ISSN: 2148-9815

Kök Hücre E-Bülteni

Yaşam Bankası FamiCord Group destekleriyle...

www.kokhucrebulteni.com
info@kokhucrebulteni.com

Sayı: 13
Mayıs-Haziran 2016

Editör'den

Alp Can

KHB 2 Yaşında

KHB'nin 13. sayısıyla hepinize tekrar merhaba.

Bu sayı ile birlikte **KHB** 2 yaşını doldurmuş oluyor. Başta yazılarıyla katkı veren yazarlarımıza ve siz izleyicilerimize çok teşekkür ediyoruz. Bir yadan dünyadaki gelişmeleri izlerken diğer yandan ülkemizdeki gelişmeleri, kongreleri özetledik, merkezleri tanıttık.

Geçtiğimiz 13 sayıda yayınladıklarımıza kısaca bakalım. Bilişim-Biyoinformatik başlığıyla üç, Doku Mühendisliği başlığıyla bir, Hematoloji-Onkoloji başlığıyla üç, Hücresel Tedavi ve Rejeneratif Tıp başlığıyla on bir, Kanser Kök Hücreleri başlığıyla bir, Kök Hücre Biyolojisi başlığıyla yedi, Kök Hücre Eğitimi başlığıyla bir, Pluripotent Kök Hücreler başlığıyla on bir, Teknik ve Uygulamalar başlığıyla üç, Üreme Hücreleri başlığıyla yedi, Yönetsel Düzenlemeler(Mevzuat) başlığıyla iki yazı yayınladık. Haber-Yorum başlığıyla beş yazı; Literatürden Seçmeler başlığı altında dokuz özet ve bir adet Literatürden Yorum yer aldı. Merkezler ve Gruplar başlığı altında üç merkezi tanıttık, Kongreler-Sempozyumlar başlığıyla dört kongreyi değerlendirdik. Yeni Çıkan Kitaplar altında yirmi kitabı kısaca tanıtırken çok sayıda Kongre, Sempozyum ve Kursun duyurusunu yaptık. Sizler KHB'ye ilgi gösterdikçe biz yayınlamaya devam edeceğiz.

Bu sayıda ilk olarak daha önce sekizinci sayıda tanıtmış olduğumuz **TÜRKÖK** projesinde bir yılda gelinen başarıyı aktarıyoruz. Projenin başındaki kişilerden **Dr. Medine Hasçuhadar** KHB için son gelişmeleri kaleme aldı. İkinci olarak Cell dergisinde erken evrede embriyo gelişime ilişkin önemli bir bilgi içeren araştırmayı **Dr. Zeynep Gülhan Yığman** özetledi. Ardından geçtiğimiz ay ISSCR tarafından fetüs dokuların kullanıldığı biyomedikal çalışmaları uygunsuz biçimde sınırlayan ya da yasaklayan girişimlere karşı olduğunu belirten duyuruya yer verdik. KHB için **Bio. Merve Sucu** Cell Stem Cell dergisinden Young ve ark. tarafından yayınlanan DMD'de yeni bir tedavi yaklaşımını derledi. Son olarak **Uzm. Bio Hakan Coşkun** tarafından derlenen yazıda kalp gelişimde hücresel düzenlenmeye yer verdik. **Yeni Çıkan Kitaplar** bölümüne dört yeni kitabı tanıttık. Tüm sayılarımızda olduğu gibi son olarak **Sizlerden Gelen**, **Kongre, Sempozyum ve Kurs** duyuruları ve **Ayın Fotoğrafı**'na yer alıyor.

14. sayıda buluşuncaya kadar hoşça kalın...

Hematoloji-Onkoloji

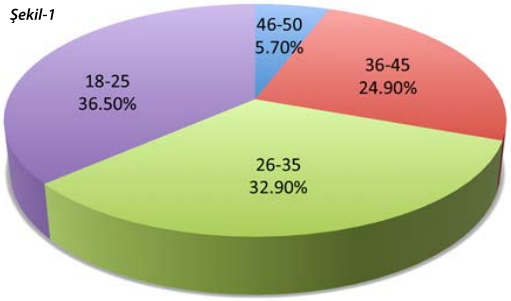
Medine Hasçuhadar

TÜRKÖK 1 Yaşında...

Bir yılın sonunda 57 hastaya TÜRKÖK umut oldu, yakın zamanda da 87 hastaya umut olacak.

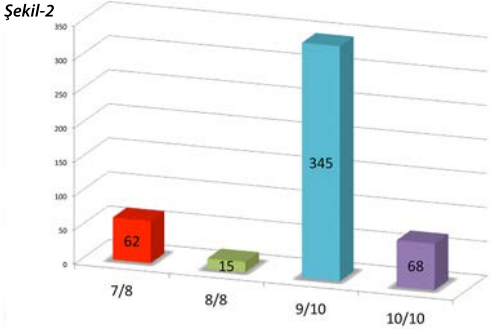
Türkiye'de hematopoetik kök hücre nakli olmayı bekleyen hastalar için oluşturalan **TÜRKÖK** (Türkiye Kök Hücre Koordinasyon Merkezi) 1 yaşını doldurdu. Pekala, 1 Nisan 2015 tarihinden bugüne neler yapıldı? TÜRKÖK'e gönüllü verici kazanım çalışmaları Türk Kızılay'ı tarafından sürdürülmekte ve başarılı bir şekilde yürütülmekte. Başlangıçta hedefimiz ilk üç yılda 150-200 bin vericiye ulaşmakken bir yılın sonunda **139 bin verici**ye ulaşıldı. Verici havuzumuz hedeflere uygun şekilde genç nüfustan oluşmakta. Bu vericilerin %70'i 18-35 yaş aralığında. Cinsiyet dağılımında ise %70'i erkek. Akraba dışı verici kararında erkek cinsiyetin ve genç yaş grubunun daha çok tercih edildiğini düşünürsek TÜRKÖK verici kazanımının hedeflere uygun ve başarılı bir şekilde yürütüldüğünü görmekteyiz. TÜRKÖK vericilerinin yaş gruplarına göre dağılımı **Şekil 1**'de gösterilmekte.

