

Kök hücreyi tanıyalım

Let's familiarize ourselves with the stem cell

Utku Ateş

İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZ

1960'lı yıllarda kemik iliği kök hücreleri ile başlayan kök hücrenin hastalıklarda tedavi amaçlı kullanıma umudu; bugün halen devam etmektedir. Kök hücrelerin uygun uyaranlar altında farklılaşmış hücrelere dönüşebilme yetenekleri bilim dünyası açısından dikkat çekicidir. Pluripotent veya multipotent kök hücreler daha sonra belirli hücre dizilerine farklılaşacak progenitor hücreleri oluştururlar. Kök hücre tipleri ve özellikleri bu yazıda tartışılacaktır.

Anahtar sözcükler: Gelecek; kök hücre; tedavi.

ABSTRACT

The hope of using stem cells as curative methods for disease which has begun in 1960s, still exists today. The ability of differentiation of stem cells to differentiated cells under appropriate stimulus is attractive for science societies. Pluripotent and multipotent stem cells generate progenitor cells which then will differentiate to different cell lines. Types and properties of stem cells will be discussed in this document.

Keywords: Future; stem cell; treatment.

İnsanoğlunun, insanlığın ilk zamanlarından günümüze dek süregelen hastalıkları yenme ve yaşlanmanın önüne geçme çabaları bugüne kadar tıp biliminin itici gücü olmuştur. Tıp ve biyoteknoloji alanında yeni bir çağın başlangıcındayız ve geçen on yıllarda hayal bile edilemeyen pek çok tıbbi uygulama bugün için hayata geçmiş veya geçmek üzeredir. Bu uygulamalardan bugün için yürürlükte olan veya yakın gelecekte yürürlüğe girecek olan en dikkat çekici gelişmeler hücre ve hücrenel uygulamalar alanında yaşanmaktadır. Yoğun olarak sürdürülen araştırmalar neticesinde tedavide kullanılabilme umudu taşıyan insan hücre çeşit ve kaynaklarına her gün bir yenisi eklenmekte ve yeni kullanım alanları ile gittikçe artan oranlarda bu hücre ve dokulara talep olmaktadır.

Kök hücrenin güncel tanımına gelinceye kadar çok sayıda kilometre taşı aşılmıştır. Hala pek çok bilgi eksikliğimiz olan bu alandaki gelişmeleri özetlemek gerekirse "Hücre" tanımıyla başlamak yerinde

olacaktır. Hücre; Cell (İng), Cellula (Lat.), 1665'te Robert Hooke tarafından yazılan kitapta "yaşayan en küçük biyolojik yapı" olarak tanımlanmıştır ve küçük oda anlamına gelmektedir. 1839'da Matthias Jakob Schleiden ve Theodor Schwann; "HÜCRE TEORİSİ" ni ortaya atmışlardır:

1. Hücre, yaşamın en küçük fonksiyonel yapı taşıdır. Tüm canlılar bir veya daha fazla hücreden meydana gelmiştir.
2. Yeni hücreler kendilerinden önce var olan hücrelerin bölünmesiyle meydana gelir.
3. Bir organizmanın tüm yaşamsal fonksiyonları onu oluşturan hücrelerin içinde gerçekleşir.
4. Tüm hücreler, hücre fonksiyonlarını düzenleyen herediter bilgiyi sonraki kuşaktaki hücrelere aktarır.

1900'lü yılların başlarında Avrupalı araştırmacılar çeşitli kan hücrelerinin hepsinin tek bir hücreden

kökenlendiğini fark etmişlerdir. 1958 yılında Dr. Min Chueh Chang *in vitro* fertilizasyon (IVF) uygulamasını tavşanlarda tartışmasız olarak göstermiştir. 1960 yılında farelerdeki teratokarsinomaların embriyonik germ hücrelerinden köken aldığı ve embriyonal karsinoma hücrelerinin bir çeşit anaç hücre olduğu ifade edilmiştir. 1963 yılında Kanada’lı araştırmacılar Ernest McCulloch ve James Till; Fare kemik iliği hücrelerinin nakil sonrası kendi kendilerini yenileme kapasitelerinin olduğunu kantitatif olarak tanımlamışlardır. 1968’de ilk insan yumurtası *in vitro* olarak fertilize edilmiştir. 1978: İlk IVF bebeği (tüp bebek) olan Louise Brown, İngiltere’de doğmuştur (25 Temmuz). 1981: Evans, Kaufman ve Martin, blastosistlerin iç hücre kitlelerinden fare embriyonik kök hücre EKH’leri elde etmişlerdir. *In vitro* ortamda pluripotent fare EKH’lerini çoğaltmak için, gerekli kültür şartlarını tanımlamışlardır.^[1] 1995-96: Rhesus maymunlarından ve marmosetlerden primat EKH’leri elde edilmiş ve bu hücreler, *in vitro* ortamda yerleştirilmiştir.^[2] İnsan EKH’lerinin de *in vitro* ortamda çoğaltılmasının mümkün olabileceğine işaret edilmiştir. 1998 yılının en önemli olayı, ABD Madison kentinde Wisconsin Üniversitesi’nden James Thomson ve ekibini, IVF laboratuvarında dondurulmuş ya da taze 36 tane embriyondan beş adet insan EKH serisi ürettiklerini rapor etmesiydi.^[3] Bu olaydan sonra kök hücre araştırmaları ve beraberinde tartışmalar tüm dünyada hız kazandı. Science Dergisi 2003 yılında; “Kök Hücreler” ile ilgili gelişmeleri en önemli 10 tıp olayı arasında göstermiştir.

Neden kök hücreler bu kadar önemli, bu hücrelerle hastalıklar nasıl tedavi edilebilir? (Rejeneratif tıp, Reparatif tıp); Vücudumuzdaki bütün hücrelerin ana kaynağı ve dokuların, organların ana yapı taşı olan kök hücreler; çok sayıda bölünebilme ve kendilerini yenileyebilme yeteneğine sahip; özelleşmemiş, ancak özelleşmiş hücrelere (kan hücresi, kas hücresi, sinir hücresi vb.) kaynaklık edebilen ve bu özelliğiyle hasarlanmış olan dokuyu tekrardan çoğaltıp eski fonksiyonunu geri kazandırabilme özelliğine sahip olan hücrelerdir.

