

# Klinik çalışmalar açısından güncel mezenkimal kök hücre uygulamaları

## Current mesenchymal stem cell applications with regard to clinical studies

Yonca Erdal,<sup>1</sup> Umud Doğu Seçkin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

### ÖZ

Kök hücreler, insan vücudunda farklı kökenlerden elde edilen, farklı tipte hücre yapılarına dönüşebilen hücre kaynağıdır. Klinik tedavilerde kök hücre çalışmaları gün geçtikçe artmaktadır. Mezenkimal kök hücreleri en sık kullanılan kök hücre türüdür. Mezenkimal kök hücreler, klinik çalışmalar açısından farklı alanlarda tedaviye yönelik uygulamalar sunmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları hücre temelli tedaviler, gen taşıyıcılar, ve özellikle de güncel ve popüler bir mühendislik uygulaması olan doku mühendisliği uygulamasıdır. Mezenkimal kök hücreler ile doku mühendisliği çalışmalarından, kemik doku mühendisliği uygulaması ile kemik defektleri ve omurilik zedelenmeleri gibi uygulamalar kapsamında klinik çalışmalar hızla devam etmektedir. Bu derlemede kök hücreler, mezenkimal kök hücreler, uygulama alanlarına bağlı olarak klinik çalışmalar ve kemik doku mühendisliği uygulamaları anlatılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** Kemik doku mühendisliği; klinik çalışma; mezenkimal kök hücre; kök hücreler.

### ABSTRACT

Derived from different origins in the human body, stem cells are a source of cells that can be transformed into different types of cell structures. Stem cell studies are increasing in clinical treatments day by day. Mesenchymal stem cells are the most commonly used type of stem cells. Mesenchymal stem cells present applications for treatment in different areas of clinical studies. Some of these studies are cell-based therapies, gene carriers, and in particular the application of tissue-engineering as an up-to-date and popular engineering practice. Clinical studies rapidly continue with regards to the applications of mesenchymal stem cells and tissue-engineering, such as bone tissue-engineering, bone defects and spinal cord injuries. In this review, we explain stem cells, mesenchymal stem cells, clinical studies in relation to their application areas and bone tissue-engineering applications.

**Keywords:** Bone tissue-engineering; clinical study; mesenchymal stem cell; stem cells.

## KÖK HÜCRELER

Kök hücreler, farklılaşmış kardeş hücreleri üreten ve kendini yenileyerek kök hücre kimliğini koruyan uzun ömürlü, farklılaşmamış eşsiz hücrelerdir.<sup>[1]</sup> Birçok memeli yetişkin dokusu, organizmanın ömrü boyunca doku hasarını ve kaybını onarmak için yerleşik kök hücreler içerir. Dokularda bulunan bu kök hücreler muazzam ve tekrarlayan rejenerasyonu sağlayan çoğalma kapasitelerine sahiptirler.<sup>[2]</sup> Kök hücreler simetrik bölünme ve asimetric bölünme gibi dikkate değer

bir yeteneğe sahiptir. Bu iki bölünmenin dengeli bir şekilde gerçekleşmesi doku morfogenezi ve homeostaz için önemlidir.<sup>[3]</sup> Kendini yenileme ve farklılaşma mitoz yoluyla gerçekleştirilir. Kök hücre havuzunu korumak ve homeostasis sırasında farklılaşmış bir soy sağlamak için asimetric bölünmeler gerçekleşir. Bu bölünme esnasında bir tane kök hücre oluşurken bir tane de progenitor hücre oluşur. Progenitor hücre farklılaşacak olan öncül hücredir. Simetric bölünmede ise kök hücreler iki özdeş kardeş hücre oluştururlar ki