Şekil-1



Vericilerimizin doku tiplendirilmesi, TÜRKÖK doku tipleme laboratuvarında yeni nesil gen dizileme yöntemiyle HLA A,- B, -C, ve -DRB1 lokusları yüksek çözünürlüklü çalışılmakta ve TÜRKÖK veri tabanına aktarılmakta. Sadece allel bilgisi değil aynı zamanda ilgili DNA dizisi de veri tabanına aktarılıyor. Yeni bir gelişme ise, Haziran 2015 tarihinden itibaren bu dört HLA lokusuna HLADQB1 de eklenerek beş lokus çalışılmaya başlandı. Yeni sonuçlanan her 800 örneklik grup için TÜRKÖK yetkilileri tarafından seçilen 2 adet örnek, Sağlık Bakanlığı'nın belirleyip onayladığı akredite bir dış laboratuvara gönderilmekte ve sonuçlar karşılaştırılmaya devam edilmekte. Haftada ortalama 1200 vericiye ait sonuç TÜRKÖK veri tabanına yükleniyor. Nisan 2016 tarihi itibariyle TÜRKÖK veri tabanında 95,000 vericinin sonucu kaydedilmiş durumda; 2016 yılı sonunda ise 120 bin vericiye ait sonucun TÜRKÖK veri tabanında olması beklenmekte.

Şekil-2



TÜRKÖK Ulusal Kemik İliği Bankasında, kemik iliği nakil merkezleriyle TRAN ve TRİS doku bilgi bankaları tarafından akraba dışı vericiye gereksinimi olan hastaların verilerinin iletilmesiyle hasta listeleri oluşturulmakta. Bugün itibariyle 1,458 hastanın (758'i çocuk, 700'ü erişkin) taraması yapılmış ve 95,000 vericiye ait bilgilerin yer aldığı TÜRKÖK veri tabanında yapılan tarama sonucunda **490 hastaya uygun eşleşme bulundu**. Bu 490 hastanın 83'üne tam uyum ve 407'sine de bir antijen uyumsuz verici adayı tespit edildi. 490 hastanın eşleşme oranları durumu **Şekil 2**'de gösterilmekte. Yani, TÜRKÖK'e kayıtlı hastalardan %34'üne, başka bir deyişle **üç hastadan birine uygun verici adayı bulmaktayız** diyebiliriz. Eşleşen verici-hasta bilgileri merkezlere bildirilmekte ve merkezlerin talepleri doğrultusunda eşleşen hastalardan ve vericilerden doğrulama testi çalışılarak süreç ilerlemekte; sonuçlara ve hastanın durumuna göre nakil planlamaları yapılmakta. Bugüne kadar TÜRKÖK vericilerinden 57 hastaya nakil, 22 hastaya da nakil planlamaları yapılarak merkezler arası koordinasyon sağlanmış; 65 hastanın da uygun vericileri hastalara daha sonra nakil yapılmak üzere ayrılmış durumda. Yani bir yılın sonunda 57 hastaya TÜRKÖK umut oldu, yakın zamanda da 87 hastaya umut olacak. Bir yılın bitiminde geldiğimiz bu nokta ülkemiz adına gurur verici.

BMDW (*Bone Marrow Donor Worldwide*)'a üyelik başvurumuz kabul edilmiş olup Mayıs 2016 tarihinden itibaren yurt dışı tarama da yapılabilecek ve böylece TÜRKÖK ulusal kemik iliği bankasında uygun verici bulamadığımız hastalarımıza yurtdışından verici bulacak ya da tam tersine yurtdışından bir hastaya TÜRKÖK'den bir verici bulunabilecek.

Bağışçılarımızın daha da çoğalması ve daha da çok hastamıza umut olabilmek için;

Sen de Öne Çık, Hayat Kurtar !...

TÜRKÖK KÖK HÜCRE

Literatürden Seçmeler

Zeynep Gülhan Yığman

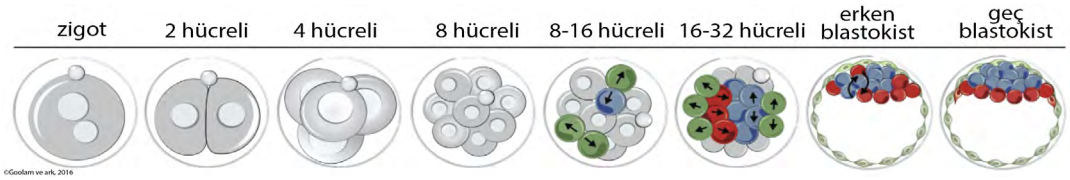
Dört Hücreli Evrede Bile Her Hücremiz Diğerlerinden Farklı!..

Cambridge Üniversitesi'nden **Dr. M. Zernicka-Goetz** ve ekibinin **Cell** dergisinin 24 Mart 2016 tarihli sayısında "*Heterogeneity in Oct4 and Sox2 Targets Biases Cell Fate in 4-Cell Mouse Embryos*" çalışmasında (Goolam ve ark, 2016), implantasyon öncesi gelişimin temel amacının embriyon içi ve embiyon dışı hücre kararlanmasının oluşturulması gerçeğinden yola çıkılarak, memelilerde bu temel sürecin nasıl ve ne zaman başladığını irdelemek için farede implantasyon öncesi gelişim süreci boyunca ayrı ayrı tüm hücrelerin transkriptomları tanımlanmış. Bu şekilde, dört hücreli embriyonun blastomerlerinde, oldukça heterojen bir biçimde ifade edilen, temel pluripotensi düzenleyicileri olan *Oct4* ve *Sox2* genlerinin hedefleri belirlenmiş. Canlı hücre izleme yöntemiyle blastomerler arasında en heterojen ifade profiline sahip düzenleyicilerden biri olan Sox21'in düşük düzeylerde olduğu, hücrelerin pluripotent hücrelere dönüşmekten çok embriyon dışı dokuları oluşturacak hücrelere dönüştüğü gösterilmiş. Sox21'in azalması, bunun pluripotensinin korunmasına yardım ettiğini de gösterirken farklılaşmanın düzenleyicisi olan Cdx2'nin erken artışıyla sonuçlanmış. Dahası histon H3R26-metilaz CARM1 ifadesindeki artışın sonrasında Sox21'in yükselmesi ve CARM1 inhibisyonundan sonra düşmesi, epigenetik düzenlenmenin önemini gösterir bir bulgu olarak vurgulanmış. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlarla dört hücreli evreye kadar ortaya çıkan heterojen gen ifadesinin, pluripotensiyle farklılaşma arasındaki dengeyi değiştirerek hücre kararlanmasını başlattığı sonucuna varılmış.

Cambridge Üniversitesi ve EMBL-EBI (*European Bioinformatics Institute, European Molecular Biology Laboratory)* liderliğindeki bu yeni araştırmaya göre erken evredeki embriyonların genetik imzaları gelişimimizin sadece dört hücreden ibaret olduğumuz, konsepsiyon sonrası ikinci günde şekil almaya başladığını doğrulamakta. Her ne kadar bu dört hücre özdeş gibi görünseler de, iki günlük embriyonun hücreleri hemen göze çarpmayan farklılıkları çoktan sergilemeye başlamış durumda.