1960’lı yıllarda kemik iliği kök hücreleri ile başlayan kök hücrenin hastalıklarda tedavi amaçlı kullanılma umudu; bugün bilimsel, etik ve sosyal tartışmaların şemsiyesi altında son hızla devam etmektedir. Kök hücrelerin kullanıldığı ve son yıllarda tedavi seçenekleri arasında en çok umut vaat eden hücresel tedavide amaç; hasar gören veya doğru fonksiyon göstermeyen bir hücre/doku veya organın işlevini kök hücreleri kullanarak, tamir etmek veya yenile-

mektir. Bu amaç için “zarar görmüş olan dokuya, o dokunun fonksiyonunu yerine getirmeye yetecek sayı ve kalitede, saflaştırılmış olan hücrelerin aktarılması” gerekmektedir. Uygulanan kök hücre merkezli tedavi yöntemlerinin başarısı, aralarında embriyoloji, hücre biyolojisi, doku mühendisliği, moleküler biyoloji, genetik ve tedavi edilmekte olan hastalığa ilişkin klinik bilimlerin de bulunduğu multidisipliner bir yaklaşıma ihtiyaç duyar.

Bir hedef doku veya organ hasarında; o organın işlevlerini eski haline getirmeye yetecek sayı ve kalitede izole edilmiş ve özellikleri belirlenmiş olan sağlıklı hücrelerin nakledilmesiyle tedavi sağlanabilir. Hücre esaslı ya da hücre tabanlı tedavi; insanlardaki pek çok hastalık için bu şekilde bir tedavi stratejisi olarak ortaya çıkmıştır. Kök hücreler, hücre tabanlı tedavi protokollerinin vazgeçilmez unsurlarıdır.

PLASTİSİTE VE FARKLILAŞMA KAPASİTESİ

Kök hücrelerin herhangi bir vücut hücresi gibi belli bir amaca yönelik olarak farklılaşmamış olmaları her ne kadar önemli bir kök hücre belirteci olsa da, uygun uyaranlar altında farklılaşmış hücrelere dönüşebilme yetenekleri bilim dünyası açısından daha dikkat çekicidir. Bir hücrenin farklı dokulardaki hücrelere dönüşebilme yeteneğine “Plastisite” ya da “Differansiyasyon”; o hücrenin değişik hücre tiplerine farklılaşma potansiyeline ise “Farklılaşma Kapasitesi” denilmektedir. Bu her iki terim sıklıkla aynı amaçla da kullanılmaktadır.

Differansiyasyon (Farklılaşma); hücreler arası iletişimlerin sonucunda ortaya çıkan büyüme ve farklılaşma faktörlerinin, sitokinlerin kombine etkisiyle organizmayı oluşturan hücrelerde olduğu gibi belli bir amaca yönelik olarak olgunlaşma ve uzmanlaşma sürecinde geçirdikleri bir dizi değişimi tanımlamak için kullanılır. Farklılaşma öncesi kök hücreler sürekli bölünerek mevcut sayılarını artırma eğilimine girerler. Kendilerini yenileme (Self renewal) olarak adlandırılan bu olayda kök hücrelerin belli bir sayıda sabit tutulması sağlanır. Kendi kendini yenileme ve özelleşmiş hücrelere farklılaşma yeteneğine sahip olan kök hücrelerde iki farklı hücre bölünme şekli karşımıza çıkar;

1. Simetrik hücre bölünmesi; kaynaklandıkları hücrenin tüm özelliklerine sahip iki identik yavru hücre meydana gelir. Bu sayede hücreler özelliklerinde değişme olmadan sayılarını çoğaltabilirler.

2. Asimetrik hücre bölünmesi; ortaya çıkan iki hücreden bir tanesi kaynak hücrenin tüm özelliklerini korurken, diğeri progenitör hücreyi oluşturur. Progenitör hücre de birkaç bölünme sonrası terminal farklılaşmaya uğrayarak farklılaşmış olgun hücreye dönüşür. Kök hücrelerin diğerk kök hücrelerle ve çevredeki farklılaşmış hücrelerle arasındaki ilişkiler; adezyon molekülleri, ekstraselüler matriks bileşenleri; büyüme faktörleri; sitokinler; mikroçevrenin fizyokimyasal koşulları (pH, metabolitler, iyonik ortam vb.) kök hücrelerin kendi kendilerine çoğalma veya farklılaşmaları üzerinde etkili olmaktadır. Farklılaşmayı uyaran ve sürdüren etkenler ortadan kalkarsa, birçok hücre bölünme döngüsüne tekrar döner.^[4]

Laboratuvar ortamında kök hücrelerin belli bir çizgide farklılaşmasına “yönlendirilmiş farklılaşma” adı verilir. Bu olay belli kimyasal ve fiziksel koşulların yerine getirilmesi veya doğrudan hücrenin genetik programının değiştirilmesiyle başarılıdır. Örneğin; yetişkin bir kök hücrenin kas hücrelerine farklılaşması.

Bir kök hücrenin “lineage” (dizi) değiştirilmesi veya farklılaşması için başlıca dört alternatif yol vardır.^[5] Pluripotent veya multipotent kök hücreler daha sonra belirli hücre dizilerine farklılaşacak progenitor hücreleri oluştururlar.

a. Transdeterminasyon: Özelleşmiş bir tipte hücre oluşturmak üzere planlanmış bir prekürsör hücrenin başka bir prekürsör hücreye dönüşmesi ve o kök hücreye ait serilerin oluşturulması olayıdır.

b. Transdiferansiyasyon: Diferansiye olmuş hücrenin farklı bir dokuya ait diferansiye olmuş hücre fenotipini kazanması. Farklılaşmış bir hücrenin diğerk bir farklılaşmış hücrenin fenotipini almasıdır. Burada hücrenin gen ekspresyonu tamamen farklı bir hücre tipine dönüşür. Örneğin normal memeli gelişimi esnasında, özofagusta düz kas hücrelerinin iskelet miyozitlerini oluşturması transdiferansiyasyona örnektir.^[6]

c. Dediferansiyasyon (geriye farklılaştırma): Farklılaşmış veya bir hücre grubuna farklılaşmak için planlanmış bir hücrenin, öncü formlarına doğru geriye giderek başka bir hücreyi oluşturmak üzere farklı bir kola kaymasına dediferansiyasyon denilir. Bu tipte bir farklılaşmaya örnek olarak, semenderlerde ekstremite amputasyonunu takiben miyozitlerin farklı hücre gruplarına farklılaşmaları verilebilir.^[5]

d. Hücre füzyonu: Bir hücrenin yönlendirilmiş hücre dizileriyle füzyonu yeni yönlendirilmiş hücre dizilerinin oluşumuna yol açar. Buna en iyi örnek tedavi amaçlı klonlamadır. Burada, olgun ve bir hücre grubunu oluşturmaya programlanmış hücrenin çekirdeği, çekirdeği çıkarılmış bir oosit içerisine sokularak tekrar programlanabilir ve böylece değişen çevre ile olgun çekirdeğin tekrar programlanması çoğu dokuların oluşumunu sağlar.^[7] Benzer şekilde fibroblastların miyoblastlarla füzyonu, fibroblast çekirdeğinde kasa-özgü mRNA ekspresyonunun artmasına neden olmuştur.^[8]

