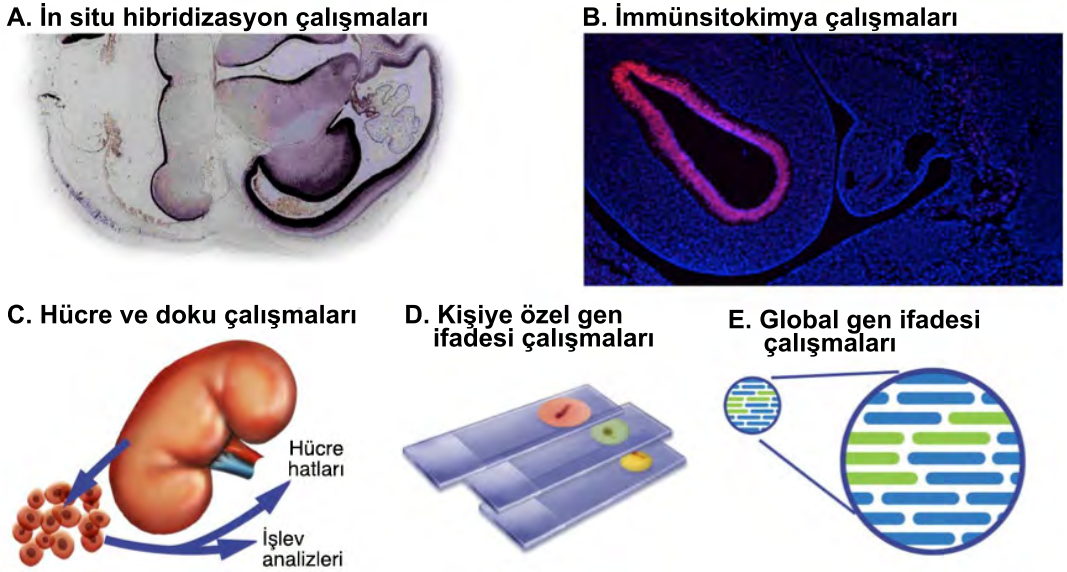
Genotype-Tissue Expression Project, **Geuvadis** ve **UK 100,000 Genomes Project** gibi büyük ölçekli dizileme projelerine daha fazla önem verilmesiyle birlikte, son bir kaç yıldır gelişim biyolojisinde ve klinik araştırmalarda durum değişmiştir. Bunlar ve çok sayıdaki diğer proje, ayrı ayrı binlerce hastanın gen ifadesindeki varyasyonları haritalamayı ve bunu hastalık fenotipleriyle ve Encyclopedia of DNA Elements (ENCODE) gibi sitelerdeki biyoinformatik bilgileriyle ilişkilendirmeyi hedeflemiştir.

Diğer çalışmalar, gen ağlarını incelemek üzere dizileme verilerini sorgulamak için yeni algoritmalar kullanmakta (Liu et al., 2014). Bu projeler şimdilerde bir dizi insan hastalığı ve sendromlarında rol oynayabilecek olası genleri tanımlamaktadır.

Gen keşfi yolunda bir sonraki adım, olası genleri model organizmalarda ve insan dokularında test etmek olacaktır. Genlerin, incelenen hastalıkla ilişkili doku ve hücre tiplerinde ifade olup olmadığını belirlemek için, bu analizlerin hücresel düzeyde yapılması gerekmekte. HDBR esas olarak, konjenital anomalilere neden olduğu düşünülen genleri araştırmayı isteyen araştırmacılara yardımcı olmak için kurulmuştur. Bunlara ilaveten, bazı gruplar epigenetik mekanizmaları çalışmak için işlevsel çalışmalarda HDBR'nin sağladığı materyalleri kullanmakta. Bazı projeler de kök hücre türevlerini ve doku mühendisliği projeleri için doku iskelelerini içermektedir.

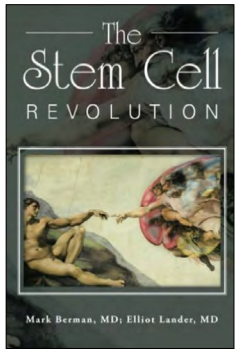
HDBR önümüzdeki yıllarda büyük olasılıkla, sadece kilit gelişim süreçlerini anlamak isteyen projeleri desteklemekle kalmayacak, bunun yanı sıra trans-

Şekil 1. HDBR materyalleri değişik çalışmalarda kullanılmaktadır.
HDBR personeli araştırmacılar adına, in-situ hibridizasyon yöntemiyle (A) ya da immünhistokimyasal yöntemle (B) doku kesitlerinde gen ifadesi analizi yapmaktadır. (C-E) HDBR'den elde ettikleri materyallerle araştırmacıların kendi laboratuvarlarında yürüttükleri çalışma örnekleri: hücre hatları üretme veya işlevsel analiz yapma (C); parafin kesitlerde gen ifadesi çalışmaları (D); hücre veya dokularda transkriptom çalışmaları (E).