Yumurta hücresi spermle fertilize olduğunda, ardı ardına bir çok kez bölünerek bir kök hücre yumağına dönüşür. Kısa süre içinde bu hücreler bölünerek tüm vücut dokularını oluşturacak olan öncü hücreleri ve embriyonun anne rahmine tutunmasını sağlayan plasentayı oluştururlar; yani totipotent'tirler. Bu hücreler, gelişimleri sırasında plasentayı değil de tüm vücut hücrelerini oluşturmaya sınırlandıklarında pluripotent duruma dönüşürler. Bununla birlikte, hücrelerin özgün bir hücre tipine dönüşmek üzere bir yönelimde bulunmaya başladıkları gelişim anı belirsizdir. On yıldan daha uzun süreye dayanan çalışmalarda, Dr. M. Zernicka-Goetz ve ark. dört hücreli evredeki embriyon hücrelerinin esnekliklerini sürdürmesi gerçeğine rağmen, her bir hücrenin gelişimsel potansiyelinde ve kararlanmasında nasıl bir sapma (eğilim) gösterdiğini tanımladılar. Örneğin, hücrelerden biri en sonunda plasenta oluşumuna katılacakken bir diğeri pluripotent durumu edinmek üzere belirgin bir eğilim göstermektedir. Bir çok araştırmacı dört hücreli evrede olsa bile embriyon hücrelerinin özdeş olduğunu savunurken, bu çalışmayla dört hücreli embriyonda hücrelerin aslında birbirinden farklı olduğunu ileri sürülmekte.

Araştırmacılar, bir hücrede bazı genlerin aktivitesine bakarak farede embriyon gelişimini modellemek için en son gen dizileme teknolojisini kullanmışlar. Dört hücrenin her birinde bazı genlerin farklı davrandığını göstermişlerdir. Hücreler arasında özellikle "pluripotensi ağı" kısmını oluşturan Sox21 geninin aktivitesi farklılık göstermiş. Çalışma ekibi bu genin aktivitesi azaldığında, hücreleri plasentayı geliştirmeye doğru yönlendiren temel bir düzenleyici aktivitesinin arttığını bulmuş.



ISSCR FETÜS DOKUSU ÜZERİNDEKİ ARAŞTIRMALARIN GEREKLİLİĞİNİ DESTEKLEMEKTE

Uluslararası Kök Hücre Araştırmaları Derneği (*The International Society for Stem Cell Research*) (**ISSCR**), Birleşik Devletler'in 45 eyaletinde ve dünyanın 65 ülkesinde 4000'den fazla üyeyi temsil eden, kök hücreyle ilgili bilim insanlarının oluşturduğu, dünyanın önde gelen meslek örgütüdür. ISSCR fetüs dokuların kullanıldığı biyomedikal çalışmaları uygunsuz biçimde sınırlayan ya da yasaklayan en son girişimlere karşıdır. Eğer yasallaşırsa bu girişimler, biyomedikal araştırmaları ciddi olarak engelleyebilir ve insan sağlığını geliştirmeye yönelik çabalara ket vurabilir. Eğer bu tip sınırlamalar geçmişte yasallaşmış olsaydı milyonlarca yaşamı kurtarmış olan tedavilerin gelişimini geciktirmiş ya da engellemiş olacaktı.

Bağışlanmış fetüs dokularının kullanıldığı araştırmalar 1930'lardan bu yana süregelmekte ve biyoloji bilgimize ve yeni tıbbi teknolojilerin gelişimine büyük katkı sağlamaktadır. Fetüse ait dokular spontan düşükler ve yasal küretajlardan elde edilmektedir. Eğer hastalar tarafından tıbbi araştırmalar için bağışlanmamış ise fetüs dokuları atılmalıdır. Bu eşsiz ve değerli doku, donörlerin rızasıyla, yaşamı tehdit eden hastalıklar için yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinin yanı sıra temel biyolojik süreçler ve insan gelişiyle ilgili araştırmalar için kullanılabilir.

Fetal dokular, insan dokularının ve organlarının nasıl geliştiğiyle ilgili laboratuvar temelli araştırmalara olanak veren önemli bir "altın-standart" kaynaktır. Hayvan modellerinin ve erişkin hücrelerinin kullanımı gibi diğer yaklaşımlar faydalı olabilirken, bazı doğumsal ve gelişimsel durumlar için insan fetüsü dokularıyla çalışmak gerekmektedir. Fetüs dokusu araştırmaları olmadan, kalp ya da sinir sistemindeki doğumsal bozuklukları tam olarak anlamak mümkün olmayacaktır ve bu dokuları etkileyen hastalıklar için yeni tedaviler gecikecek ya da önlenecektir. Daha da önemlisi; kızamık, kabakulak, kızamıkçık, su çiçeği, difteri, tetanoz, boğmaca, çocuk felci, hepatit A, hepatit B, kuduz, zona ve adenovirüs enfeksiyonlarını da kapsayan bir çok hastalık için aşı geliştirilmesinde fetüs hücre hatlarının kullanımını gerektirmektedir. Milyonlarca yaşam bu araştırmaların sonucu olarak kurtarılmıştır. Fetüs hücrelerinin kültürlerinin kullanımına dayanan çocuk felci aşısının geliştirilmesi, her yıl yüz binlerce çocuk felci olgusunu önlemiş ve 1954'de Nobel Ödülü'yle geçerliliği kabul edilmiştir. 25 Nisan 2014 tarihli Birleşik Devletler Hastalık Kontrol ve Morbidite ve Mortaliteyi Önleme Merkezi Raporu (*U.S. Center for Disease Control and Prevention's Morbidity and Mortality Report*), çocukluk çağı aşılamalarının sonucunda Birleşik Devletler'de 1994-2013 yıllarında doğan çocuklar arasında 322 milyon daha az hastalık, 21 milyon daha az hastaneye yatış ve 732.000 daha az ölüm olduğunu bildirmektedir (http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/wk/mm6316.pdf#12). Bu yaşamların çoğunluğu fetüs dokularının kullanıldığı araştırmaların bir sonucu olarak kurtarılmıştır. Aşı geliştirilmesindeki tarihi rollerine ek olarak, Birleşik Devletler Ulusal Sağlık Enstitüsü (U.S. National Institutes of Health) anne sağlığı, erken doğumlar ve bebek sağlığı konulu araştırmalarda fetüs dokusu kullanımını "vazgeçilmez" olarak kabul etmektedir. Prematür bebekler sıklıkla nöral gelişimde hafıza, düşünme ve dili etkileyen gecikme gösterirler. Araştırmacılar fetal beyin dokusunu kullanarak, fetüsün gelişimi süresince normal olarak süregelen yeni beyin hücreleri üretiminin erken doğumla bozulduğunu keşfetmişlerdir. Bu keşif prematür bebeklerde normal beyin hücresi gelişimini düzenlemek için yeni yaklaşımların araştırılmasına imkan vermektedir. Prematür bebeklerde körlüğün başlıca sebebi olan prematürite retinopatisinin nedenlerine yönelik bildiklerimiz fetüs dokularında yürütülen araştırmalarla geliştirilmiştir.
Fetüs kaynaklı dokular araştırmacılara, etkin bir başka tedavisi olmayan çeşitli nörodejeneratif hastalıklar için hücre temelli yaklaşımları deneme imkanı vermektedir. Şu anda amiyotrofik lateral skleroz (ALS ya da Lou Gehrig hastalığı), spinal kord yaralanmaları, inme ve yaşa bağlı maküla dejenerasyonunda fetüs dokusundan köken alan hücrelerin kullanıldığ klinik çalışmalar sürmektedir. Sonuç olarak; fetüs dokularının kullanıldığı araştırmalar milyonlarca yaşamı kurtaran tedavilerin yanı sıra insan gelişiminde bir çok yeni bakış açısının ortaya çıkışını sağlamıştır. Yasal yollarla ve donörün rızasıyla elde edilen insan fetüsü dokularına erişimin sürmesi biyomedikal araştırmalardaki bir çok önemli soruyu yanıtlamak ve yeni tedavilerin geliştirilmesi için gereklidir. ISSCR, yaşamı tehdit eden hastalıkların tedavisi ve önlenmesi için fetüs dokusu araştırmalarının gerekliliğini onaylamaktadır.