Farklı kaynaklardan elde edilen kök hücrelerin farklılaşma kapasiteleri arasında da fark vardır:

1. Totipotent; sperm ve oosit birleşip zigot oluştuktan sonra gelişimin dördüncü gününe kadar olan aşamadaki blastomerlerin her biri bir organizmayı tümüyle yapabilecek potansiyele sahiptir. Totipotent hücreler; organizmayı oluşturan herhangi bir özelleşmiş hücreye farklılaşabilirler.

2. Pluripotent kök hücre: Döllenenmeden 4-5 gün sonra meydana gelen Blastosiste ait hücreler farklılaşmaya başlayarak iki farklı seriye dönüşürler. Dış tabaka trofoektoderme dönüşüp plasentayı oluşturur. İç tabakasındaki hücreler ise embriyoyu meydana getirir. İnsan embriyonik hücreleri trofoektoderm kaldırılarak embriyoyu yapacak olan içteki hücre topluluğundan elde edilir. Tüm vücut hücrelerinin köken aldığı her üç germ yaprağı (mezoderm, endoderm, ektoderm) hücrelerine dönüşebilen hücredir. Ancak trofoblastları oluşturamaz.

İndüklenmiş pluripotent kök hücre (İPSC); pluripotent olmayan, genellikle erişkin somatik hücreden dediferansiyasyon yoluyla pluripotent hale dönüştürülmüş hücredir. İndüklenmiş pluripotent kök hücre; embriyonik kök hücreler gibi belli kök hücre protein ve genlerini eksprese ederler, embriyoid cisimcik oluşturma ve teratom oluşturma kapasitelerine sahiptirler ve aynı pluripotent farklılaşma kapasitesine sahiptirler. İki yöntem ile de İPSC elde edilebilmektedir. Totipotent hücre elde etmek için somatik hücre çekirdek transferi yapılır. Pluripotent hücre elde etmek için ise belli genlerin virüsler ile transfeksiyonu yapılır. Ve bu sayede transfekte hücrenin bu genleri eksprese etmesi sağlanır. İndüklenmiş pluripotent kök hücre 2006 yılında fare hücrelerinde, 2007 yılında da insan hücrelerinde üretilmiştir. Yamanaka insan fibroblast hücrelerine retroviral aktarımla Oct3/4, Sox2, Klf4 ve C-Myc genlerini aktarmayı başarmıştır. Thomson ve ark.^[2] Lentiviral

sistem kullanarak Oct4, Sox2, Nanog ve LIN28 genlerini transfekte etmişlerdir. Bu çalışmalarda Oct-3/4 ve Sox gen ailesinin bazı üyeleri (Sox1, Sox2, Sox3 ve Sox15) indüksiyon işleminde önemli transkripsiyonel düzenleyiciler olarak tanımlanmıştır. Bu düzenleyicilerin yokluğu indüksiyonu imkansız hale getirirken; Klf ailesinin bazı üyeleri (Klf1, Klf2, Klf4, and Klf5), Myc ailesinin bazı üyeleri (C-myc, L-myc, and N-myc), Nanog ve LIN28'de indüksiyon etkinliğini artırmaktadır.^[8]

3. *Multipotent KH*: Sınırlı sayıda hücreye dönüşebilme potansiyeli olan kök hücrelerdir. Örneğin kordon kanından elde edilmiş kök hücreler uygun uyarılarla kas hücrelerine, nöronlara ve diğer hücrelere dönüşebilirler.

4. *Oligopotent KH*: Progenitör hücrelerin sadece birkaç hücre tipine farklılaşabilen grubudur. Örn; lenfoid ve miyeloid kök hücreler ve vasküler kök hücreler. Vasküler kök hücreler gerektiğinde endotel gerektiğinde düz kas hücresine farklılaşma yeteneğine sahiptir.

5. *Unipotent KH*: (Prekürsör (öncü) bu hücreler, sadece tek tip hücre tipine farklılaşma yeteneğine sahiptir. Öncü hücre olarak da bilinen bu hücreye en iyi örnek insan deri hücreleri veya hepatositler örnek olarak verilebilir. Öncü hücreler karaciğer ve beyin gibi organlarda, organın bütünlüğünü ve fonksiyonunun devamını sağlamak için ölen hücrelerin yerini alırlar.

KÖK HÜCRE ÇEŞİTLERİ

Bu güne kadar, kök hücreler ile ilgili olarak farklı sınıflamalar tanımlanmıştır. En çok kabul göreni; kök hücrelerin esas itibarıyla iki farklı kaynaktan elde edilmesine yönelik olanıdır.

A) Embriyonik kök hücreler

B) Embriyonik olmayan kök hücreler

I- Hematopoetik kök hücreler

a- Kemik iliği kök hücreleri

b- Periferik kan kök hücreleri

c- Göbek kordon kanı kök hücreleri

II- Stromal (mezenkimal) kök hücreler

III- Organlarda yerleşik diğer erişkin kök hücreleri

Embriyonik Kök Hücreler

Embriyonik gelişimin erken evrelerinde Blastosist aşamasındaki embriyonun iç hücre kitlesinden elde

edilen pluripotent hücrelerdir. Vücuttaki herhangi bir farklılaşmış hücreyi oluşturma yeteneğindedirler. Embriyonik kök hücreden elde edilen hücre kümeleri embriyoid cisimcikler olarak adlandırılmaktadır. Bunlar plasenta hariç olmak üzere ektoderm, mezoderm ve endoderm tabakalarından köken alan çeşitli hücre tiplerine farklılaşabilir.^[9] Kompleman aracılı olarak alınan iç hücre kitlesi zeminde fare embriyonik fibroblastlarının bulunduğu bir kültür ortamına alınır. Bu hücre tabakasına besleyici hücre tabakası (feeder layer) denir ve bu hücreler bölünme ve çoğalma açısından inaktif durumdadırlar ve embriyonik kök hücrelerin farklılaşmadan çoğalmasını sağlarlar. Fare EKH'leri besleyici hücre tabakası olmaksızın lösemi engelleyici faktör (LIF) varlığında da farklılaşmadan çoğalabilmektedirler. Alt pasaj yapılarak yaklaşık altı ay sonra bu iç hücre kitlesinden milyonlarca embriyonik kök hücre serisi elde edilebilmektedir. İnsan EKH'leri pluripotent ve farklılaşmamış hücrelerin belirteçlerinden olan CD9, CD24, oktamer bağlayıcı protein (Oct-4), Nanog, alkalin fosfataz, LIN28, Thy-1, SSEA-3 ve SSEA-4 ekspresyon ederler.^[10]

