ISSN: 2148-9815

Kök Hücre E-Bülteni

Yaşam Bankası FamiCord Group destekleriyle...

www.kokhucrebulteni.com
info@kokhucrebulteni.com

Sayı: 21
Eylül-Ekim 2017

Editör'den

Alp Can

Yeni Çalışma Dönemine Merhaba!

KHB'nin 21. sayısıyla hepinize tekrar merhaba.

Her zaman olduğu gibi **KHB**'nin bu sayısında da son gelişmelere yer verdik. İlki literatürden kısa bir derleme. Ambrosi ve ark'nın çalışması obezitenin yaşlanmayla birlikte kemik iyileşmesinde ve kemik iliğindeki hematopoeze ilişkin olumsuz etkisi üzerine. İkinci olarak; doktora çalışmalarını geçici süreyle Harvard Üniversitesinde sürdüren **Bio. Nilay Kuşçu** çalışmakta olduğu erken embriyo metabolizması üzerine kısa bir derleme yazısını **KHB** okurları için kaleme aldı. Bu konunun önümüzdeki yıllarda çok ses getireceğine kuşku yok. Daha sonra **Prof.Dr. Özgür Çınar** ilerleyen anne yaşına koşut olarak fertilizasyon oranlarının düşmesi ve başta anöploidiler olmak üzere çeşitli kromozom anomalileri olasılığının giderek artmasını, ilerleyen anne yaşına paralel olarak mayoz dinamiğini bozan faktörleri ve bu dinamiğin nasıl bozulduğunu sorgulayan bir çalışmayı özetledi. Ardından **Doç.Dr. Hatice Uludağ Altun** ve **Dr. Füsun Soytaş** otizm tanısı almış iki hastaya kordon kanı kök hücrelerinin verilmesiyle ilgili yazıları yer alıyor. **Bio İrem İnanç** önceki sayılarda olduğu gibi bu kez de çipte organ teknolojilerine kısa bir bakış sunuyor bizlere. İn vitro koşullarda nefes alan akciğerden peristaltik hareket yapan bağırsağa kadar yeni modelleme sistemlerine yer veriyor yazısında. Son olarak KHB'nin 20. sayısında yer vermeye başladığımız Uluslararası Kök Hücre Araştırmaları Derneği (ISSCR)'ın 2016 yılında çıkardığı **Kök Hücre Araştırma ve Kliniğe Uyarlama Kılavuzu**'nu dilimize çeviren ekip kılavuzdan bazı bölümleri **KHB** okurlarına sunmaya devam ediyor. Her sayıda olduğu gibi **Kongre, Sempozyum ve Kurs** duyuruları ve **Ayın Fotoğrafı** yer alıyor.

22. sayıda buluşuncaya kadar hoşça kalın...

Literatürden Seçmeler

Alp Can

Obezite ve Yaşlanmayla Artan Yağ Hücreleri Hematopoezi ve Kemik Yapımını Bozuyor!

Cell Stem Cell'in Haziran 2017 sayısında yayınlanan ve **Ambrosi ve ark.** tarafından kaleme alınan araştırma önemli gerçekleri ortaya koymakta [Cell Stem Cell 20: 771-784, 2017]. (**1**) Kemikte kök hücre benzeri hücreler adipojenik ve osteojenik seri hücrelere dönüşmekte; (**2**) Yaşlanma ve yüksek yağlı diyetle beslenme adipojenik seri hücrelerin sayısını artırmakta; (**3**) Multipotent hücreler adipojenik hücreleri uyararak hematopetik hücrelerin farklılaşmasını olumsuz yönde etkilemekte; (**4**) Adipojenik hücreler kemik kırıklarının onarımını engellemekte, bu mekanizmanın altında diabet tedavisinde hedef proteazlardan birisi olan **dipeptidil peptidaz-4 (DPP4)**'ün olduğu ileri sürülmekte.

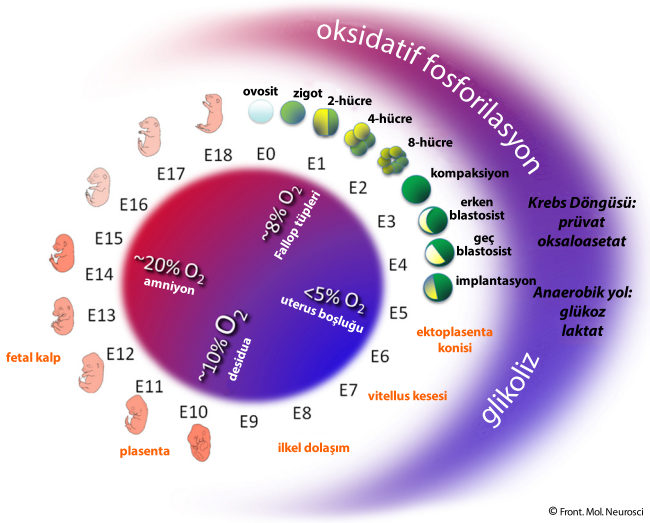
Alman, İngiliz ve Katarlı araştırmacılar farede yaptıkları çalışmalarında önce osteojenik yolağa farklılaşan ve aynı zamanda hematopoezi indükleyen bir multipotent kök hücre kümesi saptamışlar. Ancak yaşlanma ve yağlı beslenmenin mezenkimal seri hücrelerin programını değiştirdiğini ve bu hücrelerin öncelikle adipojenik yolağa farklılaştığını ve bu sayede hematopoezin ve kemik kırıklarının iyileşmesinin olumsuz etkilendiğini göstermişler. Buna neden olan negatif etkileri değerlendiren araştırmacılar yağdan zengin hâle gelen sarı kemik iliği adipositlerinin hücre zarından salgılanan DPP4'ün (CD26) bundan sorumlu olduğunu, DPP4'ün inhibitörü olan sitagliptin'in adipojenik farklılaşmayı etkilemediğini ancak osteojenik farklılaşmayı uyararak kemik iyileşmesini yeniden programladığını buldular.