Çeviri: Zeynep Gülhan Yığman

ISSCR

Hücresel Tedavi ve Rejeneratif Tıp

Merve Sucu

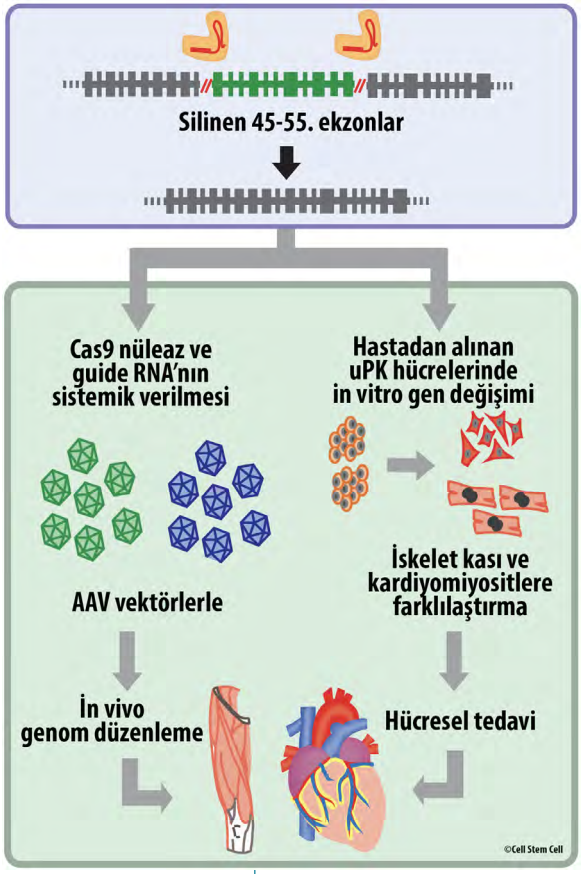
DMD'de Yeni Bir Tedavi Yaklaşımı!..

Henüz küratif bir tedavi olmamasına rağmen Young ve ark. bir çift guide RNA (gRNA) ve CRISPR/Cas9 kullanarak genom düzenleme yaklaşımıyla Duchenne Musküler Distrofi (DMD) hastalarının %60'ına uygulanabilir bir yöntem geliştirdiler.

İlerleyen kas erimesi sebebiyle genç yaştaki erkek çocukları tekerlekli sandalyeye mahkum eden **Duchenne Musküler Distrofi** (**DMD**), X kromozomuna bağlı ciddi bir nöromüsküler hastalıktır. Hastalığın ilerlemesiyle beraber hastalar genellikle diyafram veya kalp yetmezliği sebebiyle yetişkin döneminde ölür.

DMD, hücre zarı stabilitesinden ve kas liflerininin kasılması sırasında korunmasından sorumlu olan distrofin proteininin gen düzeyindeki mutasyonlarından dolayı oluşur. Mutasyonların büyük bölümü bir ya da daha fazla ekzonun gen içi delesyonlarından dolayı (%65-70), genellikle 45-55. ve 2-19. ekzonları arasında iki sıcak noktada (*hotspot*) kümelenir. DMD hastalarındaki mutasyonların çoğu, bu genin okunmasının bozulmasına bağlıdır; bu da işlevsel distrofin kaybına yol açar. Distrofin eksikliği, kas gerilemesine ve kas liflerinin yağ ve fibrotik dokuyla yer değiştirmesine neden olur. Böylece ilerleyen kas zayıflığı meydana gelir. Asıl bozukluğu hedef alan bir tedavi bulunmamakla beraber, var olan tedaviler semptomların kontrolünü ve yaşam kalitesinin arttırılmasını amaçlar. Şu anda yürütülen klinik deneyler oligonükleotidlerin mutasyona uğramış ekzonlarını atlaması ya da viral gen terapisi ile distrofin ekspresyonunu kısaltmaya odaklanmıştır (Fairclough ve ark, 2013).

Cell Stem Cell dergisinin 7 Nisan 2016 tarihli sayısında **Young ve ark.** DMD hastalarının %60'ına uygulanabilecek olası terapötik bir yöntem sunuyorlar (Young ve ark, 2016). 45-55. ekzonlar arasındaki sıcak noktayı silen çok yönlü CRISPR/Cas9 gen düzenleme teknolojisine dayanan bu yöntemde DMD hastalarından alınıp uyarılmış pluripotent kök (uPK) hücre haline getirilen hücrelerde araştırmacılar 45-55. ekzonlarını silerek, kök hücreleri kardiyomiyositlere ya da iskelet kası hücrelerine dönüştürdüler. Ortaya çıkan büyük delesyon, *DMD* geninin okuma çerçevesini korumakta; geni içten silmekte ve stabil ve işlevsel distrofin proteini üretmekte. DMD'nin fare modellerinde, yapılan nakilden sonra kesik distrofinin işlevselliği, distrofin-glikoprotein kompleksinin ortaya çıkışı, osmotik gerilime dayanıklılığı ve distrofin içeren iskelet kası liflerini üretilebilmesiyle gösterilmiş durumda. Araştırmacılara göre büyük çaptaki bu delesyon yöntemi klinik olarak ya Cas9 ile RNA (gRNA) çiftinin yönlendirilmesiyle yapılan gen terapisiyle, ya da hastadan alınan uPK hücrelerinin modifikasyonundan sonra hücre nakliyle başarılabilir.