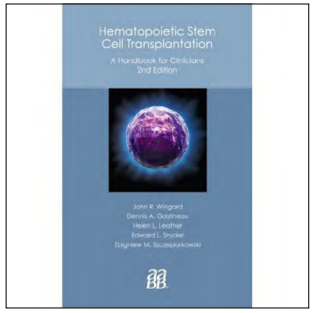
YENİ ÇIKAN KİTAPLAR

The Stem Cell Revolution
Yazarlar: Mark Berman, Elliot Lander
Temmuz 2015; AuthorHouse.



Bu kitap hızla büyüyen kök hücre alanınındaki öyküyü çarpıcı bir dille anlatırken farklı disiplinlerden doktorların bu alanda nasıl buluştuklarına ve hastaların gerçek öykülerine de yer veriyor. "Yağ dokunuzda bulunan kök hücreler çok sayıda inflamatuvar hastalığı ve dejeneratif durumu geri çevirebilir" deniyor. Birçok kişi insan vücudunda böylesi hücrelerin varlığından habersiz. Çoğunlukla "büyük farmakoloji" dünyasının veya "üniversitesideki doktora üretim fabrikaları"nın embriyoları kullanarak bu işi başarabilmesini bekliyor. Oysa Dr. Berman ve Dr. Lander başkanlığındaki Cell Surgical Network çeşitli klinik durumlar için kök hücre araştırma bulgularını bir araya getirerek güvenli ve etkin tedavi şeçeneklerini bu kitapta okuyucularla paylaşıyor. Harabiyet veya yıkımın söz konusu olduğu hemen her durumda vücudumuzdaki kök hücrelerin bu yenileme ve giderme potansiyelinin bulunduğu öne sürülen kitapta genel sağlıklı yaşam reçeteleri de veriliyor ve "kök hücre devrimi"nin başladığı müjdesi duyuruluyor.

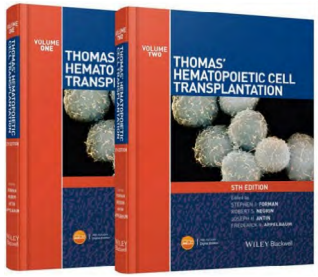
Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Handbook for Clinicians, 2nd edition
Yazarlar : John R. Wingard, Dennis A. Gastineau, Helen L. Leather, Edward Snyder, Zbigniew M. Szczepiorkowski
Ocak 2015; American Association of Blood Banks.



Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Handbook for Clinicians (HSCT) bu ikinci baskısı hematopoetik kök hücre nakli alanındaki uzmanlara ve sağlık sektöründeki sigortacılara açıklayıcı ve pratik bilgiler sunuyor. Bunlar arasında nakil endikasyonları, verici ve alıcı değerlendirmeleri, uygulamama rejimleri, kök hücreleri toplama, işleme ve tanımlama ölçütleri veriliyor. Yanı sıra immünsüpresif tedavinin ve kök hücre nakli sonrası çıkan yaygın komplikasyonların nasıl yönetileceği sunuluyor. Kitabın vurgusu güncel klinik veriler üzerine.

Bu baskının içeriğine bakıldığında alandaki soruların ve sorunların daha kolay bulunabilir ve erişilebilir bir şekilde düzenlenmiş olduğu dikkati çekmekte. Yazarlar söz konusu alandaki eğitim faaliyetlerinine de değiniyorlar. İlk baskıda yer alan her başlık yenilenmiş ve güncellenmiş durumda. Bunun yanı sıra malign olmayan hastalıklar, haploidentik nakiller, fotoforez, maliyet analizleri ve demir yüklemesi gibi yeni bölümler de eklenmiş;

Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation, 2 Ciltlik Set
Editörler: Stephen J. Forman, Robert S. Negrin, Joseph H. Antin, Frederick R. Appelbaum
Şubat 2016; Wiley-Blackwell.



Beşinci baskısıyla baştan aşağı yenilenen bu muhteşem eser kemik iliği nakilleri alanında vazgeçilmez ve öncü bir kaynak kitap konumunda.

İçerdiği bölümlerimlerin ele alınışı ve kapsamı her konudaki temel bilimsel bulguları günümüzün klinik verileriyle karşılaştırıyor ve geleceğe yönelik projeksiyonlarda bulunuyor.

İki ciltlik bu kaynak eserde 170 uluslararası uzman 106 bölümde konuyu ele alıyor. Bunların arasında kök hücre biyolojindeki son araştırma bulgularını içeren bölümler, immünoloji ve tolerans gibi bölümler de yer alıyor. Bölüm içerikleri kök hücre nakillerinin yararlarına ve zorluklarına, yeni tedavi girişimlerinin etki analizlerine de yer verirken klinik olarak karar verme algoritmaları da sunuyor.