Kök Hücre Biyolojisi

Nilay Kuşçu

İmplantasyon Öncesi Embriyonun Metabolizması ve Önemi

Gelişen in vitro fertilizasyon ve kültür koşulları, klinikte elde edilen başarılı sonuçların yanı sıra implantasyon öncesi embriyonun gelişim sürecinde yaşamsal önem taşıyan embriyo metabolizmasını anlamak için de önemli bir olanak sağlamakta. Embriyonun başarılı bir implantasyon öncesi dönem geçirmesi için embriyo; pronükleus oluşumunu, embriyonik genom aktivasyonunu, hücre bölünmelerini, kompaksiyonu, farklılaşma ve blastosöl oluşum süreçlerini içeren bir dizi karmaşık olayı tamamlamayabilmelidir. Bu süreçlerin başarıyla tamamlanabilmesi ise, yeterli enerji üretiminin ve dağılımının gerçekleşmesiyle mümkün olmakta. Yani embriyoların gelişim potansiyelini belirleyen en önemli faktörlerden biri ATP (adenozin trifosfat) şeklinde üretilen enerji kaynağının doğru zamanda ve doğru yerde var olmasıdır. Metabolik çalışmaların ortaya koyduğu sonuçlar doğrultusunda; fertilize olan ovositten 8 hücreli embriyo aşamasına kadar olan embriyolar enerji kaynağı olarak pürivatı kullanmakta. Glikozun kullanımıysa 8 hücreli dönemden blastosist aşamasına kadar kademeli olarak artmakta ve enerji üretimine glikolitik yolak da dahil olmakla birlikte baskın olarak enerji üretiminin kaynağı haline gelmektedir. Buna ek olarak, blastosöl oluşmadan morula aşamasında gerçekleşen ilk hücresel farklılaşmayla ortaya çıkan iç hücre kitlesi (İHK) ve trofoektoderm (TE) hücrelerinin metabolizmalarının bile birbirinden farklı olduğu bilinmekte. Bu aşamada; İHK ve bu hücrelerin in vitro türevi olan embriyonik kök hücrelerin yüksek çoğalma potansiyele sahip oldukları ve aerobik glikolizi enerji kaynağı olarak kullandıkları, TE hücrelerininse daha fazla enerji gereksinimi nedeniyle glikozu metabolize etmek için oksidatif fosforilasyon yolunu kullandığı ve İHK'ne oranla daha fazla oksijen tükettiği gösterilmiş durumda. İmplantasyon öncesindeki embriyolarda meydana gelen metabolik değişimin altında yatan nedenlerden biri; glikoz taşıyıcısı proteinlerinin (GLUT) insan ve farenin embriyonik gelişiminde değişen ekspresyon ve lokalizasyonlarına bağlı olarak ortamdaki glikozu ileri aşamalarda metabolize edebilmeleridir. Ayrıca embriyonik genom aktivasyonun kendisinin de, pürivattan glikoz kullanımına geçmeye çalıştığı bilinmekte.



İmplantasyon öncesi dönemin erken aşamalarında enerji üretiminin tek kaynağı pürivat; yani anne kaynaklı olan mitokondriyonlardır; bundan dolayı mitokondria embriyo gelişimde oldukça önem kazanır [Reproduction 137: 619-624; 2009]. Son yıllarda yapılan pek çok çalışmayla da ovosit ve embriyo hücrelerinde mitokondriyon dağılımının, yapısının ve hatta sayısının normal embriyo gelişiminde oldukça önemli bir payı olduğu vurgulanmakta. Her bir mitokondriyon içerisinde mtDNA'nın bir kopyasının bulunması; dolayısıyla hücredeki mitokondriyon yoğunluğunu ve beraberinde ovosit/embriyo metabolizmasını anlamak için mtDNA ile ilgi yapılan çalışmalar literatürde sıklıkla yer almakta.

Kültür koşullarındaki pek çok çevresel faktörün embriyonik gelişim potansiyelini doğrudan ya da dolaylı olarak etkilediği bilinmekte[Trends Endocrinol Metab 22: 412-420, 2011]. Sıcaklık, pH, oksijen konsantrasyonu gibi koşulların değişiminin, metabolik yolaklar ve mitokondriyon üzerine

olan etkileri bilindiğinden kültür ortamında in vivo koşullara en yakın olan koşulların sağlanması implantasyon öncesi embriyonun başarısı ve hatta ileri dönemde sağlıklı bireylerin gelişiminde oldukça önemli. Ancak dinamik bir gelişim sürecinde olan bu embriyoların bulunduğu kültür koşulları iç ya da dış faktörler sonucunda değişebilmekte. Buradan yola çıkarak fizyolojik ve fizyolojik olmayan koşullarda, embriyoların davranışlarını ve metabolik yanıtlarını açığa çıkarmak oldukça önem kazanmakta [Mol Reprod Dev, July 19 doi: 10.1002/mrd.22868, 2017]. Kliniklerde embriyo seçim kriteri olarak yaygın olarak kullanılmakta olan morfolojik değerlendirme parametrelerine ek olarak embriyo metabolizmasının açığa çıkarılmasının "en iyi" embriyoyu seçmede önemli bir ek bilgi sağlayacağı düşünülmekte. Literatürde embriyo mitokondriyonu aracılığıyla embriyo metabolizmasını anlamaya yönelik invazif tekniklerle yapılan çalışmalar bulunmakta. Ancak invazif yöntemlerin kendileri de embriyo için stres koşulları oluşturabildiği için embriyo metabolizmasını görüntülemek için invazif olmayan yöntemlere gereksinim duyulduğu bildirilmekte. Buradan yola çıkarak şu anda birlikte çalışmakta olduğum Harvard Üniversitesi'ndeki ekibimizle birlikte embriyo metabolizmasını invazif olmayan bir şekilde görüntüleyebileceğimiz ve farklı kültür koşullarda embriyoların metabolizma yanıtlarını anlamaya yönelik yaptığımız çalışmalarımız sürmekte. Buradan çıkacak bilgiler doğrultusunda çalışmamıza insan embriyolarıyla devam edilmesi ve çıkan bilgilerin bir modelleme yapılarak literatüre sunulması planlanmakta.

Literatürden Seçmeler

Özgür Çınar

İleri Anne Yaşı Neden Kromozom Anomalisi Riskini Artırır?

Çok iyi bilindiği gibi gametlerin (cinsiyet hücrelerinin), özellikle bunlardan ovositin, iki basamakta tamamlanan mayoz bölünme sürecinde kromozom ayrılmasını doğru olarak başarabiliyor olması sağlıklı bir embriyo oluşması için yaşamsal değer taşır. İlerleyen anne yaşına koşut olarak fertilizasyon oranlarının düşmesi ve ayrıca başta anöploidiler (kromozomların iki yavru hücreye eşit dağılmaması) olmak üzere çeşitli kromozom anomalileri olasılığının %15'lerden %50'lere doğru giderek artması, ilerleyen anne yaşına paralel olarak mayoz dinamiğini bozan faktörleri ve bu dinamiğin nasıl bozulduğunu sorgulatmaktadır.

KHB'nin bu sayısında sizlere tanıtmak istediğim bir çalışmada tam da bu konu ele alındı. Çalışma "Anne yaşına-bağlı olarak securin'deki APC/C-aracılı azalma mayoz-II'de kardeş kromatidlerin erken ayrılmasına neden olur (*Maternal age-dependent APC/C-mediated decrease in securin causes premature sister chromatid separation in meiosis II*)" başlığı ile Nabti I, Carroll J ve ark. tarafından Nature Communications'ın Mayıs 2017 sayısında yayınlandı.