Günümüz teknolojileri büyük olan *DMD* geninin viral gen terapisiyle yer değiştirmesini imkansız kılmakta. Pekala, distrofinde mükemmel bir delesyon oluşturmak hastalığın ilerleyişini durdurmakta yeterli olabilir mi? Daha hafif fenotipli Becker kas distrofisi hastalarında görüldüğü gibi, 45-55. ekzonların büyük delesyonlarının diğer tekli ekzon delesyonlarına göre daha hafif olduğunun gözlemlenmesi, distrofinin internal delesyonlarının özelliklerinin çoğunu koruduğunu göstermekte. 45-55. ekzonlarının delesyona uğradığı hastalar diğer internal delesyonlara göre daha az kalp rahatsızlığı geçirmekte. Bunun da ötesinde, hayvan çalışmaları, endojen gende delesyon yapmayı mantıklı bir çerçeveye oturtarak internal delesyona uğramış distrofinlerle yapılan gen terapilerinin faydalarını göstermekte.

DMD'de genom düzenlenmesi için gen terapisi uygulanabilir bir yöntem midir? **Young ve ark.**'nın çalışmalarının yayınlanmasından hemen önce üç bağımsız araştırma grubu (Long ve ark. 2016; Nelson ve ark. 2016; Tabe- bordbar ve ark. 2016) distrofik fare modelinde Cas9 ve AAV vektörleriyle beraber gRNA'ların yerel ve sistemik dağılımını gösterdiler. Mutasyona uğramış 23 numaralı ekzondaki *splice junction*'ı silmeleri, iskelet ya da kardiyak kastaki kesik distrofin ekspresyonunu arttırdı. Bu arttırılan distrofin ekspresyonu fare modelindeki kas fonksiyonlarını geliştirdi. Çünkü iskelet kası liflerinde pek çok çekirdek vardır ve bütün bu çekirdeklerin hepsinin faydalı bir etki için düzenlenmesine gerek yoktur. Farede distrofin ekspresyonunun %4-15 oranındaki restorasyonu DMD semptomlarını azaltmaya ve yaşam süresini uzatmaya yeterlidir. İnsanlarda %30 civarında düşük distrofin seviyesi, kas distrofisini önlemeye yeterlidir. Dolayısıyla şu anki bulgular uygulanabilirliği göstermekte.

Genom düzenlemesinin en büyük yararının kişisel tedavi olduğunu (hasta için özel düzenlenmiş mutasyon odaklı terapi) düşündüğümüzde, bir genin büyük kısmını silmenin bize nasıl bir faydası olabilir? Potansiyel fayda, klinik deneylerde göz önüne çıkmakta. Kişisel terapiyi amacıyla verilen ekzon atlama ilaç denemelerinden öğrendiğimiz gibi her mutasyon kendi başına değerlendirilmelidir. Bu demek oluyor ki, bir ekzondan bir sonrakine geçmek milyonlarca dolara ve uzun yıllara mal olur. Bu nedenle büyük delesyon yaklaşımları bir terapi geliştirirken önemli ölçüde faydalar sağlar. Öte yandan büyük delesyonların en büyük dezavantajı tek gen yaklaşımlara göre daha az etkili olmasıdır. Büyük delesyonların hedeflenen bölgeyi çıkarmak ve non-homolog iki uçtaki bozukluğu onarmak için *upstream* ve *downstream* bölgeleri senkronize kesmesi gerekir. Eğer iki kesik senkronize değilse homolog olmayan rekombinasyon bu kesiği ikincisine dokunmadan onarabilir. Bu kesik bölgelerinde iki küçük insersiyon ya da delesyon mutasyona uğratılır ama hedeflenen büyük ölçekli delesyonu yapmaz. Bu, **Young ve ark.**'nın hedeflenen mutasyonun neden kök hücre kültürlerinin yaklaşık % 0,1'inde gözlemlendiğini açıklar. Küçük molekülleri kullanarak aynı vektörden iki gRNA'nın verilmesi ya da gRNA'lar bağlandıktan sonra aktive edilebilecek bir Cas9 varyantı kullanılması etkiyi arttırabilir.

CRISPR/Cas9 ile yapılan genom düzenlemesi genin kalıcı modifikasyonunu sağlar. Böylece uygulama yaşam boyu etki için yeterli olabilir. Aşılamayan zorluk ise kalp dahil olmak üzere vücuttaki her kasın nasıl hedefleneceğidir. **Young ve ark.**'nın makalelerinde belirttiği gibi hücre terapisi vücuttaki bütün kaslara yeterli hücre sağlayamamaktadır. Cas9'un sistematik taşınabilirliğiyle ilgili kanıtlanan kavramlar ve **Young ve ark.**'nın genom düzenleme çalışmaları mantıklı bir klinik uygulanabilirlikle terapötik bir yaklaşım sağlayabilir. Canlılarda genom düzenlenmesinin güvenliği ve etkinliğinin kanıtlanması konusunda daha fazla çalışma gerekmesine rağmen bu gelişmeler DMD hastaları ve aileleri için umut vericidir.

Kök Hücre E-Bülteni Sayı: 13 (Mayıs-Haziran 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)*
Uzm.Dr. Zeynep Gülhan Yığman (Kanuni Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Trabzon)
Uz.Bio. Hakan Coşkun (Instituto de Neurociencias CSICUMH, Alicante, Spain)
Uzm.Dr. Medine Hasçuhadar ((Enfeksiyon Hast. Ve Klinik Mik. Uzmanı, TÜRKÖK Birim Sorumlusu)
Uzm. Bio. Duru Aras (Ankara Üniversitesi)
Bio. Merve Sucu (Ankara Üniversitesi)

Kök Hücre Biyolojisi

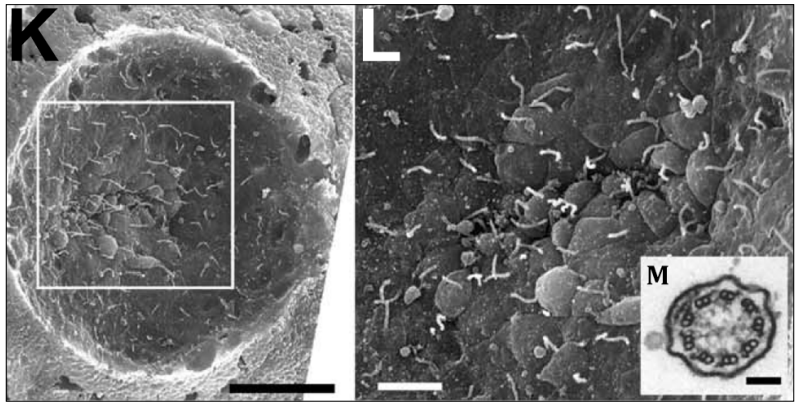
Hakan Coşkun

Kalbimiz Neden Solda?