bunlar da embriyonik gelişim sürecinde olduğu gibi kök hücre havuzunu genişletirler ya da strese veya yaralanmaya yanıt olarak progenitör havuzunu genişletirler.<sup>[4,5]</sup> Çok hücreli organizmalarda anormal büyüme ve doku kaybını önlemek için asimetric ve simetric bölünme arasındaki denge hassas bir şekilde kontrol edilmelidir. Bu dengeyi düzenleyen mekanizma henüz kök hücre biyolojisinde çözümlenmemiş ana konulardan biridir.<sup>[3]</sup> Farklılaşma ve kendini yenileme özelliklerinin dışında bir de pluripotensi özelliğine sahiptirler. Pluripotensi yani köklülük ifadesi kök hücrelerinin üç germ yaprağına farklılaşabilme yeteneğidir. Aynı zamanda bu terim kök hücreleri diğer hücre türlerinden ayırmak için de kullanılır. Kök hücrelerin yüzeyinde bulunan belirteçler sayesinde kök hücre türleri belirlenmektedir.<sup>[6]</sup> Vücutta bulunan kök hücre türleri embriyonik kök hücreler ve embriyonik olmayan (yetişkin) kök hücreler olmak üzere ikiye ayrılır. Embriyonik kök hücreler blastomer evresindeki iç hücre kitlesinden elde edilen hücre topluluğudur. Embriyonik kök hücreler her hücre tipine farklılaşabilme gibi eşsiz bir özelliğe sahip oldukları için *in vitro*'da uygun koşullar sağlandığı takdirde farklılaşması istenilen yönde indüklenebilmekte ve bu yeteneği sayesinde klinik uygulamalarda son yıllarda gündemdedir.<sup>[7]</sup> Embriyonik olmayan kaynaklardan elde edilen kök hücreler ise; erişkin kök hücreler, fetüs kök hücreleri, kadavradan elde edilen kök hücreler, göbek kordonu ve plasenta kök hücreleridir.<sup>[8]</sup> Epitel doku, meme, testis ve ovaryum, sindirim sistemi, kıl folikülü, kas ve iskelet sistemi kök hücreleri embriyonik olmayan kök hücre kategorisine giren tiplerdir. Bunlardan hematopoetik ve mezenkimal kök hücre (MKH)'ler ise en çok çalışılan multipotent özellikteki yetişkin kök hücre sınıfına girer.<sup>[9]</sup> Bu kök hücre tiplerinin birçok farklı hastalık çeşitlerinde ve yaralanmalarda önemli fayda sağlaması beklenmektedir. Rejeneratif ve reperatif tıpta çeşitli kök hücre tipleri kullanımı günümüzde klinik araştırmalara geniş bir spektruma yayılmış durumdadır.<sup>[10,11]</sup>

## MEZENKİMAL KÖK HÜCRELER VE GÜNCEL UYGULAMALAR

Mezenkimal kök hücreler, tüm dokulardan elde edilebilen ve sadece mezenkimal kaynaklı olanlara değil osteosit, kondrosit, adiposit gibi çeşitli hücre hatlarına farklılaşabilen multipotent stromal hücrelerdir.<sup>[12,13]</sup> Kendi kendini yenileme kabiliyetleri ve

birçok hücre hattına farklılaşabilmeleri (köklülük), teratom oluşturmamaları onları hücre temelli tedaviler ve gen taşıyıcılar için cazip hale getirmektedir.<sup>[14]</sup> Günümüzde klinik denemelerde farklı hastalıkların tedavisinde ana terapötik ajan olan MKH'ler kullanılmaktadır.<sup>[15,16]</sup>