Anöploidilerin temelinde birinci mayoz bölünmenin (MI) olduğu düşünülmektedir. Fötal dönemde MI aşamasına gelen ovositler, ovülasyon sürecine kadar bu aşamada beklemekte, LH artışıyla birlikte mayozun geri kalan aşamalarında ilerleyip ikinci mayoz aşamaya (MII) gelip bölünmeyi tamamlamak üzere fertilizasyon sürecini beklemektedirler. Bu sürecin doğru işlemesinde, kromozomların birbirlerinden ayrılması için "separase (bölücü, ayrıştırıcı)" adlı bir enzim önemlidir. Bir proteaz olan separase, kardeş kromatidleri bir arada tutan "cohesin" halkasının yıkılmasını sağlar. Separase, securin adı verilen bir inhibitörü tarafından baskılanmakta olup böylece sadece zamanı geldiğinde işlevini yerine getirmektedir. Mayozun ilerlemesiyle securin'in, anafaz başlatıcı kompleks/cyclosome (APC/C) aracılı yıkımı sonrasında separase baskılanması ortadan kalkarak kardeş kromatidlerin birbirinden ayrılma süreci başlamaktadır. MI'den çıkarken APC/C tarafından securin yıkımının çok sıkı kontrol edilmesi, MII aşaması için de bir miktar securin saklanmasının gerekliliği çok önemlidir, çünkü saklanan securin, separase'ı baskılayacak ve fertilizasyona kadar MII'nin ilerlemesini engelleyecektir.

Önemli bir diğer protein olan cohesin'in yaşlanmaya duyarlı olduğu ve farelerde ileri ovosit yaşının cohesin düzeylerinde azalmayla gittiği daha önceki çalışmalarda gösterilmişti. Bu azalmanın anne yaşlanmasında anöploidinin artmasının nedeni olduğu düşünülmekte ancak bu sürecin nasıl işlediği soru işareti olarak durmaktadır. Cohesin, fötal yaşamda ovositler mayoza girerken, kromozomlarına yüklenmekte ve bundan sonra kaybı olsa bile yeniden yüklenme gerçekleşememektedir. Dolayısıyla yaşlanmaya bağlı olarak çeşitli etkilerden dolayı cohesin kaybı MI aşamasında chiasmata'da (homolog kromozomların crossing-over bölümleri) bozulmaya neden olmaktadır.

Adı geçen çalışmada yaşlı MF1 fareleri kullanılmış ve 1 aylık (genç) farelerden elde edilen ovositler, 1 yaşından büyük (yaşlı) farelerden elde edilenlerle karşılaştırılmıştır. Yaşlı MII ovositlerin %45'inde kromozom düzenlenme bozukluğu izlenirken gençlerde bu oranın %15 olduğu, kardeş kinetokorlar arasındaki uzaklığın yaşlılarda gençlerden iki kat daha fazla olduğu ve erken kardeş kromatid ayrılmasınınsa yaşlılarda (%63) gençlerden (%8) fazla olduğunu saptanmıştır. Bu bulgular yaşlanmanın MII ovositlerin kromozom yapısını olumsuz etkilediğini göstermekte. Yaşlı hayvanların MII ovositlerinde securin düzeyleri gençlerden anlamlı derecede azken; ilginç bir şekilde MII öncesi aşamalar olan GV ve MI'de genç ve yaşlıların securin düzeyleri arasında farkın olmaması yaşlılarda MI-MII geçişinde securin kararsızlığının olduğunu düşündürmüştür.

Bu bulgulara ek olarak, araştırmacılar, yaşlı ovositlerde MI-MII geçişinde securin azalmasının nedeni olabileceğini düşündükleri SAC (*spindle assembly checkpoint*, mekik düzenlenim kontrol noktası) ve SAC-APC/C aksını ele aldıklarında; APC/C'nin MI'den çıkışta securin yıkımına aracılık ettiğini, genç ovositlerde SAC kinaz olan Mps1'in baskılanmasının yaşlı ovositlere benzer şekilde, securin düzeylerini azalttığını, securin ya da Mps1'in aşırı ifadelenmesinin ise yaşa bağlı kardeş kinetokorlar arası uzaklık ve erken kardeş kromatid ayrılmasını engellediğini gözlemlemişlerdir. Yazarlar, tüm bu bulgular ışığında; yaşlanmada ortaya çıkan kromozom düzensizliklerinde securin düzeylerinin ve SAC-APC/C aksının önemli olduğunu ve annenin yaşlanması nedeniyle görülen anöploidiler için olası tedavi yaklaşımları için bunun değerlendirilmesinin önemini vurgulamışlardır.

Değerlendirilen Parametre	Genç Ovosit (1 aylık fare)	Yaşlı Ovosit (>1 yaş fare)
Kromozom düzenlenme bozukluğu (MII ovosit)	%15	%45
Kardeş kinetokorlar arasındaki uzaklık (MII ovosit)	-	Gençlerden 2 kat fazla
Kardeş kromatidlerin erken ayrılması (MII ovosit)	%8	%63
MII ovositlerinde securin düzeyi	-	Gençlerden %48 az
GV ve MI ovositlerde securin düzeyi	-	Gençlerle aynı
MI-MII geçişinde securin-GFP yıkımı	-	Gençlerden fazla
Kinetokor BubR1 (SAC bileşeni)	-	Gençlerden %39 az

Kısaca özetlemeye çalıştığım bu güzel araştırmanın tamamına https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5454377/pdf/ncomms15346.pdf adresinden ücretsiz ulaşmanız mümkün.

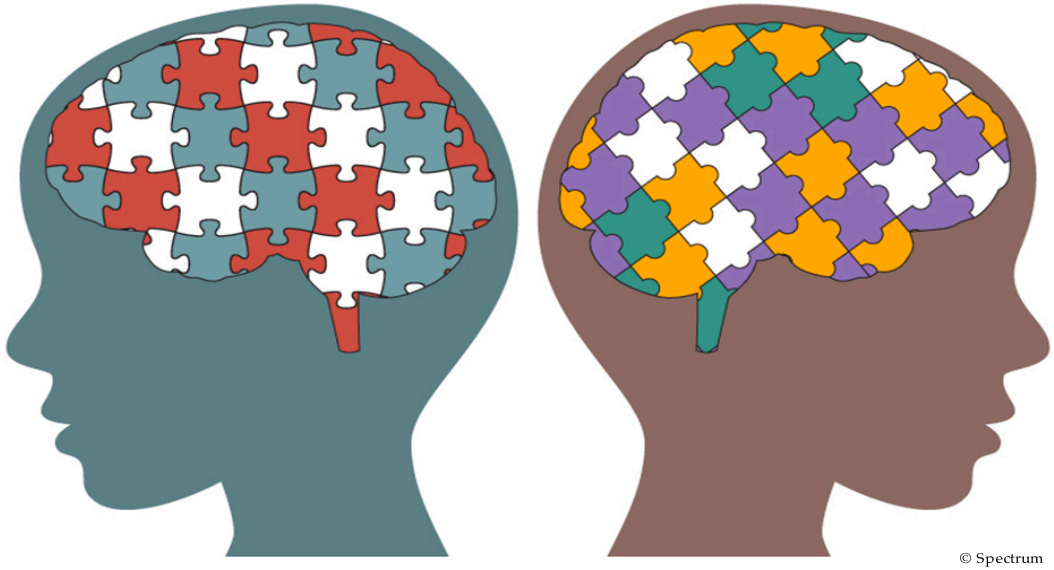
Hücresel Tedavi ve Rejeneratif Tıp

Hatice Uludağ Altun, Füsun Öner Soytaş

Otizmde Kök Hücre Tedavisi!