Doğayı incelediğimizde, kusursuz bir düzenin var olduğunu görmekteyiz. Bu düzene en güzel olarak iç organlarımızın yerleşimini örnek verebiliriz. Dış uzuvlarımız simetrik bir düzen gösterirken, vücudumuzun içindeki organların yerleşimlerinin farklı olduğunu görmekteyiz: Kalp, dalak, mide ve pankreas sol tarafımızda konumlanmış iken; karaciğer ve safra kesesi sağ tarafımızda konumlanmıştır. Evrimsel olarak incelendiğinde, iç organların asimetrik gelişiminin bütün omurgalı hayvanlarda korunmuş olduğu, hatta iplik kurdu, salyangoz ve meyve sineği gibi omurgasız hayvanların bazı iç organlarının asimetrik olarak geliştiği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Raya ve Izpisua Belmonte, 2006; Speder ve ark., 2007).

Pekala nasıl oluyor da, başlangıçta bütünüyle simetrik olan embriyo gövdesinde daha sonra sağ ile sol birbirinden ayrılıp organları bu şekilde düzenlenebiliyor?

İlk ayrılma, gastrülasyon aşamasında **ilkel düğüm** yani ventral kutupta oluşan geçici, küçük bir çöküntü yapısının gelişmesi ile başlamakta. Gastrülasyon buyunca ilkel düğümden salgılanan **Nodal** proteini, asimetrik organ gelişiminin kaderini belirlemekte. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, ilkel düğümü oluşturan hücrelerin, yüzeylerinde **siliyum** olarak adlandırılan kamçı şeklindeki hareketli mikro yapıların, salgılanan Nodal proteinini, ilkel çizginin sol tarafına doğru taşıdıkları gösterilmiştir (**Şekil 1**). Kamçıların saat yönünde hareketiyle gerçekleşen bu olay **Nodal akışı** olarak adlandırılmakta (Okada ve ark., 2005). Bu mekanizma ile embriyonun sol tarafındaki Nodal düzeyi asimetrik olarak artmakta. Yine bu süreçte H^+/K^+-ATPaz aktivitesi ve Ca^{+2} iyonlarının sol tarafta kutuplaşması Nodal akışını kontrol etmekte (Levin ve ark., 2002). Oldukça karmaşık ve hassas olan bu mekanizma hakkında çalışmalar sürmekte.



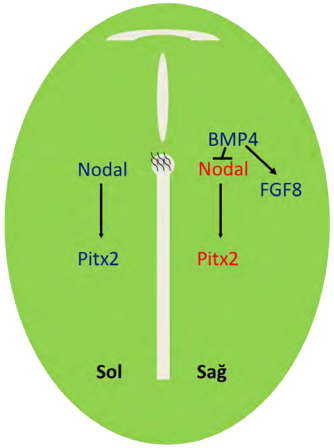
***Şekil 1**. Fare embriyosundaki ilkel düğüm yapısının taramalı elektron mikroskopik yapısı. (K) Düğümün genel görünümü. (L) Düğümü oluşturan hücreler üzerindeki kamçı (siliyum) yapıları. (M) Kamçının enine kesiti. (Okada ve ark. 2005'ten alınmıştır.)*

Embriyonun sol tarafında Nodal'ın asimetrik artışı sonrasında, sürecin ikinci aşaması devreye girmekte; hedef genlerin aktifleştirilmesi...Bu genlerden en önemlilerinden biri **Pitx2** (*Paired-like homeodomain transcription factor 2*). Bir transkripsiyon faktörü olan Pitx2, bundan sonraki süreçte embriyonun sol tarafındaki ilgili genlerin ifadesini ve/veya baskılanmasını sağlayarak asimetrik organ gelişimini kontrol etmekte (Ryan et al. 1998).

Sağ tarafta neler oluyor?

Embriyonun sağ tarafındaki düzen başka bir transkripsiyon faktörü olan **BMP4** (*Bone Morphogenetic Protein 4*)'ün kontrolü altında gerçekleşmekte. BMP4, sağ tarafta Nodal ifadesini baskılarken, **FGF8** (*Fibroblast Growth Factor 8*)'in ifadesini uyarmakta. FGF8 de embriyonun sağ tarafındaki ilgili genlerin ifadesini etkileyerek asimetrik organ gelişiminde rol oynamakta (Fischer ve ark., 2002; Schilling ve ark., 1999).

Sonuç olarak, embriyonik gelişimin erken evrelerinden itibaren sağ-sol asimetrisi belirmeye başlamakta. Sol tarafta **Nodal** ve **Pitx2**; sağ tarafta **BMP4** ve **FGF8**'in öncülüğünde hassas bir kontrol mekanizması bu süreci yönetmekte (**Şekil 2**). Şefliğini Nodal'ın üstlendiği bu senfoniyi şüphesiz zengin bir orkestra çalmakta. İlk olarak tavuk emriyoları üzerinde yapılan çalışmalarla gösterilen bu genetik akış, sonrasında fare, zebra balığı gibi diğer model organizmalar üzerinde de anlaşılmaya çalışılmış ve asimetrik gen ifadesinin düzenlenmesinde bazı farklılıların olduğu gösterilmiştir. Örneğin zebra balığı ve farede ilkel düğüm hücleri kamçılı bir yapıya sahipken, tavuk embriyosundaki ilkel düğüm hücrelerinde kamçı yapısının bulunmadığı saptanmıştır (Speder ve ark., 2007). Oldukça hassas dengeler üzerine kurulu olan bu sistem hakkında



***Şekil 2**. Embriyonun erken gelişim dönemindeki gen ifadesinin asimetrik olarak düzenlenmesi.*

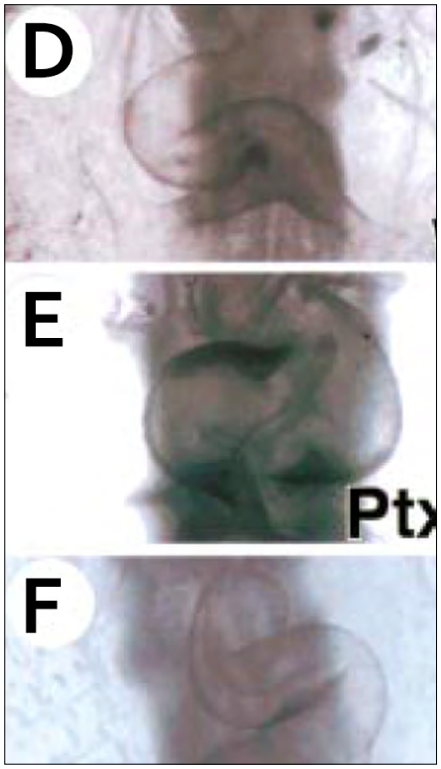
yanıtlanması gereken bir çok soru mevcut.