Mezenkimal kök hücreler immün modülatör ve enflamatuvar etkilere sahiptir. Ayrıca MKH'ler, yüksek doku yenileme potansiyeline ve anti-enflamatuvar etkiye sahip olan makrofajların M2-benzeri fenotipe farklılaşmasını teşvik eder fakat aynı zamanda bir pro-tümörojenik fonksiyonun oluşmasına da neden olur. Mezenkimal kök hücrelerin makrofajlar üzerindeki düzenleyici etkileri prostaglandin E2 (PGE2), IL-1 receptor antagonist (IL-1RA) ve interleukin 6 (IL-6) immün modülatör moleküllerin salgılanmasıyla kontrol edilir.<sup>[17,18]</sup> Clinicaltrials.gov internet adresindeki verilere göre MKH'lerle ilgili 759 klinik çalışma bulunmaktadır.<sup>[19]</sup> Bunlardan 123'ü kas-iskelet sistemi hastalıkları, 103'ü immün sistem hastalıkları, 99'u merkezi sinir sistemi hastalıkları, 76'sı ise sindirim sistemi hastalıklarıyla ilgilidir. Günümüz sorunlardan biri olan kafa travmalarının tedavisinde de MKH'ler kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmaya göre MKH'ler kafa travmasına sahip farelere enjekte edildiğinde nöron ve astrosit benzeri hücrelere dönüştüğü gözlemlenmiştir. Ayrıca araştırmacılar MKH farklılaşmasının sinirsel büyümeyi artırdığını, duyuşal ve motor işlevlerinin iyileşmesini desteklediğini bildirmişlerdir.<sup>[13,20]</sup> Bir başka çalışmada kemik iliğinden elde edilen MKH'ler fibroblast büyüme faktörü (FBF) ile birlikte sıçanlarda kafa travmasının olduğu bölgeye verilmiştir.<sup>[21]</sup> Elde edilen sonuçlara göre FBF dokunun yenilenmesi için aktarılan MKH'lerin büyümesini hızlandırmıştır. Yapılan birçok çalışmaya göre MKH'ler kafa travmaları için umut vaat etmektedir.<sup>[21]</sup> Tedavisi ve cerrahi işlemi zor olan ayrıca fibrozisi hekimler için ciddi zorluklar oluşturan Crohn hastalığının tedavisinde de MKH'ler kullanılmıştır. Yüksek insidansı, fistüllerin neden olduğu ikincil enfeksiyon, organ işlev bozukluğu, etyolojisinin belirsizliği ve en önemlisi fistüllerin karsinogenez riskini artırması bu hastalığı önemli kılmaktadır.<sup>[22,23]</sup> Yapılan bir başka çalışmada da Crohn fistüllerinin tedavisi için MKH'ler kullanılmıştır.<sup>[24]</sup> Mezenkimal kök hücreler T hücre aktivasyonunu ve sitokin salınımını artırarak fistülün oluşturduğu ikincil enfeksiyonu azaltmıştır. Ayrıca MKH'lerin verilmesi

herhangi bir neoplazm göstermemiştir. Yapılan bu güncel çalışmaya göre MKH'lerin Crohn ve Crohn fistülleri için etkili bir tedavi yöntemi olacağı gösterilmiş ve bu çalışma geleceğe ışık tutmuştur.<sup>[24]</sup> Mezenkimal kök hücrenin kullanıldığı diğer bir hastalık ise omurilik yaralanmalarıdır. Omurilik yaralanmaları felçle sonuçlanabilecek ciddi bir nörolojik hastalıktır. Mevcut tedavilerle sınırlı sonuç veren bu hastalıkta da hücre- sel bazı tedaviler denenmektedir. Mezenkimal kök hücrenin omurilik yaralanmalarında kullanılması sonucunda doku koruyuculuğunu artırmış, beyaz cevherdeki remiyelinizasyonu ve aksonal rejenerasyon alanını artırmıştır. Yine MKH'ler nörotrofik faktörlerin salgılanmasını artırarak omuriliğin onarımına terapötik bir etki sağlar. Bu çalışma clinicaltrials.gov internet adresindeki verilere göre faz 1 çalışmasıdır.<sup>[19]</sup> Başarılı bir sonuç alındığı için faz 2 çalışmaları için de başvuru yapılmıştır.<sup>[25]</sup> Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda MKH'lerin hastalıkların tedavisinde başarılı bir şekilde uygulandığı görülmüştür. Devam eden faz çalışmalarını takiben etkili bir tedavi yönteminin bulunacağı öngörülmektedir.

## **KEMİK İLİĞİ KÖKENLİ MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN (Kİ-MKH) KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİ YAKLAŞIMLARI**

Kemik ve kırıkta doku rejenerasyonu için kemik iliği kökenli kök hücre tipi yetişkin Kİ-MKH'dir. Bu hücreler köken olarak kemik iliği hücresi popülasyonundan osteojenik bir soydan ayırt edilebildiği gösterilmiştir ve kemiğin onarımını artırmak için kullanılmaktadır.<sup>[26]</sup> Kemik iliği MKH'ler, hücre popülasyonu yapışık kemik iliği kolonilerinden fraksiyon bazlı izole edilebilir. Bu kök hücreler fibroblastik ve osteojenik türden ayırt edilebilir.<sup>[27]</sup>