Otizm, sosyal beceriler, tekrarlayan davranışlar, konuşma ve sözsüz iletişimde karşılaşılan güçlüklerle, aynı zamanda eşsiz güç ve farklılıklarla tanımlanan bir durumdur. Otizmin görülme oranının erkek çocuklarda kızlara oranla beş kat daha fazla olduğu bildirilmektedir. **Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi** (CDC)'nin verilerine göre ABD'de 68 çocuğun 1'ine otizm tanısı konmaktadır. Ülkemizde **Tohum Otizm Vakfı**nın 2015 verilerinin aynı yaştaki TUİK nüfusuna oranı %1,5'tir. Günümüzde otizm tanısı alan çocukların sayısı, diyabet, kanser ve AIDS teşhisi alan çocukların toplamından bile daha fazladır. Otizm spektrum bozukluğu iyileştirilemeyen fakat eğitimsel ve tıbbi girişimlerle yönetilebilen bir süreç olarak bilinmektedir.

Otizmin oluşma nedenleri arasında; genetik ve çevresel faktörler gösterilmektedir. Bunlar arasında; metabolik hastalıklar, antibiyotik kullanılmasının artması, tüketilen sebze ve meyvelerdeki vitamin ve mineral içeriğinin düşmesi, Omega-3 tüketiminin azalması, probiyotiklerden zengin gıdaların tüketiminin azalması, rafine gıdaların aşırı tüketilmesi, sezaryen doğumların aşırı artması, D vitamini alımının yetersizliği, radyasyon, elektromanyetik dalgalar, hava kirliliği, ilaç ve toksinlere fazla maruz kalınma, ciddi tartışmalara yol açan metal içeren aşıların veya metal içermeyen ama çok sayıda canlı virüsün bir arada bulunduğu aşıların (Kızamık-Kızamıkçık-Kabakulak, MMR) kullanılmasındaki artış gibi faktörler yer almaktadır. Günümüzde hala



© Spectrum

gizemini koruyan bu sağlık sorununun tedavisinde çeşitli yöntemler kullanılabilmektedir. Her bireydeki tedavi planı, zorluklarının yanı sıra onlardaki güçlü yönlerin de kapsamlı olarak değerlendirmesini takip eden bir süreci kapsamaktadır.

Otizm tedavisinde denenen yeni yöntemlerden biri de kök hücre tedavisidir. Otizmde en sık saptanan patolojiler, merkezi sinir sisteminin bozulmuş dolaşımı, beyin hipoperfüzyonu ve beyinde oluşan nöroinflamasyona bağlı zayıflayan bağışıklık sistemidir. Kordon kanının otizmde kullanım amaçları arasında; sinir yollarındaki yeniden yapılanma (*remodeling*), endojen onarımın desteklenmesi, doku perfüzyonun artırılması ve neovaskülarizasyonun sağlanması yer almaktadır. Kordon kanındaki $CD34^+$ hücrelerinin, sadece periferik iskemide değil aynı zamanda serebral iskemi modellerinde de pozitif etkilerinin güçlü olduğu ve anjiyojenik uyarıcılar olduğu bilinmektedir [J Trans Med 5: 30, 2007].

Otizmde beyindeki inflamatuvar süreci etkileyerek oluşacak semptomları hafifletebileceği hipoteziyle yapılan çalışmalar mevcuttur. Otuz yedi otizm olgusunda, kordon kanı ve bundan elde edilen mezenkimal hücrelerin ayrı ayrı ve kombine olarak tedavi amaçlı verildiği bir çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmada, kordon kanı ve mezenkimal hücrelerin kombine olarak intravenöz infüzyonla verildiğinde tek başına verilmelerine göre olguların semptomlarında belirgin düzelme görüldüğü belirtilmiştir [J Trans Med 11: 196, 2013]. Duke Üniversitesi tarafından yapılan başka bir çalışmada da, yaşları ortalama 4,6 (2,26-5,97) olan 25 otizm tanısı alan çocukta, otolog kordon kanından elde edilen hücreler kullanarak tek bir intravenöz infüzyonun yapıldığı faz 1 çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada intavenöz infüzyon öncesi ve sonrası 6. ay ve 12. aylarda çocuklardaki davranışsal ve fonksiyonel özellikler incelenmeye alınmıştır. Uygulama sonrası, davranışsal iyileşmelerin ilk 6 ay içinde gözlemlendiği, çocuklardaki sosyal uyarılara verilen yanıt, kendilerini ifade etme becerileri ve sözcük dağarcıklarında gelişme olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmanın, çocuklarda otolog kordon kanı infüzyonunun etkinliğinin belirleneceği gelecekteki çalışmalara temel oluşturacağı belirtilmiştir [Stem Cells Trans Med 6: 1332-9, 2017].

Yaşam Kordon Kanı Bankasının bağlı bulunduğu **FamiCord Group** bünyesinde otizm tanısı almış olan 2 hastaya kordon kanı nakli yapılmış, 3-24 yaş aralığındaki 41 hastaya da kordon dokusu mezenkimal kök hücre nakli yapılmıştır. Bu nakiller 2014-2017 yılları arası uygulanmıştır. Yine ülkemizden yakın bir dönemde bir otizmli çocuğumuz Yaşam Bankası aracılığı ile FamiCord Group'un desteği ile Wroclaw-Polonya'daki tedavi merkezine yönlendirilmiş olup kök hücre tedavisi halen devam etmektedir. Yapılmış ve gelecekteki yapılacak daha kapsamlı çalışmalar, doğum sonrasında saklanan kordon kanı ve dokusunun otizm başta olmak üzere tedavisi henüz belirli olmayan birçok hastalıkta etkili olabileceğini düşündürmektedir.

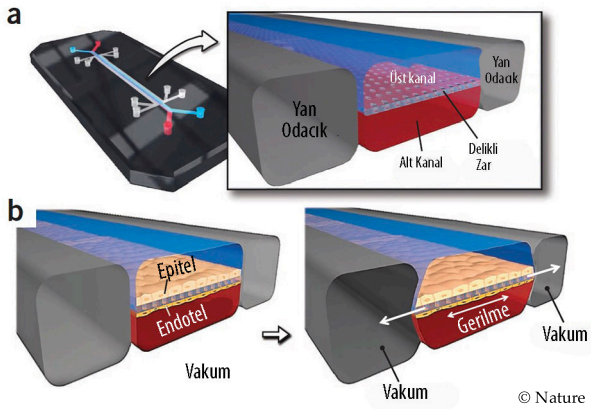
Doku Mühendisliği

İrem İnanç

Çipte Organ Teknolojisi!

