

Kök hücreler; mezenkimal kök hücreler ve güncel klinik uygulamaları

Stem cells; mesenchymal stem cells and current clinical applications

Senem Tekeli,^{1,2} Esra Arısu Naghavi,¹ Burak Gökçe,³ Gözde Sır,¹ Gürkan Yiğittürk,⁴
Türker Çavuşoğlu,^{3,4} Yiğit Uyanıkgil^{1,4,5}

¹Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

³Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁵Ege Üniversitesi Kordon Kanı, Hücre-Doku Uygulama ve Araştırma Merkezi, İzmir, Türkiye

ÖZ

Kök hücreler; kendilerini yenileyebilme, sınırsız çoğalabilme, kendilerinden başka hücrelere farklılaşabilme, hasarlı dokuya verildiğinde hasarlı yapıyı onarabilme özellikleri ile tanımlanan hücre tipidir. Kök hücreler bol miktarda bulunmaları, kolay elde edilebilmeleri, birçok hücre tipine farklılaşarak çoğalabilmeleri, alıcılara güvenli ve etkin bir şekilde nakledilebilmeleri nedeniyle rejeneratif tıp uygulamalarında tercih edilmektedir. Bu derlemede, klinikte uygulamaları bulunan ve en önemli kök hücre kaynaklarından biri olan mezenkimal kök hücreler tanıtılacak, klinikteki kullanım alanları ve çalışmalarından örnekler verilecektir.

Anahtar sözcükler: Klinik uygulama; mezenkimal kök hücre; kök hücre.

ABSTRACT

Stem cells are defined as a type of cell that have the features of self-renewal, unlimited proliferation capacity, potential of differentiation into other cell types and ability to repair damaged structure when given to damaged tissue. Stem cells are preferred for regenerative medical applications because of their abundance, being easily obtained, ability to proliferate by differentiating into many cell types and being transplantable safely and effectively to recipients. In this review, we introduce mesenchymal stem cells as one of the most important sources of stem cells that have clinical applications and give examples of their usage areas in the clinic and of studies.

Keywords: Clinical application; mesenchymal stem cells; stem cell.

KÖK HÜCRELER

Kök hücreler; sınırsız çoğalabilme, kendilerini yenileyebilme, kendilerinden başka hücrelere farklılaşabilme, hasarlı dokuya verildiğinde dokuyu onarabilme özellikleri ile tanımlanan hücre tipidir. Bol miktarda bulunmaları, kolay elde edilebilmeleri, birçok hücre tipine farklılaşarak çoğalabilmeleri, otolog veya allojenik alıcılara güvenli ve etkin bir şekilde nakledilebilmeleri nedeniyle rejeneratif tıp uygulamalarında tercih edilmektedir.^[1-3]

Kök hücreler farklılaşma kapasitelerine göre totipotent, pluripotent, multipotent, oligopotent ve unipotent olarak adlandırılır. Totipotent kök hücreler teorik olarak bir organizmayı oluşturma kapasitesine sahip hücrelerdir. Zigot, organizmayı oluşturacak tüm hücre tiplerine farklılaşma potansiyeline sahip olan ilk totipotent hücredir. Totipotent hücreler, ekstra embriyonik yapı olan göbek kordonu, amniyon kesesi, Wharton jeli ve plasantayı oluşturarak pluripotent, multipotent ve unipotent özellik gösterebilirler. Pluripotent hücreler ise tüm germ yapraklarına (endoderm,

ektoderm, mezoderm) ait dokuları oluşturabilme kapasitesine sahiptirler. Fetal veya yetişkin hücre tiplerini oluşturabilirler fakat bir organizmayı oluşturacak yeteneğe sahip değildirler. Multipotent kök hücrelerin farklılaşması ise daha sınırlı sayıdadır. İnsan vücudunda sadece birkaç hücre türüne dönüşebilen hücrelerdir. Laboratuvar ortamında gerekli koşullar ve sinyaller sağlandığında daha fazla hücre türüne dönüşebilmeleri mümkündür. Unipotent hücreler, gelişmiş bir organizmada tek bir hücre grubuna farklılaşma yeteneği olan hücrelerdir. Doku yenilenmesinde de rol oynarlar fakat geniş doku hasarlarının tamiri için pluripotent kök hücrelere ihtiyaç vardır.^[1-3]

KÖK HÜCRELERİN ÖZELLİKLERİ

Fonksiyonel olarak farklılaşmamış, potansiyel olarak heterojen olan kök hücrelerin başlıca üç temel özelliği vardır.

Self-renewal (kendini yenileyebilme)

Kök hücreler, özelleşmeden çoğalmakta, gerektiğinde organ ve dokulara özgü öncü hücrelere dönüşebilmektedir. Bölünme sırasında bir yandan öncü hücreye farklılaşacak olan hücreyi üretirken diğer yandan kendi yedeğini almaktadırlar. Hücrenin kaderi iç ve dış faktörlerle çizilir. Bunlar; asimetrik hücre bölünmesi, mikro çevre (niş), hücre-hücre temasları, adezyon molekülleri, hücreler arası bağlantı kompleksleri, ekstraselüler matriks bileşenleri, büyüme faktörleri ve sinyal yolları aracılığıyla belirlenip sürdürülür. Hücre kaderindeki en önemli belirleyici asimetrik hücre bölünmesidir. Hücrenin kendini yenilemesi ve farklılaşması arasındaki denge için bu şarttır. Asimetrik hücre bölünmesi iç ve dış faktörlerin sıkı dengesiyle gerçekleşir.^[3] Farklı mikro çevrelerde bulunan hücrelerin kaderleri de farklı olmaktadır. Nişi oluşturan hücre dışı matriks bileşenleri, komşu hücreler ve salgı proteinleri kök hücrelerin sayısını kontrol eder.