Kemik iliği, içerik olarak karmaşık bir yapıda olduğu için, spesifik kök hücrelerin izolasyonu Endoglin ve STRO-1 antikor seçim işlemleri gibi epitop ekspresyonu temelinde karışımdan izole edilebilir.<sup>[28,29]</sup> Bu hücreler kemik iliğinden çıkarılabilir ve yapay kalça eklemlerini stabilize etmek için kullanılan doldurucu veya kemikteki kritik büyüklükteki kusurları başka türlü iyileşmeyecek olan malzemeleri artırmak için kullanılabilir.

Kemik doku mühendisliğinde Kİ-MKH'lerin diğer uygulaması, travma veya doku kayıpları ve

patolojik yaralanmaya bağlı geniş kemik hasarlarını tedavi etmek amaçlı kullanılmasıdır. Ototolog kemik nakli için sınırlı bağışlar nedeniyle doku mühendisliği, MKH genişlemesi ve farklılaştırılması için tasarlanmış üç boyutlu iskele kullanılarak kemik defektlerinin onarımı için tartışılmıştır. Klinik uygulamada, iskele ve MKH'ler, kemik oluşturma yeteneğini değerlendirmek için farelerin kafatası kemiğinin altına yerleştirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları MKH'ler kullanarak maksiller sinüs kemik dokusunun onarımını artırdığını gözlemlenmiştir. Aslında, histomorfolojik çalışmalar, bifazik hidroksiapatit ve beta trikalsiyum fosfat matrisleri kullanarak bir osteoid matris oluşturabilen osteoblastların üretilmesini kanıtlamıştır.<sup>[30,31]</sup> Kemik doku mühendisliği çalışmalarında hücre kaynağı olarak kök hücrelerin kullanımı hızla artmaktadır. Bu bağlamda bu derlemede kemik doku mühendisliği ve klinik çalışmalarında MKH'lerin yeri ve önemine değinildi.

### **Çıkar çakışması beyanı**

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çakışması olmadığını beyan etmişlerdir.

### **Finansman**

Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

## **KAYNAKLAR**

1. Cheung TH, Rando TA. Molecular regulation of stem cell quiescence. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013;14:329-40.
2. Li L, Clevers H. Coexistence of quiescent and active adult stem cells in mammals. *Science* 2010;327:542-5.
3. Santoro A, Vlachou T, Carminati M, Pelicci PG, Mapelli M. Molecular mechanisms of asymmetric divisions in mammary stem cells. *EMBO Rep* 2016;17:1700-1720.
4. Chandel NS, Jasper H, Ho TT, Passegué E. Metabolic regulation of stem cell function in tissue homeostasis and organismal ageing. *Nat Cell Biol* 2016;18:823-32.
5. Ozdil B, Kece C, Cosar A, Akkiz H, Sandikci M. Potential benefits of combined N-acetylcysteine and ciprofloxacin therapy in partial biliary obstruction. *J Clin Pharmacol* 2010;50:1414-9.
6. Weissman IL. Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: barriers and opportunities. *Science* 2000;287:1442-6.