İn vitro koşullarda nefes alan akciğerden peristaltik hareket yapan bağırsağa kadar yeni modelleme sistemi…

2010 yılında **Dr. Donald Ingber ve ekibi** tarafından Science dergisinde yayınlanan çalışma gerek in vitro koşullarda organ modelleme sistemlerine gerekse ilaç geliştirme sektörüne çok farklı bir boyut getirdi [Science 328: 1662-1668, 2010]. Araştırmacılar mikro mühendislikle oluşturulmuş, polimer ya da camdan oluşan mikro akışkan kanallar içeren ve içlerinde "yaşayan" insan hücrelerinin bulunduğu biyo taklit edici sistemler geliştirerek yaklaşık bir harici bellek boyutundaki bu mikro araçlara 'çipte organ' adını verdiler [Nature Protocols 11: 2135-2157, 2013]. Çalışmayı bir cümlede özetlemek elbette mümkün değil. Dolayısıyla hem bu çalışmaya hem de bu konuyla ilgili yapılan başka çalışmalara değinmeye çalışacağım. Bunu yaparken "çipte organ" terimini Türkçeye naçizane daha uygun olduğunu düşündüğüm şekliyle bundan sonra "yongada organ" olarak ifade edeceğim.



© Nature

***Şekil 1** a) Yongada insan akciğeri mikro aracın enine kesiti. Üst kanal (mavi), alt kanaldan (kırmızı) elastik delikli bir zarla ayrılmıştır. b) Üst kanal akciğer epitel hücreleriyle, alt kanal endotelle döşelidir. Nefes alma eylemi vakumla sağlanmaktadır.*

Peki, gerçekten bilimin ve insanlığın yongada organlara ihtiyacı var mı? Bunlar nasıl araçlar ve nerelerde kullanılabilirler? Neden ve nasıl sorularının yanıtlarını arayan bilim insanları hücrelerin nasıl etkileşimler kurarak organlar oluşturduklarını anlamak adına hücre-doku çalışmaları yapmakta. Bunu yaparken normalde in vivo ortamdaki hücreleri, in vitro koşullar altında geliştirip oluşturdukları yapılardan birçok sorunun yanıtını aramakta. Ancak geleneksel iki boyutlu hücre kültürü modelleri in vivo mikroçevreyi taklit etmede yetersiz kalıyor. Son yıllarda oldukça önem kazanan üç boyutlu kültür ortamları hücre dışı matriks ortamlarında geliştiriliyor. Bu teknikle hücrelerin farklılaşma ve doku düzenlenimine geçişi daha iyi gözlemlenebiliyor. Ancak jel temelli kültür sistemlerinde dahi fizyolojik olarak maddelerin difüzyonuyla ilgili sorunlara kalıcı çözümler henüz getirebilmiş değil. Bunlara örnek olarak böbrekte iyon taşınımı ya da karaciğerde safra akışı gibi süreçleri verebiliriz [Trends in Cell Biology 21: 745-754, 2011]. Dolayısıyla iki ve üç boyutlu kültür ortamlarındaki bu eksiklikler zaman ve para kaybına sebep olmakta. Bu sebeple in vivo ortamı mevcut sistemlerden daha iyi taklit edebilecek in vitro sistemleri geliştirmek oldukça önemli. Tüm bunların yanında, bir hastalığı tedavi edebilmek amacıyla ilaç geliştirmek için yola çıkıldığında, çok yüklü miktarlarda (milyon dolarlardan söz ediliyor) paranın harcanıp araştırmaların çok uzun yıllar sürdüğü ifade edilmekte. Ayrıca tüm bu emek ve çaba deney hayvanları üzerinde denendiğinden her zaman insanlar için uygun ilaç üretilemiyor. Dolayısıyla tüm eksiklikleri giderebilmek ve mevcut sistemlerden çok daha iyi model sistem oluşturabilmek adına Dr. Donald Ingber ve ark. yongada akciğer geliştirmeyi başarabildiler. Peki nasıl? Nefes aldığımızda akciğerlerimiz hava dolar, alveol epiteli gerilir. Oldukça basit şekilde her gün defalarca yaptığımız bir eylemi in vitro koşullarda modellemeye çalıştığımızda maalesef işler bu kadar kolay gitmiyor. Öncelikle akciğer, kan damarlarından oldukça zengin bir ortam. Bir Petri kabında akciğeri modelleyip kan damarlarıyla iletişimini doğru bir şekilde sağlayabilmek çok kolay değil. Bunun yanında Petri kabında nefes almayı taklit edecek bir ortam nasıl oluşturulabilir? Dr. Ingber ve ark. nefes alan bir insan fizyolojisinden esinlenerek bir aygıt tasarladılar. Mikro sistemlerle ilgili önceki yıllarda yapılan çalışmalarda uygun kültür medyumu, hücre dışı matriks kaplaması ve akış koşullarıyla hücrelerin canlılığını bu mikro akışkan sistemlerde sürdürebildiği saptanmış durumda.

Son yıllarda mikromühendislikte meydan gelen ilerlemeyle bu sistemler çok daha gelişmiş yapılar halini almış. Ingber ve ark.'nın yaptığı çalışmada bir akciğerin işlevsel birimi alan alveol-endotel arayüzü yongada akciğerle modellenmiş. 400 µm genişliğinde ve 100 µm yüksekliğinde iki paralel mikro kanal; ince, porlu ve esnek bir membranla ayrılmış. Bu membran hücre dışı matriksle kaplanmış. Membranın karşılıklı yüzlerinde insan alveol epiteli hücreleri ve insan akciğeri vasküler endotel hücreleri kültüre edilmiştir. Alveol epitel hücreleri olan kanal havayla, endotel hücreleri olan kanalsa sıvıyla doldurularak kan akımı taklit edilmiş. Mikro kanalların her iki yanına mikro bölmeler oluşturulup belirli aralıklarla vakumlama sayesinde "nefes alan" bir yonga oluşturabilmişler. Daha sonra bu mikro sistemin inflamasyon gibi karmaşık süreçlere nasıl yanıtlar verdiğini ölçebilmek için alveol hücrelerinin bulunduğu mikro kanala tümör nekroz faktör α içeren kültür ortamı eklendiğinde, endotelde 1 ila 5 saat içinde ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*) ifadesinin arttığı gözlenmiş. Bakteri kaynaklı akciğer enfeksiyonu için alveol mikrokanalına yeşil flüoresan protein içeren *Escherichia coli* eklendiğinde nötrofillerin alveol mikrokanalına göç ettiği ve doğrudan bakteriyi fagositoz etmeye yöneldiği ve bu işlevi bakterilerin çoğu ortadan kalkıncaya kadar sürdürdüğü gözlenmiş. Nanotaneciklerin etkilerinin incelendiği deneyde, nanotaneciklerin akciğer alveol epitelinde inflamasyon öncesi sitokinlerin sentezine, endotelde ise ICAM-1'in sentezine neden olduğu belirtilip nefes alma eyleminin akut akciğer inflamasyonuna katkı yaptığı özellikle vurgulanmakta.