Elde edilen bu hücreler kültür ortamında uzun süre yüksek derecede telomeraz ekspresyonu ve aktivitesi gösterirler. Embriyonik kök hücreler sınırsız olarak kendi kendilerini yenileme kapasitesine sahiptirler ve tüm fetal dokulara ve erişkin kök hücrelerine ve bunların daha farklılaşmış progenitörlerine farklılaşabilir.

Embriyonik Olmayan Kök Hücreleri

Embriyonik olmayan KH; bir doku veya organ-daki farklılaşmış hücreler arasında bulunan farklılaşmamış hücreler olup, kendi kendini yenileyebilme ve içinde bulunduğu doku veya organın özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilme yeteneğine sahiptir. Embriyonik olmayan KH'lerin (dokuya özgü kök hücrelerin) yaşayan organizmadaki esas görevleri, içinde buldukları dokuyu tamir etmek ve dokunun bütünlüğünü sağlamaktır.

HEMATOPOETİK KÖK HÜCRELER (HKH)

Hematopoez, organizmanın embriyonik ve yetişkin düzeyde kan hücresi oluşturmalarını tanımlayan bir terimdir. Hematopoez, yetişkin kök hücre tiplerinden biri olan ve bütün kan hücre serilerine dönüşme yeteneğindeki HKH'nin gelişim, kendini yenileme ve farklılaşma süreçlerini de kapsamaktadır. Hematopoez embriyoner dönemde Yolc kesesinde başlar ve daha sonra aort-gonad-mezonefroz bölgesi, plasenta, fetal karaciğer, timus, dalak ve kemik iliği

olmak üzere birçok anatomik bölgede devam eder. Embriyonik dönemde oluşan HKH'ler, kemik iliği gelişip kök hücre fonksiyonları için gereken mikroçevreyi sağlayana kadar bu bölgeler arasında göç ederler. Farklı anatomik bölgelerdeki HKH'lerin intrinsik karakteristikleri, farklılaşma ve ekspansiyon özellikleri de birbirinden farklıdır.^[11]

Hematopoetik kök hücre, üzerinde en çok çalışılan ve tedavide yaygın olarak kullanılan erişkin kök hücrelerdir. Kendi kendine yenileyebilme ve bütün matür kan hücrelerine farklılaşabilme özellikleri vardır. Kemik iliği, periferik kan, kordon kanı ve fetal karaciğerden elde edilebilirler. Yüzey belirteçleri başlıca, CD34, CD14, CD45 ve CD133'dür. İntrensek ve ekstrinsek sinyaller ile farklılaşmaları düzenlenmektedir. Hematopoetik kök hücre mikroçevresi (niche) tanımlanması ile gelişmenin kök hücre ile çevresi arasındaki etkileşim ile dengede olduğu belirlenmiştir.

Hematopoetik hücrelerin bugün için özellikleri en iyi tanımlananı kemik iliğidir. Kemik iliğindeki kök hücrelerin en az üç primitif kök hücre topluluğunu içerdiği düşünülmektedir.^[12-14]

1. Hemanjioblastlar: Hematopoetik ve endotel kök hücrelerinin prekürsörleri
2. Mezenkimal kök hücreler: Stroma, kas, kemik, kıkırdak ve yağ hücreleri gelişebilir.
3. MAPC (Multipotent adult progenitor hücre): Ektoderm, mezoderm ve endodermal seri hücrelerini oluşturabilirler. Bu hücre dizilerinin birbirine dönüşebilme özelliği sayesinde kemik iliği kök hücrelerinden pek çok farklı doku hücreleri gelişebilmektedir.

Kök hücrelerin bölünme ve farklılaşmalarında önemli yer tutan; bu hücrelerin içinde bulunduğu ve onların kaderini belirleyen *in vivo* veya *in vitro* mikroçevreye "Stem Cell Niche= Kök Hücre Yuvası" denilmektedir (Niche: niş; yuva; odak). Kök hücre; bu yuvayı terk ettiğinde veya bu mikroçevreden gelen sinyaller kesildiğinde farklılaşma başlar. Embriyonik gelişim esnasında; nişe ait çok çeşitli faktörler; gen ekspresyonlarını düzenleyerek embriyonun gelişimi için embriyonik kök hücrelerin çoğalma veya farklılaşmalarını düzenlerler. Kök hücre mikroçevresi normalde non-embriyonik kök hücrelerin sessiz bir fazda beklemelerini sağlarken; herhangi bir doku hasarında ise hızla bölünmelerini sağlayarak yeni farklılaşmış hücrelerin oluşmalarını uyarmaktadır.^[15]

Buldukları ortama göre farklı davranış gösterirler örneğin; hemotopoetik kök hücreler olgun-

laşmış kan hücrelerine dönüşmek üzere kemik iliği tarafından sürekli üretilirler. Bu hücrelerin en önemli görevleri kan hücrelerini yenilemektir. 1960'lardan beri kök hücre tedavilerinde kullanılmakta olan HKH'ler hem intrauterin dönemde hem de doğum esnasında fetal dolaşımında bulunurken doğumdan birkaç saat sonra tüm kan hücrelerinin öncüllerini sağlamak üzere kemik iliğine göç ederler. Kemik iliği, periferik kan, kordon kanı gibi multipotent kök hücre kaynaklarının içerdiği HKH'ler uygun çevresel uyarılar altında kas, kemik, kıkırdak gibi farklı hücrelere dönüşebilmektedir. Son yapılan çalışmalar ile Wnt, Notch, kemik morfojenik protein (BMP), Sonic Hedgehog ve fibroblast büyüme faktörünün HKH hücre farklılaşmasını kontrol ettiği gösterilmiştir.^[16,17]