7. National Institutes of Health. Stem cells: scientific progress and future research directions. University Press of the Pacific; 2004.
8. Can A. Kök Hücre Biyolojisi, Türleri ve Tedavide Kullanımları. Ankara: Akademisyen Kitapevi; 2014.
9. Tekeli S, Arısu Naghavi E, Gökçe B, Sır G, Yiğittürk G, Çavuşoğlu T ve ark. Kök hücreler; mezenkimal kök hücreler ve güncel klinik uygulamaları. FNG & Bilim Tıp Transplantasyon Dergisi 2016;1:72-83.
10. Trounson A, McDonald C. Stem Cell Therapies in Clinical Trials: Progress and Challenges. Cell Stem Cell 2015;17:11-22.
11. Kılıç KD, Başaloğlu HK, Uyanıkgil Y, Turgut M. Current Topics on Cancer Stem Cell Associated Melanoma Treatment Researches. J Brain Tumors Neurooncol 2017;2:1.
12. da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. J Cell Sci 2006;119:2204-13.
13. Hasan A, Deeb G, Rahal R, Atwi K, Mondello S, Marei HE, et al. Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Traumatic Brain Injury. Front Neurol 2017;8:28.
14. Mundra V, Gerling IC, Mahato RI. Mesenchymal stem cell-based therapy. Mol Pharm 2013;10:77-89.
15. Trachana V, Petrakis S, Fotiadis Z, Siska EK, Balis V, Gonos ES, et al. Human mesenchymal stem cells with enhanced telomerase activity acquire resistance against oxidative stress-induced genomic damage. Cytotherapy 2017;19:808-820.
16. Kilic KD, Uyanıkgil Y, Cetin EO, Turgut M. Melatonin as an Anti-angiogenic, Immunomodulatory and Antitumoral Agent. J Brain Tumors Neurooncol 2016;1:102.
17. Li Y, Wu Q, Wang Y, Li L, Bu H, Bao J. Senescence of mesenchymal stem cells (Review). Int J Mol Med 2017;39:775-782.
18. Luz-Crawford P, Jorgensen C, Djouad F. Mesenchymal stem cells direct the immunological fate of macrophages. In: Kloc M, editor. Macrophages. Baskı yeri: Springer International Publishing; 2017. p. 61-72.
19. U.S. National Library of Medicine (NIH). Available from: <https://clinicaltrials.gov> [Access: September 11, 2017]
20. Anbari F, Khalili MA, Bahrami AR, Khoradmehr A, Sadeghian F, Fesahat F, et al. Intravenous transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells promotes neural regeneration after traumatic brain injury. Neural Regen Res 2014;9:919-23.
21. Liu Y, Yi XC, Guo G, Long QF, Wang XA, Zhong J, et al. Basic fibroblast growth factor increases the transplantation mediated therapeutic effect of bone mesenchymal stem cells following traumatic brain injury. Mol Med Rep 2014;9:333-9.
22. Peloquin JM, Goel G, Villablanca EJ, Xavier RJ. Mechanisms of Pediatric Inflammatory Bowel Disease. Annu Rev Immunol 2016;34:31-64.
23. von Roon AC, Reese G, Teare J, Constantinides V, Darzi AW, Tekkis PP. The risk of cancer in patients with Crohn's disease. Dis Colon Rectum 2007;50:839-55.
24. Cao Y, Ding Z, Han C, Shi H, Cui L, Lin R. Efficacy of Mesenchymal Stromal Cells for Fistula Treatment of Crohn's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. Dig Dis Sci 2017;62:851-60.
25. Satti HS, Waheed A, Ahmed P, Ahmed K, Akram Z, Aziz T, et al. Autologous mesenchymal stromal cell transplantation for spinal cord injury: A Phase I pilot study. Cytotherapy 2016;18:518-22.
26. Howard D, Partridge K, Yang X, Clarke NM, Okubo Y, Bessho K, et al. Immunoselection and adenoviral genetic modulation of human osteoprogenitors: in vivo bone formation on PLA scaffold. Biochem Biophys Res Commun 2002;299:208-15.
27. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science 1999;284:143-7.
28. Majumdar MK, Banks V, Peluso DP, Morris EA. Isolation, characterization, and chondrogenic potential of human bone marrow-derived multipotential stromal cells. J Cell Physiol 2000;185:98-106.
29. Stewart K, Monk P, Walsh S, Jefferiss CM, Letchford J, Beresford JN. STRO-1, HOP-26 (CD63), CD49a and SB-10 (CD166) as markers of primitive human marrow stromal cells and their more differentiated progeny: a comparative investigation in vitro. Cell Tissue Res 2003;313:281-90.
30. Dehghanifard A, Saki N, Ahmadvand M, Mahmoodinia Maymand M, Mosahebi Mohammadi M, Soleimani M. Mesenchymal stem cell; biology, application and role in regenerative medicine. Sci J Iran Blood Transfus Organ 2012;8:306-20.
31. Shayesteh YS, Khojasteh A, Soleimani M, Alikhasi M, Khoshzaban A, Ahmadbeigi N. Sinus augmentation using human mesenchymal stem cells loaded into a beta-tricalcium phosphate/hydroxyapatite scaffold. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008;106:203-9.