Peki biyotaklit edici özelliği oldukça gelişkin olduğu ispatlanmış bu mikrosistemler insan hastalıklarını modellemede kullanılabilir mi? Elbette! İn vivo koşullarda interlökin-2' nin (IL-2) akciğer ödemi yaptığını bilen Dr. Ingber ve ekibi, 2012 yılında yongada akciğer sistemlerine uygulayarak fizyolojik koşullardakine benzer yanıtlar oluşturup akciğer ödemini gözlemlemişler. Bununla kalmayıp yeni bir farmokolojik ajan, ödem oluşturulan yongalar üzerinde denendiğinde IL-2'nin neden olduğu vasküler sızıntının, belirli iyon kanallarının bu ajan sayesinde kapanarak engellendiği belirtilmiş [Sci Transl Med. 4: 159ra147, 2012]. Bu da bize bu mikrosistemler üzerinde hastalıklar modellenebildiği taktirde ilaçların etkileri, fayda ve zararlarının ölçülebileceğini göstermekte. Yongada organ stratejisi, diğer organlar üzerinde de denenmiş. Dr. Ingber ve ekibi insan bağırsağını bu mikro sistemler üzerinde modellemiş. Tıpkı nefes alan akciğer gibi, bağırsakta da fizyolojik koşullara uygun olmasını sağlamak için peristaltik hareketler taklit edilmiş. Yapılan çalışmada bağırsak epitel hücreleri faydalı bağırsak mikroplarıyla birlikte kültüre edildiğinde, peristaltik hareketlerin ve sıvı akışının da katkılarıyla hücrelerin farklılaştığı ve üç boyutlu bağırsak villus oluşumu izlenmiş [Lab Chip 12: 2165-2174, 2012; Integr Biol 5: 1130-1140, 2013]. Örnekleri arttırmak mümkün. Gözün açılıp kapanmasını taklit eden yongada göz, kalbin fizyolojik işlevlerinden yola çıkılarak oluşturulan kalp atımlarının izlendiği yongada kalp, yongada karaciğer, yongada kan beyin bariyeri, yongada deri, gibi birçok organ modellenmiş ve etkinliği çok önemli dergilerde yayınlanarak ispat edilmiş. Tüm bunlar nasıl bir fayda sağlayabilir? Bu mikrosistemler sayesinde deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalar azalabilir, zaman ve para kaybının önüne geçilip çok daha hızlı bir şekilde ilaç geliştirme teknikleri geliştirilebilir ve kişiye özgü tedavi yöntemi uyarılmış pluripotent hücrelerle sağlanabilir. Peki tüm bu yongadaki organları bir mikro sistem içerisinde toplasak ve tek bir mikro sistemde çoklu organ etkinliğini inceleyebileceğimiz 'yongada insan' modellenebilir mi?

Bir sonraki sayıda görüşmek üzere….

Yönetsel Düzenlemeler (Mevzuat)

Alp Can, Açelya Yılmazer, Ferda T. Çelikkan, Ece Güngör

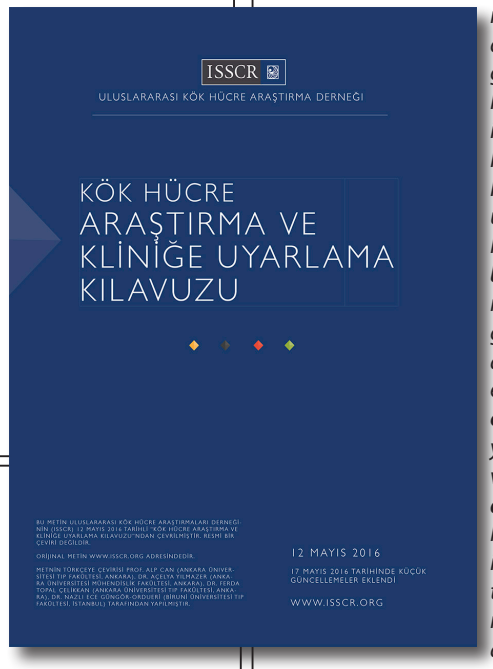
ISSCR-2016 Kılavuzu Türkçeye Çevrildi.

2. Bölüm

Uluslararası Kök Hücre Araştırma Derneği (ISSCR) Kök Hücre Araştırmalarının Yürütme İlkeleri (2006) ve Kök Hücrelerin Kliniğe Uyarlanması Kılavuzu'nun (2008) ardından 2016 yılının Mayıs ayında yeni kılavuzunu yayınlandı. 25 kişilik bir uzman grubu tarafından yayınlanan ve 37 sayfalık bu kapsamlı kılavuzu 5 aylık yoğun bir çalışmayla dilimize çevirdik. Bu kılavuz çok geniş bir kitle hedeflenerek hazırlanmış. Hücresel tedaviye ilişkin her türlü deneysel (klinik öncesi), kliniğe yönelik araştırmacı ve klinisyenin yanı sıra, yasa ve yönetmelik yapıcılar, fonlayıcı kurumlar, araştırmaları destekleyen kişi ve kurumlar, hastalar, hasta dernekleri, hücre sağlayıcılar, hücre ve tedarik malzemesi endüstrisinde çalışanlar ve son olarak medya bu kılavuzdan yararlanabilecek.

Kılavuzun bu bölümü şu konuları kapsamaktadır:
***a**. İnsan embriyonik kök hücrelerinin (iEKH) üretilmesi/türetilmesi.*
***b**. İnsan pluripotent kök hücrelerin bankalanması, dağıtımı ve klinik öncesi kullanımı.*
***c**. İnsan embriyolarının, gametlerin ve somatik hücrelerin kök hücre araştırmaları için temin edilmesi ve kök hücre üretimine gerek duymayan in vitro embriyo araştırmaları.*
***d**. İnsan kaynaklı totipotent ve pluripotent hücrelerin kullanıldığı ve deneyleri özel değerlendirmeyi gerektiren, aşağıda daha ayrıntılı olarak özetlenmiş olan in vitro hayvan modellemeleri.*

Bu bölümdeki kılavuzlar insan embriyo ve fetüsüne ait hücreler, fetüs dokusundan türetilen embriyonik germ hücreler i, insan embriyoları ve gametler üzerine çeşitli araştırmalara uygulanabilir. Bu insan biyomateryalleriyle temel araştırmalar yapan kişi ve kurumlar, aşağıda adı geçen kategorilere uygun olduğu sürece bu kuralları izlemelidir.