Ya sonra?

Gastrülasyon sonrasında üç germ tabakasınının (ektoderm, mezoderm ve endoderm) oluşumuyla birlikte, farklılaşan hücreler doku ve organ gelişimine gitmekte. İlk gelişen organımız kalp olduğu için, asimetrik sinyal akışından ilk etkilenenler de kalbi geliştirmek üzere farklılaşan öncü hücreler olmakta. Ryan ve ark'nın tavuk embriyoları üzerinde yaptıkları çalışmada, Pitx2'nin aşırı ifadesi sonrasında mezokardia (kalbin ortada gelişmesi) ya da dekstrokardia (kalbin sol tarafta gelişmesi) ile sonuçlandığı gösterilmiştir (**Şekil 3**) (Ryan ve ark., 1998).

Kalbin embriyonik gelişimi incelendiğinde, birincil kalp tüpünün oluşmasından sonra kalbin asimetrik konumlanması gerçekleşmekte. **Bükülme** olarak adlandırılan bu aşamada, kalp tüpü sağ tarafa veya sol tarafa doğru bükülerek ya da bükülemeyip ortada gelişimini sürdürmekte. Sol yerine kalbin sağ tarafta gelişmesi canlılığı korurken, orta bölgede gelişmesi fetusun ölümüyle sonuçlanmakta. Bu süreci kontrol eden mekanizmalar hakkında çalışmalar halen sürmekte. **Hand2**, **Nkx2.5**, **Gata4** gibi farklı öncü kalp hücre belirteçleri kullanılarak yapılan çalışmalarla, bu proteinlerin asimetrik kalp gelişimini etkilediği ve ifadelerinin baskılanmasının bazı kalp hasarlarına neden olduğu gösterilmiştir (Biben ve Harvey 1997; Noel ve ark., 2013; Tsuchihashi ve ark., 2011).

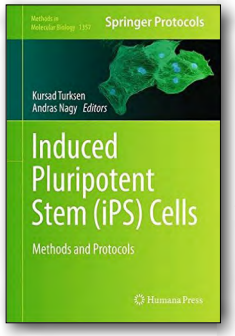
Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan istatistikler sonucunda, canlı doğumların % 1'inde farklı tiplerde kalp hasarı görüldüğü rapor edilmiştir (Hoffman ve Kaplan 2002). Yılda kırk bin doğuma karşılık gelen bu veriler göz önüne alındığında, embriyonik gelişim döneminde kalp kök hücrelerinin kaderini belirleyen faktörlerin keşfi oldukça önem arz etmekte. Bununla birlikte yapılan araştırmalar, kalp hasarlarına kök hücre tedavisi uygulamaya yönelik çalışmalara da farklı bir bakış açısı kazandıracaktır.



***Şekil 3**. Pitx2'nin aşırı ifadesinin kalbin asimetrik gelişimi üzerine etkisi. (D) Yabanıl tip tavuk embriyosunda kalbin sağ tarafa doğru bükülerek asimetrik gelişmesi. (E) Pitx2 ifadesinin artırılması sonucunda kalbin ortada ya da (F) sol tarafa bükülerek gelişmesi. (Ryan ve ark. 1998'ten alınmıştır*

YENİ ÇIKAN KİTAPLAR

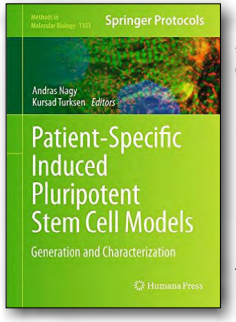
Induced Pluripotent Stem (iPS) Cells. Methods and Protocols



Editörler: Kursad Turksen, Andras Nagy
Aralık 2015, Springer, Methods in Molecular Biology Serisi

Kök hücre biyolojisinin farklanma ve köklülük kavramları çerçevesinde ele alındığı bu kitap *Methods in Molecular Biology* Serisinden yayınlandı. Bu sayıda uyarılmış pluripotent kök hücre alanında önemli ve gerekli protokollerin bir araya getirilmesi amaçlanmış. Her bir bölüm başlığa dair kısa bir tanıtımın ardından, gerekli materyal ve kimyasalların bir listesi, adım adım ve tekrarlanabilen laboratuvar uygulamaları ve sık yapılan yanlışlara dair uyarılarla devam ediyor. "*Induced Pluripotent Stem (iPS) Cells: Methods and Protocols* " iPS alanında daha ileriyi hedefleyen tüm bilim adamları için kusursuz bir referans.

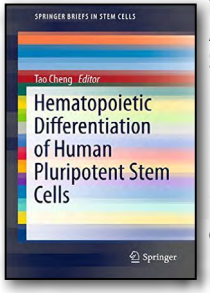
Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cell Models. Generation and Characterization



Editörler: Kursad Turksen, Andras Nagy
Ocak 2016, Springer, Methods in Molecular Biology Serisi

Bu kitapta pek çok hastalığın anlaşılmasına ve bu hastalıklara yönelik yeni ilaç tedavilerinin ve görüntüleme teknolojilerinin geliştirilmesine olanak sağlayan indüklenmiş potent kök hücrelere (iPS) ilişkin son gelişmeler özetlenmiş. Tüm dünyadan laboratuvarlarda farklı hastalık modellerinde uygulanan örnek protokollerin yer verildiği kitap, sektörün en başarılı dergilerinden *Methods in Molecular Biology* Serisinden yayınlanmış. "*Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cell Models: Generation and Characterization*" iPS alanında daha ileriyi hedefleyen tüm bilim adamları için kusursuz bir referans.

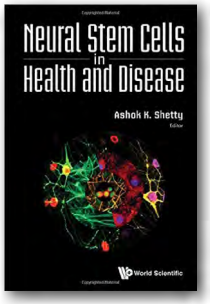
Hematopoietic Differentiation of Human Stem Cells



Yazar: Tao Cheng
Ağustos 2015, SpringerBriefs in Stem Cells Serisi

Pluripotent kök hücreler hızla büyüyen ve multidisipliner bir topluluk tarafından yoğun ilgiyle karşılandı. Farklı alanlardan bilim adamları bu hücrelerin elde edilmesi ve farklı hücre hatlarına dönüştürülmesi konusunda yoğun bir faaliyet içerisinde. Bu kitapta dünyanın farklı laboratuvarlarından pluripotent kök hücrelerin hematopoetik hücre hatlarına farklandırıldığı protokoller derlenmiş. Doğrudan farklandırma yöntemleri bu hücrelerin translasyonel uygulamaları açısından da büyük umut vadediyor. Bu nedenle kitap hematoloji ve kök hücre biyolojisi alanında çalışan her düzeyden bilim adamını yanı sıra, rejeneratif tıp alanında faaliyet gösteren doktorları da yakından ilgilendiriyor.