Osteoblastik ve damarsal mikroçevre, HKH'nin çoğalma, farklılaşma, mobilizasyon ve homing gibi davranışlarının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Dolaşımdaki kök hücreler kemik iliği mikroçevresi ile temas geçerek, endotel ve adezyon molekülleri aracılığı ile buraya yerleşirler. Kök hücre faktörü kemik iliğinde stromal hücreler tarafından salınır ve HKH üzerindeki C-kit antijenine bağlanır. Kök hücre faktörünün, interlökin-1 (IL-1) IL-3 veya IL-6 ile kombinasyonları HKH'lerin eritroid ve miyeloid yönde çoğalmalarını sağlar. Sessiz fazdan çoğalma fazına geçmesi için uyarılar gereklidir. Kültür ortamına eritropoetin, G-CSF, GM-CSF veya M-CSF eklenmesi HKH'lerin miyeloid öncü hücrelere farklılaşmasını sağlar. Normal fizyolojik durumda, HKH ve erişkin kök hücreler, sessiz dönemde uzun süre kalabilirler. Hücre siklusu regülatörlerinden, p21 CIP1 ve p18 INK4C'in HKH'lerin sessiz kalmalarını düzenledikleri gösterilmiştir. Sessiz dönemlerinden ayrıldıklarında, kök hücreler intrinsek ve ekstrinsek uyarıcı sinyallerin etkisine bağlı olarak kendini yeniler ya da progenitor hücreye farklılaşırlar. Wnt sinyal yolağı, kök hücrenin kendini yenilemesinde anahtar faktördür. Notch ve Hedgehog sinyal yolları da HKH'nin kendisini yenilemesi için düzenleyici rol oynamaktadır. Diğer sinyaller olan BMP ve TGF- β yolları kök hücre proliferasyonunun negatif düzenleyicisidirler. Kemik morfojenik protein ve Wnt sinyali arasındaki karşılıklı etkileşim kök hücrenin geleceği için çok önemlidir. Pozitif ve negatif regülatörler arasındaki çok hassas denge kök hücrenin kendini yenileme ve farklılaşma yolunda gelişmesi *in vivo* olarak problemlili olabilir. Örneğin, Wnt sinyalinin kök hücre ya da progenitorlerde genetik değişikliğe uğraması, lösemi ve diğer kanserlerin gelişmesine yol açmaktadır.^[16,17]

Kordon Kanı

Hematopoetik kök hücre ve diğer öncül hücreler açısından zengin bir kaynak olduğu kabul edilen göbek kordon kanı son yıllarda çok sayıda hematolojik, onkolojik ve genetik hastalıkta allogeneik nakillerde başarıyla uygulanmıştır. 1980'li yılların başlarında bilim adamlarının yeni doğan bebeklerin kordon kanında da kemik iliğindeki benzer HKH'lerin bulunduğunu fark etmeleri ve göbek kordonu kanının, zengin bir kaynak olduğunun anlaşılması üzerine 1988'den beri tedavi amaçlı kullanılmaya başlanmıştır. 1988 yılında Fankoni aplastik anemi hastalığı bulunan bir çocuğun ilk kez kordon kanındaki kök hücreler ile tedavi edilmesinden bu yana, 6.000'den fazla hastada bağış kanları ile (allojenik) kordon kanı nakillerinde çok başarılı sonuçlar alınmıştır. Kordon kanındaki kök hücrelerin; kemik iliği kök hücrelerine oranla sayıca az olmalarına rağmen çoğalma potansiyeli açısından daha güçlü olduğu; Doku reddi denilen verici hücrelerin alıcı hücrelerine karşı geliştirdiği ölümcül reaksiyonlarından sorumlu bağışıklık sistemi hücrelerinin yeni doğanda henüz tam olarak fonksiyonel olmamasından ötürü doku reddi reaksiyonlarının görülme sıklığının daha az olduğunu; Ayrıca, kemik iliği ve periferik kan kök hücre nakillerinde sıklıkla gözlemlenen ve ölümcül olabilen sitomegalovirüs (CMV) gibi viral enfeksiyonların geçiş riski ile (plasenta bu tip enfeksiyonların çoğuna karşı doğal bir bariyer görevi gördüğünden) daha az karşılaşıldığını; kemik iliği ve periferik kan kök hücre nakillerinde doku tipi uygunluğunun 6 da 6 uyumluluğu söz konusuysen, kordon kanı kök hücre nakillerinde 6 da 4, hatta 6 da 3 uyum olduğu halde yapılmış olan nakillerde başarılı sonuçlar alındığını; radyasyon, yaşlanma, kimyasallar ve enfeksiyonlar gibi etkenler nedeniyle ister istemez zarar gören kemik iliği veya periferik kan kök hücrelerinin aksine kordon kanı kök hücrelerinin bu tür zararlı etmenlerle karşılaşmamış olmasından dolayı, daha genç ve sağlıklı hücreler olduğu söylenmektedir. Ayrıca kemik iliği kök hücrelerinin elde edilmesinde olduğu gibi cerrahi girişim gerektirmedikinden daha kolay bir işlem olması ve kordon kanı alımı sırasında ne anneye ne de bebeğe risk veya rahatsızlık oluşturmaması ve nakil tedavileri için gereksinim olduğunda gerekli testler yapılarak kullanıma hazır olarak saklandığından hızla elde edilebilir bir kaynak olması; Avrupa ve Dünya'da kordon kanını HKH kaynağı olarak, özellikle pediatrik hastalarda neredeyse ilk tercih haline getirmiştir.

Ancak bununla birlikte kemik iliği ve periferik kan kök hücreleriyle karşılaştırıldığında kordon kanı kök hücrelerinin yapılan çalışmalar ışığında bazı dezavantajları görülmüştür. Kordon kanından elde edilebilen kök hücre sayısı, ihtiyaç halinde 50 kg vücut ağırlığına sahip bireylerde (ki bu da aşağı yukarı 8-9 yaşa denk gelmektedir), kan sistemini yeniden inşa etmek amacıyla nakil tedavilerinde kullanılabilmektedir. Bir diğer olumsuz yönü ise engraftman dediğimiz kök hücrelerin alıcı kemik iliğine yerleşip kan yapımına başlaması olayı bu hücrelerle daha geç gelişmektedir. Son yıllarda iki, hatta üç ayrı vericiden elde edilen kordon kanı kök hücreleri ile yapılan çoklu kordon kanı nakilleriyle, erişkinlerde de başarılı sonuçlar alınması ile birlikte kök hücre nakline ihtiyacı olan erişkinlerde de kordon kanı kullanımı neredeyse rutin olarak uygulanmaya başlamıştır. Öte yandan, kordon kanı kök hücrelerinin laboratuvar koşullarında çoğaltılmasıyla (*ex vivo* ekspansiyon), erişkin hastalar için de tek bir ünite kordon kanının kolaylıkla kullanılabilir bir kaynak olması hedeflenmektedir. Bu amaçla, birçok merkez çalışmalarına devam etmekte ve çok yakın bir gelecekte olumlu sonuçların alınması beklenmektedir.