Söz konusu eser tamamen elektronik arama özelliği ile geliyor, şekiller indirilebiliyor ve çapraz referanslar arası arama yapılabiliyor.

KONGRE, SEMPOZYUM ve KURSLAR

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

Stem Cells and Regeneration in the Digestive Organs
13-17 March, 2016 - Keystone, Colorado, A.B.D

International Symposium FOR 2033. The Hematopoietic Niches
14 March 2016 - Münih, Almanya

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

Keystone Symposia: Cardiac Development, Regeneration and Repair
3-7 Nisan 2016 - Snowbird, Utah, A.B.D.

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

1st International Cell Death Congress
4-7 Mayıs - İzmir

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

ISSCR 2016 Annual Meeting International Society for Stem Cell Research (ISSCR)
22-25, Haziran 2016, San Francisco, A.B.D.

Sizlerden Gelen...

Kök Hücre Bülteni'ni bir arkadaşımda görmüştüm. içeriği çok hoşuma gitti. tam öğrenci düzeyinde. emeği geçen herkese teşekkür ediyorum. ***Abdullah Aktaş***

Alp Hocam; bizlere gösterdiğiniz özen ve bu yayınladığınız bülten için çok teşekkür ederim. Akademik çalışmalarınızı ve sizi hayranlıkla takip ediyorum. Sizin öğrenciniz olmaktan gurur duyuyorum. İyi günler iyi çalışmalar dilerim. ***Mehmet Olgun***

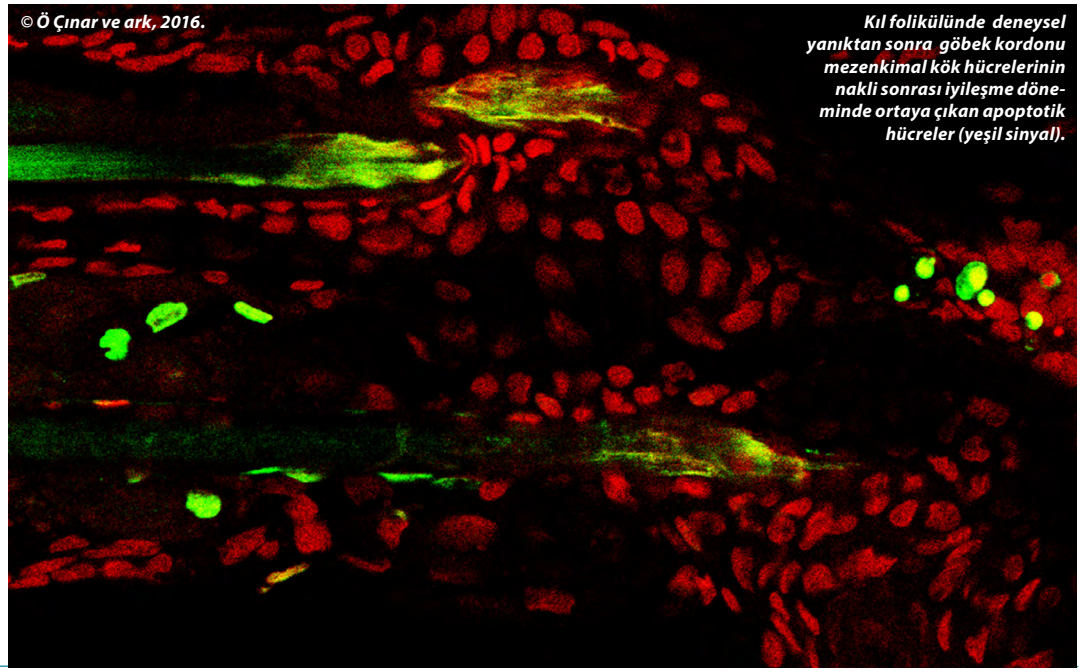
Ankara Tıp Dönem 1 öğrencisi olarak kök hücre ilgimi çeken ve en iyi öğrendiğim ders başlıklarından biri oldu. Bu yüzden bültene üye olmak istedim. ***Mehmet Sadık Ataman***

Bu örnek ve özverili çabalarınız için kutluyorum. Başarılarınızın devamı dileklerimle. ***Meltem Aylı***

Bu güzel çalışmada emeği geçenlere teşekkürler. ***Meryem Gültekin***

Elinize sağlık, yaptığınız işin çok değerli olduğunu düşünüyorum. ***Kaan Ekrem Bebek***

AYIN FOTOĞRAFI



© Ö Çınar ve ark, 2016.

Kıl folikülünde deneysel yanıktan sonra göbek kordonu mezenkimal kök hücrelerinin nakli sonrası iyileşme döneminde ortaya çıkan apoptotik hücreler (yeşil sinyal).