Gözetim

Öneri 2.1.1: Şunları içeren araştırmalar özelleşmiş insan embriyosu araştırması gözetimi (EMRO) işlemiyle bilimin benzersiz yönlerine ışık tutacak biçimde değerlendirilmeyi, onaylanmayı ve sürekli gözlemlenmeyi gerektirir; (a) insanın implantasyon öncesi aşamadaki gelişimi, insan embriyoları veya embriyodan türetilen hücreler veya (b) insan gametlerinin in vitro üretimi ve sonrasında bunların fertilizasyonla sınanması veya bunlardan oluşturulacak embriyolar. Somatik hücrelerden genetik veya kimyasal yollarla yeniden programlanarak insan pluripotent kök hücrelerinin (örneğin, uyarılmış pluripotent kök hücreler, uPKH) türetilmesi insanlar üzerinde değerlendirmeyi gerektirir; ancak söz konusu araştırmada insan embriyosu üretilmiyorsa veya aşağıda belirtildiği üzere insan totipotent veya pluripotent kök hücrelerinin kullanıldığı duyarlı araştırma yönleri içermiyorsa, özelleşmiş EMRO işlemi gerektirmez.

Araştırmaların İncelemesini ve Gözetimini Yapan Kurumların Yapısı

Öneri 2.1.2: EMRO süreci, değerlendirmeye alınan projede doğrudan yer almayan yetkin bilim insanlarından, etik uzmanlarından ve sivil toplum örgütlerindeki kişiler tarafından gerçekleştirilmelidir.

Uzmanlık alanlarının uygunluğunu, nesnelliğini ve sorumluluklarını değerlendirecek ve EMRO sürecini yürütecek olanların bileşimi için öneriler:

***a**. Değerlendirme aşamasındaki araştırmayla doğrudan ilişkisi olmayan, gereken uzmanlığa sahip, konuyla ilgili alandan bilim insanları ve/veya klinisyenler. Uzmanlık alanları kök hücre biyolojisi, yardımla üreme, gelişim biyolojisi ve klinik tıptır.*
***b**. Değerlendirme aşamasındaki araştırmanın gerekçesini ve olası etkilerini ahlaki yönde irdeleyebilecek etik uzmanları.*
***c**. Araştırmayla ilgili yerel yasal kuralları bilen üyeler veya danışmanlar.*
***d**. Araştırmanın yapılacağı kurumla parasal veya istihdam yönünden bağlantısı olmayan, ancak araştırmada yer alan ve kök hücre araştırmalarından fayda görebilecek gönüllülerin, hastaların, hasta derneklerinin görüşlerini ve gereksinimlerini ve topluluk standartlarını yeterince bilen sivil toplum örgütü ve dernek üyeleri.*

İnceleme Kategorileri

Öneri 2.1.3: Dünyadaki diğer araştırmacıların yaptıklarıyla bir tutarlılık oluşturmak amacıyla insan embriyoları ve embriyonik kök hücre araştırmalarının değerlendirmeden geçtiğinin teminat altına alınmasını sağlamak ve değerlendirmeye alınması gereken bilimsel projelerin yapısının ve gözetiminin tanımlanması için, söz konusu araştırmanın değerlendirilmesi ve denetiminde bu bölümde belirtilen üç değerlendirme kategorisi kullanılmalıdır.

2.1.3.1 Birinci Kategori. *Mevcut yasa ve/veya yönetmelikler çerçevesinde değerlendirildikten sonra izin verilen ve EMRO sürecinden muaf olmasına karar verilen araştırmalar. Birinci kategorideki araştırmalar şu etkinlikleri içerir:*
***a**. Bilinen insan embriyonik kök hücre dizileri üzerinde hücre kültürü, in vitro farklılaşma veya bağışıklık yetmezliği olan farelerde teratoma oluşturma gibi rutin ve standart araştırma yöntemlerinin kullanıldığı araştırmalar.*
***b**. İnsan somatik hücrelerinin yeniden programlanmasını içeren (örneğin uyarılmış pluripotent kök hücrelerin oluşturulması), ancak bunu yaparken embriyo veya totipotent hücre üretmeyen araştırmalar.*

2.1.3.2 İkinci Kategori. *Ancak EMRO süreciyle değerlendirmeye alınıp izin verilen araştırmalar. Kapsamlı bir değerlendirmenin yanı sıra araştırmaya katılacak gönüllüleri değerlendirecek olan kurul veya in vitro fertilizasyon (IVF) klinik denetleme kurulları tarafından sağlanacak bir gözetim gerekir. EMRO süreciyle kapsamlı şekilde değerlendirilmesi gereken araştırmalar şunları içermelidir:*
***a**. IVF'ten gelen embriyoların elde edilmesi ve kullanımı.*
***b**. Embriyo araştırması yapabilmek için insan gametlerinin elde edilmesi.*
***c**. İnsan gametlerini oluşturacak olan ve insan embriyosu elde etmek için fertilizasyonu gerektiren araştırmalar.*
***d**. İn vitro koşullarda embriyo elde etmek için insan embriyoları ve gametleri üzerindeki genetik manipülasyonu içeren araştırmalar.*
***e**. İnsan embriyolarından yeni pluripotent hücre dizileri türetmek.*
***f**. Embriyo ve fetüsün gelişimini sürdürebilme potansiyeli olan insan kaynaklı totipotent hücreler üretmeyi amaçlayan araştırmalar.*
***g**. Embriyoların in vitro kültürü üzerine veya deneysel olarak embriyo-benzeri yapıların insan organizmasını taklit etmesi üzerine yapılan; sağlam bilimsel gerekçelerle desteklenen, in vitro kültür süresini kısaltabilmeyi amaçlayan araştırmalar.*
***h**. Bir şekilde insan totipotent hücrelerinin veya pluripotent kök hücrelerin türetilmesi ve bunların embriyolarla karıştırılması yönündeki araştırmalar.*