Hematopoetik kök hücrelerin kemik iliği yetersizliklerinde, metabolik hastalıklarda, bazı immün yetmezlik durumlarında ve kanserlerde kullanımı yanı sıra, çok sayıda deneysel araştırmada ve deneme amaçlı klinik çalışmalarda kullanılmaktadır.

Hematopoetik kök hücrelerin nöral hücrelere farklılaşması:

Miyeloablative yöntemlerle erkek donörden kadın hastalara yapılan kemik iliği nakillerinde kadın hastaların beyinlerinde donör Y kromozomunun olduğu immünohistokimyasal işaretleme ve floresan *in situ* hibridizasyon teknikleri ile gösterilmiştir. Beyindeki bu hücrelerin çoğu nöronal olmayıp, donör kaynaklı hücrelerin küçük bir kısmının oligodendrosit, astrosit, mikroglia, meningeal ve ependimal hücreleri içerdiği bulunmuştur. Kemik iliği mononükleer hücrelerin alt gruplarından elde edilen miyeloid kök hücre ve miyeloid antijen sunan hücre (MAPC)'lerin de insan, fare ve sıçanlarda *in vitro* olarak nöron, oligodendrosit ve astrositleri oluşturdıkları gösterilmiştir.^[18]

Hematopoetik kök hücrelerin kalp kası hücrelerine farklılaşması:

Akut miyokard enfarktüsü sonrasında kalp kasında, kendi kendine yeniden canlanması mümkün

olmayan nekrotik alanlar oluşmaktadır. Akut miyokard enfarktüsü sıçanlara, G-CSF ile mobilize edilmiş ve saflaştırılmış CD34+ kemik iliği prekürsörlerinin, enjekte edilmesiyle hasarlı kalp kas dokusunda yenilenme ve kalp fonksiyonlarının düzeltilmesinin amaçlandığı çalışmada revaskülarizasyon saptanmıştır.^[19] Miyokard enfarktüsü sonrası nekrotik kalp kası yenilenmesi ve kalp fonksiyonlarının düzeltilmesi amacıyla koroner damara veya lezyon içine, otolog kemik iliği kökenli hematopoetik prekürsör (CD133+) hücrelerinin kullanıldığı başarılı insan çalışmaları da vardır.^[20,21]

Hematopoetik kök hücrelerin hepatositlere farklılaşması:

Lethal dozda ışınlanmış dişi sıçanlara sinjeneik erkek sıçanlardan KIT yapılmış ve erkek donör kemik iliği kaynaklı hücrelerin dişi sıçanların karaciğerinde yamalandığı ve karaciğerin oval hücrelerine, bilier epitel hücrelerine ve hepatositlere diferansiye olduğu gösterilmiştir.^[22] Lagasse ve ark.^[23] ölümcül karaciğer yetmezliği ile sonuçlanan tip I tirozinemiye neden olan metabolik bir karaciğer hastalığı olan fumarylacetoacetate hidrolaz (FAH) eksikliği gösteren farelerde kök hücre diferansiyasyonuna yönelik yaptıkları çalışmada; kemik iliğinden köken alan hücrelerin fonksiyonel hepatositlere farklılaşabildiği ve erişkin kemik iliği kökenli kök hücrelerde FAH -/- fenotipinin varlığını göstermiş ve karaciğer fonksiyonunun korunduğunu ifade etmişler. Alison ve ark.^[24] yaptıkları çalışmada erkek fare donörlerden kemik iliği nakli yapılan dişi alıcıların karaciğerinde hepatositleri tanımlayan cytokeratin-8'in de eksprese edildiği donör kaynaklı Y kromozomu pozitif hücreler gösterilmiştir.

Hematopoetik kök hücrelerin pankreas adacık hücrelerine diferansiyasyonu:

Ianus ve ark.^[25] yaptıkları bir çalışmada, GFP-pozitif erkek fare kemik iliği hücrelerinin dişi farelere naklinden 4-6 hafta sonra alıcı farelerin pankreas adacık hücrelerinden GFP-pozitif hücreler izole edilmiştir. İzole edilen hücrelerde insülin için immünohistokimyasal ve Y kromozomu için FISH ile GFP-pozitif hücrelerin %2-3'ünün donör kaynaklı beta hücreler olduğu anlaşılmıştır. Kemik iliği kökenli hücrelerin *in vivo* pankreas adacık hücrelerine farklılaşabildiğini gösteren bu çalışmadan başka; alıcıdaki adacık hücrelerinin donör kaynaklı olduğu ve adacık hücreler için standart şartlarda *in vitro* koşullarda kültüre edildiklerinde kemik iliği kökenli hücrelerin

normal morfolojide oldukları ve glukoz ve glukagona benzer bir peptid olan exendin'e yanıt olarak insülin salgıladıkları gösterilmiştir.^[25,26]

STROMAL (MEZENKİMAL) KÖK HÜCRE

Bugünkü manada ilk mezenkimal kök hücre (MKH) tanımlaması 1999 yılında Pittenger ve ark.^[13] tarafından yapılan: "Kemik iliğinden köken alan ve uygun uyaranlarla üç temel seri; osteojenik, kondrojenik, adipojenik seriye farklılaşabilen CD73, CD54 (ICAM-1), CD105, CD39, CD49e (α 5-integrin) gibi belirteçleri eksprese eden uzantılı fibroblast-benzeri multipotent hücrelerdir."^[27,28]

Aynı zamanda mezoderm kökenli hücreler ile mezoderm kökenli olmayan çok çeşitli hücrelere farklılaştıkları gösterilmiştir.^[26] Mezenkimal kök hücreler veya progenitör hücrelerin öncelikli kaynağı kemik iliği olarak düşünülürse de sayısı gün geçtikçe artan diğer dokulardan da bu hücrelerin elde edilebileceği gösterilmiştir. Bu kapsamda Kordon Kanı, Göbek kordonundaki Wharton jölesi, plasenta, adipoz doku, dermis, kemik dış zarı, damarların adventisya tabakası ve periodontal ligament dokusundan MKH'ler elde edilmektedir.^[29-34]