Neural Stem Cells in Health and Disease



Yazar: Ashok K. Shetty
World Scientific Publishing Co; 1. Baskı, Kasım 2015.

Bu kitapta nöral kök hücre davranışları sağlıklı ve hasta bireylerde olmak üzere iki başlık altında inceleniyor. Nörodejeneratif hastalıklarda endojen nöral kök hücre davranışlarının değişimi ve nöral kök hücre tedavilerinin bu değişimlere etkileri farklı bakış açılarıyla değerlendiriliyor. Günümüzde, insan da dahil pek çok erişkin memelide nöral kök hücrelerin ve nörogenezin varlığı biliniyor. Nöral kök hücrelerin davranış mekanizmaları, nörogenezin normal, yaşlı ve hasta bireylerde farklı işleyişleri, nöral kök hücrelerin ve nörogenezin alkol, ilaçlar ve anestezi gibi dış etkenlere yanıtı gibi temel ilkelerin ele alındığı bu kitap, bu alanda ilk ve en önemli kaynaklardan. Kitabın ikinci bölümündeyse nöral ve/veya farklı kök hücre tedavilerinin Parkinson hastalığı, Alzheimer ve omurilik yaralanmalarında etkinliği tartışılıyor. Son bölümde ise nöral kök hücrelerin insan pluripotent kök hücrelerine dönüşüm kapasitesi ve bu hücrelerin transplantasyon için uygunluğu ele alınıyor.

Derleyen: Duru Aras

KONGRE, SEMPOZYUM ve KURSLAR

13. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi
29 Nisan-3 Mayıs, Çeşme-İzmir

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

1. Kök Hücre ve Biyoetik Sempozyumu
13 Mayıs 2016, Muğla

TÜBA-Hematolojik Onkolojide İnovativ Hücresel Tedaviler Kursu
19-22 Mayıs 2016, Antalya

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

12th International Congress on Stem Cell Biology and Technology & 17th International Congress on Reproductive Biomedicine
31 Ağustos-2 Eylül 2016, Tahran-İran

4th Annual Conference of the German Stem Cell Network (GSCN)
12-14 Eylül 2016, Hanover-Almanya

From Stem Cells to Human Development
25-28 Eylül 2016, Southbridge, MA-A.B.D.

Sizlerden Gelen...

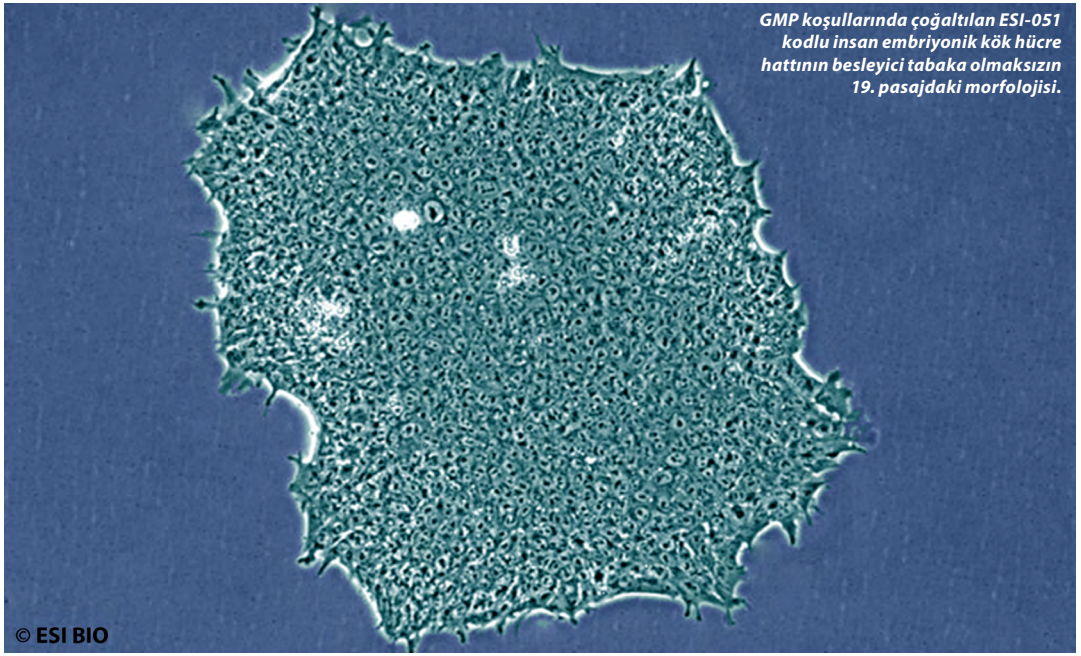
Alp Hocam; ben tıp camiasından değilim. Mesleğim gereği sayılarla uğraşıyorum. Ama yine de yayınlamış olduğunuz Kök Hücre Bülteni'ni zevkle takip ediyorum. Yenilikleri bizlere o kadar yalın ve anlaşılır bir dilde aktarıyorsunuz ki sabırsızlıkla gelecek bülteni bekler oluyoruz. Bizler için çok anlamlı. Emeği geçen tüm araştırmacılara en çok da size teşekkür ederim. ***Sevim Şengün***

Sayın Editör,
'Kongreler Azalmalı mı?' yazınız hiç eskimeyen 'Kral Çıplak' öyküsüne rahmet okutacak cinsten. Tebrik ederim. Çözüm basit. Kongre düzenleyenler, başta davet edilen konuşmacılar olmak üzere katılımcıların seyahat ve konaklama masraflarını kendilerinin karşılamak zorunda olduklarını belirtirlerse bu sefahat bıçak gibi kesilir. Deneyin. ***Murat Ertürk***

Merhabalar. ben her iki ayda bir bültenin çıktısını alıp okuyorum ve çevremde ilgili olanlara veriyorum. ama sayfa yapısı yatay olduğu için ve bir sayfada 4 sütun olduğu için kitapçık şeklinde basamıyorum. acaba elinizde dikey haliyle var mı ya da bundan sonra o şekilde yayınlamanız da mümkün mü? başarılar diliyorum. ***Sadi Karaca***

Merhaba, 25 yıldır ankilozan spondilit hastasıyım. Bu hastalığı kök hücre ile tedavi çalışmaları yapan bir hastane veya klinik biliyormusunuz ? Bilgi vermenizi rica ederim. Saygılarımla. ***Yıldıray Kaya***

AYIN FOTOĞRAFI



GMP koşullarında çoğaltılan ESI-051 kodlu insan embriyonik kök hücre hattının besleyici tabaka olmaksızın 19. pasajdaki morfolojisi.

© ESI BIO