Devamı 22. sayıda

2.1.3.3 Üçüncü Kategori. *Yasaklı araştırma etkinlikleri.*
Bu kategoride bulunan araştırmalar uluslararası geniş bir görüş birliğiyle henüz güçlü bir bilimsel gerekçesi oluşmamış olan, ciddi etik endişeler taşıyan ve/veya çoğu yerde yasa dışı kabul edilen deneylerdir ve şu anda yapılmamalıdır. Bu tür deneyler şunlardır;
***a**. Elde edildiği yönteme bakılmaksızın, insan organizmasını oluşturma potansiyeline sahip, implantasyon öncesi dönemdeki sağlam bir insan embriyosunun veya organize olmuş embriyo-benzeri hücresel yapıların 14 günden daha ileri döneme veya ilkel çizgi oluşum sürecine kadar (hangisi daha önce gelişiyorsa) in vitro ortamda kültür edilmesi.*
***b**. İnsan organizmasını oluşturma potansiyeline sahip bir insan embriyosunun veya organize hücresel yapıların uterus dışında veya her hangi bir hayvanın uterusunda oluşturulması.*
***c**. Somatik hücrelerin çekirdeğinin çekirdek nakliyle veya benzeri yöntemlerle yeniden programlanmasıyla oluşturulan insan embriyolarının insan veya hayvan uterusuna implante edilmesi üzerindeki araştırmalar. Mevcut bilimsel ve tıbbi güvenilirlik çekinceleri nedeniyle insanda üreme klonlaması yasaktır.*
***d**. Çekirdek genomu değiştirilerek oluşturulmuş insan embriyolarının insana veya hayvana implante edilmesi veya insan ya da hayvanda oluşturulması üzerindeki araştırmalar. Özellikle bu değişimlerin soya yansıması söz konusu ise, çekirdek DNA'sı mühendislik tekniklerleyle genomu değiştirilmiş ve/veya çekirdek DNA'sı değiştirilmiş gametlerden elde edilen insan embriyoları.*
***e**. İnsan gametlerini oluşturma potansiyeline sahip, insan hücreleriyle bütünleşen hayvan kimeralarının birbirleriyle birleştirilmesini konu alan araştırmalar.*

Titiz İnceleme Gerektiren Yeni Embriyo Araştırması Kategorileri

Öneri 2.1.4: ISSCR titiz bir EMRO işleminden geçen; gametlerde, zigotlarda ve/veya implantasyon öncesi insan embriyolarında çekirdek genomunun değiştirilmesine yönelik laboratuvar temelli araştırmaları desteklemektedir. Bu tür araştırmalar temel bilgileri geliştirirken genetik hastalıkların geçişini önlemeyi amaçlayan stratejilerde, çekirdek genomunun değiştirilmesi tekniğinin güvenliğine veya kullanımına ilişkin fikirlerin gelişmesine katkı sağlar. Bilimsel ve etik düzeyde yeterli berraklık oluşana kadar ISSCR, insanın üremesi amacıyla insan embriyolarında çekirdek genomunun değiştirilmesi yönündeki her türlü girişimin şu an için uygun bir aşamada olmadığını ve yasaklanması gerektiğini savunmaktadır.

KONGRE, SEMPOZYUM ve KURSLAR

Innovations on Cancer Research and Regenerative Medicine
10-13 Eylül 2017 - Ho Chi Minh City, Vietnam

5th Annual Conference of the German Stem Cell Network (GSCN)
11-13 Eylül 2017 - Jena, Almanya

2nd International Conference on Stem Cells
29 Eylül - 2 Ekim 2017 - Rodos, Yunanistan

Normal and Cancer Stem Cells: Discovery, Diagnosis and Therapy
5-6 Ekim 2017 - Kiev, Ukrayna

6th Annual International Symposium of Regenerative Rehabilitation
1-3 Kasım 2017 - Pittsburgh, PA, A.B.D.

43. Ulusal Hematoloji Kongresi
1-4 Kasım 2017, Antalya

CiRA: A Decade of Human iPSCs: From Bench to Bedside
6-8 Kasım 2017 - Kyoto, Japonya

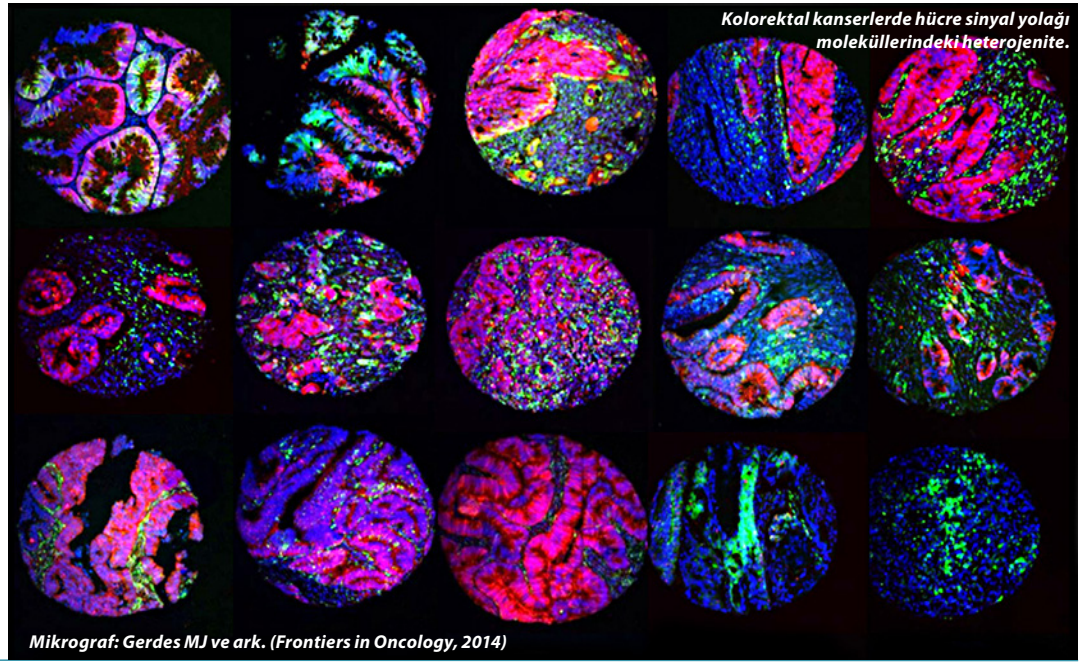
Stem Cells: The Next Generation, an ISSCR International Symposium
10-12 Kasım 2017 - Guangzhou, Çin.

Kök Hücre E-Bülteni **Sayı: 21 (Eylül-Ekim 2017)**

İki ayda bir yayınlanır. *www.kokhucrebulteni.com*
Yayınlananların sorumluluğu yazarlarına aittir.
Editör: Prof.Dr. Alp Can (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Ankara)

Bu sayıya katkıda bulunanlar; *(yazıların geliş sırasına göre)*
Doç.Dr. Hatice Uludağ Altun (Yaşam Bankası Sağlık Hizmetleri A.Ş., İnsan Doku ve Hücre Ürünleri Üretim Merkezi Sorumlusu)
Füsun Öner Soytaş (Yaşam Bankası Sağlık Hizmetleri A.Ş. Genel Müdürü)
Prof.Dr. Özgür Çınar (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji - Embriyoloji A.D.)
Bio. İrem İnanç (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Ankara)
Yrd.Doç.Dr. Açelya Yılmazer (Ankara Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Ankara)
Uzm.Dr. Ferda Topal Çelikkan (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Ankara)
Yrd.Doç.Dr. Ece Nazlı Güngör Ordueri (Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, İstanbul)
Bio. Nilay Kuşçu (Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Antalya, Harvard Üniversitesi konuk araştırmacı)

AYIN FOTOĞRAFI



Kolorektal kanserlerde hücre sinyal yolağı moleküllerindeki heterojenite.

Mikrograf: Gerdes MJ ve ark. (Frontiers in Oncology, 2014)