Mezenkimal kök hücrelerin fibroblastlarla özellikle miyofibroblastlarla karıştırıldığına yönelik çeşitli yayınlar vardır. Mezenkimal kök hücrelerin miyofibroblastlara benzer şekilde α -SMA ve vimentin eksprese ettiği ancak miyofibroblastlardan farklı olarak düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörleri, desmin, CD14 ve CD31'i eksprese etmediği saptanmıştır. Mezenkimal kök hücrelerin karakterizasyonu çok önemlidir. Çeşitli kaynaklardan (kemik iliği, Wharton jölesi, adipoz doku vb.) elde edilen ve işlenmek üzere laboratuvara gelen materyaller; farklı yöntemler uygulanarak MKH'ler elde edilmektedir. Bu noktada yapılması gereken ilk kalite kontrol testi; elde edilen hücrelerin MKH olduklarının ispatlanması, yani karakterizasyonudur. Bu noktada MKH'lerin bilinen genel özelliklerinden yararlanılmaktadır. Uluslararası Hücre Tedavi Derneği'nin kriterlerine göre MKH'ler standart kültür ortamında en azından aşağıdaki kriterleri taşımalıdır:

1. Plastik yüzeylere yapışabilmeli (plastic-adherens);
2. Yüzeylerinde C105, CD73 ve CD90 eksprese etmeli ancak CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79 veya CD19 ve HLA-DR taşıyamaları

3. Osteoblast, adiposit and kondroblasta değişebilme kapasitesi göstermeleri
4. CD44, CD71, Stro-1 belirteçlerini taşımaları ve CD 106, CD166, CD29 gibi adezyon moleküllerine sahip olmaları beklenir.

Çeşitli dokularda destek hücresi olarak bulunmakta olan MKH'lerin miyeloid ve lenfoid hücre dönüşümleri yoktur. Destek doku hücresi olmaları ile ilişkili olarak çok sayıda molekül, sitokin, kemokin, enzim ve ekstraselüler matriks proteinlerini sentezlemektedir. Kemik iliği MKH'leri hematopoetik hücreler için gerekli makrofaj koloni stimüle eden faktör (M-CSF), Flt-ligand, kök hücre faktör (stem cell factor-SCF) gibi büyüme faktörlerini salgılamaktadır. Ayrıca MKH'lerden interlökin-1 (IL-1), IL-6, IL-7, IL-8, IL-11, IL-12, IL-14, gibi sitokinler yanında başlıca SDFalfa-1 (stromal derived factor alfa-1), monosit kemoatraktan protein olmak üzere kemokinler de sentezlenmektedir.^[35]

Mezenkimal kök hücreler çok sayıda deneysel araştırmalarda kullanılmalarının yanı sıra klinik kullanımlarda da ilgi odağı olmaktadır. Bunu sahip oldukları özelliklere borçludurlar: Laboratuvar ortamında kök hücre özelliklerini koruyarak kolaylıkla çoğaltılabilmesi; destek dokusuna ait hücrelere (kemik, kıkırdak, yağ, tendon, ligament) diferansiyasyonu birçok farklı doku hücresine (kalp, karaciğer, pankreas, sinir sistemi) transdiferansiyasyon kapasitelerinin olması; migrasyon yetenekleri sayesinde hasarlı bölgeye göç edebilmeleri ve göç ettikleri yerde hasarlı hücrelerle füzyona gitmeleri; çeşitli faktörler salgılayarak hasarlı hücre/doku tamirine katkı sağlaması; İmmünsüpresif/non-immünojenik özellikte olmaları ve anjiyojenik, antiapoptotik, anti-inflamatuvar etki göstermeleri hücresele tedavilerinde MKH'lerin öne çıkmasını sağlamaktadır.^[36-38]

Mezenkimal kök hücrelerin immünsüpresif, immünmodülatör ve anti-inflamatuvar etkileri nedeniyle klinik çalışmalarda en yaygın kullanım alanı allogeneik kemik iliği nakillerinde karşılaşılan bir sorun olan akut graft versus host hastalığını (AGVHD) tedavi etmeye yöneliktir. Özellikle steroid ve diğer immünsüpresif tedavilere dirençli ve mortalitesi çok yüksek olan ağır GVHD'de kullanımına yönelik dünyada 200; ülkemizde ise 250 civarında uygulama bildirilmiştir. Bu hastalarda majör doku uygunluk kompleksi sınıf II moleküllerini zayıf eksprese ettiklerinden doku uyumu aranmadan allogeneik MKH'ler kullanılabilir. Doku uyumu gözetmeksizin T lenfosit ve doğal öldürücü

hücrelerin çoğalmasını, sitotoksik aktivitesini ve sitokin üretimini azaltmaları B lenfositlerin çoğalmasını ve fonksiyonlarını baskılamaları nedeniyle AGVHD'de kullanılan MKH uygulamalarında %50'nin üzerinde olumlu yanıt alındığı görülmektedir.^[39,40]

Ayrıca immünmodülatuvar ve immünsüpresif etkileri nedeniyle otoimmün hastalıklarda da umut vaat eden çalışmalar vardır. Henüz klinik uygulamaya geçmemiş ancak olumlu sonuçlar alınmış olan az sayıda da olsa klinik deneme çalışmaları literatürde bulunmaktadır. Bu konuda deneysel araştırmalar olmakla beraber, klinik uygulama deneyimi günümüzde son derece kısıtlıdır. Multipl skleroz, amyotrofik lateral skleroz, sistemik lupus eritematozus gibi hastalıklarda deneme veya deneysel araştırma kapsamında kullanılmaya başlanmış, güvenle verilebildiği, hastalık belirtilerinde yavaşlama sağlanabileceği bildirilmiştir. Enflamatuvar hastalıklardan Crohn hastalığında ve Colitis ülseroza'da da pozitif etkiler saptanmıştır.

ORGANLARDA YERLEŞİK KÖK HÜCRELER

Birincil görevleri buldukları dokuda hücre ölümü veya doku hasarı meydana geldiğinde kısmen dokuyu tamir etmektir. Kök hücresi içerdiği bildirilen erişkin organ ve doku listesine her gün bir yenisi eklenmektedir; beyin, spinal kord, diş kökü, kan damarları, çizgili kas, derinin epitel tabakası, sindirim sistemi, kornea, retina, karaciğer ve pankreas. Nonembriyonik kök hücreler (Dokuya spesifik kök hücreler) dokularda nadir bulunur. Birincil görevleri buldukları dokuda hücre ölümü veya doku hasarı meydana geldiğinde kısmen dokuyu tamir etmektir. İnce bağırsaktaki kök hücreler sabittir (sürekli üretilmezler) ve fiziksel olarak oluşturdukları matür hücrelerinden kolaylıkla ayırt edilebilirler. Bu hücrelere yönelik olarak hala çok sayıda deneysel çalışma yürütülmektedir. Kalp kası (kardiyomyosit) kök hücresi; Nöronal kök hücreler; Sindirim sistemi epitel kök hücresi; Epidermal kök hücre; Kanseri kök hücresi vb.

Pek çok hastalık için hala hastalık mekanizmalarının tam olarak açıklanamadığı günümüzde; bir yandan doğru tedavi yöntemlerinin gerçekleştirilebilmesi için öncelikle bu hastalık mekanizmalarını aydınlatmaya yönelik çok sayıda çalışma yürütülürken; diğer taraftan hastalığın tedavisine yönelik tıp dünyasının umut beslediği kök hücrelerin bu hastalıklarda nasıl ve ne yolla etki edeceği üzerine de

eş zamanlı olarak çok sayıda araştırma yürütülmektedir. Hangi kök hücrenin hangi hastalığa hangi yolla uygulanmasının etkili olacağı net olarak bilindiğinde, insanlığın ölümsüzlük ütopyasına ulaşmasında çok büyük bir adım atılmış olacaktır.

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

- Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981;292:154-6.
- Thomson JA, Kalishman J, Golos TG, Durning M, Harris CP, Becker RA, et al. Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:7844-8.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145-7.
- Martin-Rendon E, Watt SM. Stem cell plasticity. *Br J Haematol* 2003;122:877-91.
- Martin-Rendon E, Watt SM. Stem cell plasticity. *Br J Haematol* 2003;122:877-91.
- Patapoutian A, Wold BJ, Wagner RA. Evidence for developmentally programmed transdifferentiation in mouse esophageal muscle. *Science* 1995;270:1818-21.
- Campbell KH, McWhir J, Ritchie WA, Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature* 1996;380:64-6.
- Amabile G, Meissner A. Induced pluripotent stem cells: current progress and potential for regenerative medicine. *Trends Mol Med* 2009;15:59-68
- Wobus AM. Potential of embryonic stem cells. *Mol Aspects Med* 2001;22:149-64.
- Trounson A. The production and directed differentiation of human embryonic stem cells. *Endocr Rev* 2006;27:208-19.
- Durand C, Dzierzak E. Embryonic beginnings of adult hematopoietic stem cells. *Haematologica* 2005;90:100-8.
- Dieterlen-Lièvre F, Pardanaud L, Bollerot K, Jaffredo T. Hemangioblasts and hemopoietic stem cells during ontogeny. *C R Biol* 2002;325:1013-20.
- 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.
- Reyes M, Dudek A, Jahagirdar B, Koodie L, Marker PH, Verfaillie CM. Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow. *J Clin Invest* 2002;109:337-46.
- Can A. Haematopoietic stem cells niches: interrelations between structure and function. *Transfus Apher Sci* 2008;38:261-8.
- Ross J, Li L. Recent advances in understanding extrinsic control of hematopoietic stem cell fate. *Curr Opin Hematol* 2006;13:237-42.
- Li Z, Li L. Understanding hematopoietic stem-cell microenvironments. *Trends Biochem Sci* 2006;31:589-95.
- Mezey E, Key S, Vogelsang G, Szalayova I, Lange GD, Crain B. Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:1364-9.
- Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burkoff D, Wang J, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001;7:430-6.
- Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003;361:45-6.
- Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003;107:2294-302.
- Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 2000;6:1229-34.
- Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 2000;6:1229-34.
- Alison MR, Poulosom R, Jeffery R, Dhillon AP, Quaglia A, Jacob J, et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* 2000;406:257.
- Ianus A, Holz GG, Theise ND, Hussain MA. In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *J Clin Invest* 2003;111:843-50.
- Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001;105:369-77.
- Chen ZX, Chang M, Peng YL, Zhao L, Zhan YR, Wang LJ, et al. Osteogenic growth peptide C-terminal pentapeptide [OGP(10-14)] acts on rat bone marrow mesenchymal stem cells to promote differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. *Regul Pept* 2007;142:16-23.
- Pansky A, Roitzheim B, Tobiasch E. Differentiation potential of adult human mesenchymal stem cells. *Clin Lab* 2007;53:81-4.
- İnan S, Özbilgin K. Kök hücre: Biyolojik ve klinik yaklaşım. *Sağlıkta Birikim Dergisi* 2009;1:57-65.
- Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991;9:641-50.
- Haynesworth SE, Baber MA, Caplan AI. Cell surface antigens on human marrow-derived mesenchymal cells are detected by monoclonal antibodies. *Bone* 1992;13:69-80.
- Erickson GR, Gimble JM, Franklin DM, Rice HE, Awad H, Guilak F. Chondrogenic potential of adipose

- tissue-derived stromal cells in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;290:763-9.
33. Toma JG, Akhavan M, Fernandes KJ, Barnabé-Heider F, Sadikot A, Kaplan DR, et al. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. *Nat Cell Biol* 2001;3:778-84.
 34. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 2004;364:149-55.
 35. Ünal Ş, Uçkan Çetinkaya D. Mezenkimal kök hücrelerin pediatrik klinik uygulama alanları. *Türkiye Klinikleri J Hem Onc-Special Topics* 2008;1:57-61.
 36. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006;8:315-7.
 37. Kim N, Cho SG. Clinical applications of mesenchymal stem cells. *Korean J Intern Med* 2013;28:387-402.
 38. Wang S, Qu X, Zhao RC. Clinical applications of mesenchymal stem cells. *J Hematol Oncol* 2012;5:19.
 39. Ringdén O, Uzunel M, Rasmusson I, Remberger M, Sundberg B, Lönnies H, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. *Transplantation* 2006;81:1390-7.
 40. Fang B, Song Y, Liao L, Zhang Y, Zhao RC. Favorable response to human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Transplant Proc* 2007;39:3358-62.