Doku onarımı, doku hacmi genişlemesi ve embriyonun gelişim sürecinde gerekli olan yeni hücre gereksinimini karşılayabilmek için simetrik bölünme de gereklidir. Bu durumda kök hücreler öncü hücrelere dönüşerek devreye girerler ve çok sayıda bölünme kapasitesine sahiptirler.^[2-4]

Plastisite (farklılaşma)

Farklılaşma işlevsel olarak olgun bir hücre olma yolunda geçirilen biyokimyasal ve fenotipik olaylar

bütünüdür. Gen ifadesinin yönlendirmesi ya da kendi programıyla gerçekleşir. Hücredeki sitoplazmik farklılıklar, asimetrik hücre bölünmesi, hücre dışı matriks proteinleri, kararlanma aşamaları, morfogener, histon ve gen metilasyonları, hücreler arası bağlantı kompleksleri, epigenetik kontrol, sinyal yollarının kombine etkisiyle gerçekleşen karmaşık olaylar bütünüdür.

Farklılaşma ilk olarak, blastokist aşamasındaki hücre kitlesinin trofoblast mı yoksa iç hücre kitlesi mi olacağını kararlanmasıyla başlar. İç hücre kitlesindeki hücrelerin epiblast mı, hipoblast mı olacağı ise ikinci kararlanma aşamasıyla, 16-32 blastomerli evrede başlar. İlk kararlanmada niş ve sitoplazmik özgün proteinlerin kutuplaşma bölgeleri ve asimetrik hücre bölünmesi etkilidir. İkinci kararlanmada ise transkripsiyon faktörleri etkilidir. Hücre epiblast olarak ileride üç germ yaprağını, hipoblast olarak vitellüs kesesini ve trofoblast olarak plasentaya ait kısımları oluşturabilme yetisine sahip olur.^[3,5]

En önemli mekanizma epigenetik kontroldür. Gametler haricindeki her hücre aynı genoma sahip olduğu için bunları birbirinden ayıran etken gen ifadesidir. Kök hücre, öncül hücre ya da özelleşmiş hücre mi olacağı buna bağlıdır. Burada DNA ve histon metilasyonunun rolü önemlidir. Farklılaşmış hücrelerde heterokromotin, farklılaşmamış hücrelerde ökromotin alanlar vardır. Farklılaşmayla birlikte pluripotensiyi sağlayan genlerin ifadesi azalan bu olay DNA metilasyonu ile gerçekleşir. Oct-4 ve Sox-2 gibi bir grup gen, DNA metiltransferazlar tarafından metillenir, promotör bölgeleri bağlanır ve ifade silinir.^[3,5,6]

Farklılaşmada rol oynayan epigenetik faktörler üzerinde sinyal iletiminin etkisi vardır. Gen ifadesinin baskılanması ya da sürdürülmesi, alınan sinyallerle ligand-reseptör bağlantısı kurulduktan sonra transkripsiyon faktörlerinin aktivitesiyle gerçekleşir. Wnt/ β -katenin yolağı, Delta/Notch, JAK/STAT, Mapk-ERK gibi yollar, retinoik asit (RA), lösemi inhibitör faktör (LIF), transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β), kemik morfogenetik protein (BMP), fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi büyüme faktörleri ve sitokinler, Sonic Hedgehog (Shh) gibi morfogener etkilidir. Büyüme faktörleri bir ligant gibi davranıp reseptöre bağlanır. Reseptör, tirozin kinaz etkinliği kazanır ve sitoplazmadaki bazı proteinleri fosforiller, fosforile olan proteinlere, transkripsiyon faktörleri

SH₂ (Src homoloji₂) kısmından bağlanır ve hücre farklılaşmaya yönelir.^[3]

Pluripotensi (köklülük)

Üç germ yaprağı ve türevlerine farklılaşabilme yeteneğidir. Köklülük terimi, kök hücreleri diğer hücrelerden ayırt eden hücresel ve moleküler özellikleri tanımlamak için kullanılır. Hücrelerin yüzeyinde yer alan, hücrede sinyal yolları veya hücre-hücre yapışma molekülleri olarak rol oynayan belirteçler kullanılarak kök hücre tipi belirlenebilir. Bu belirteçlerden birçoğu farklılaşma kümeleri (Clusters of differentiation; CD) olarak bir başlık altında toplanmıştır.^[7,8]

KÖK HÜCRE KAYNAKLARI

Kök hücreler temelde elde edildikleri kaynağa göre ikiye ayrılırlar; embriyonik kök hücreler ve embriyonik olmayan kök hücreler. Embriyonik kök hücreler, embriyonun erken gelişim sürecinde blastokistin iç hücre kitlesinden elde edilen hücrelerdir. 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.^[9]

Embriyonik kök hücreler (EKH)

Blastokist aşamasındaki embriyonun (4-5 günlük) iç hücre kitlesinde yer alan, pluripotent karakterde yani gelişim sırasında embriyoya ait üç germ tabakasına (endoderm, mezoderm, ektoderm) ve bu tabakalardan köken alan farklı hücre tiplerine dönüşebilme yetkinliğinde olan hücrelerdir.^[10] Embriyonik kök hücreler farklılaşmadan sınırsız bölünebilme kapasitesindedir ancak *in vitro* koşullarda farklılaşmadan çoğalmaları için uygun kültür ortamının sağlanması gereklidir. Embriyonik kök hücrelerin tedavide kullanımında en son nokta uygun besi ortamı ve kültür şartları sağlandığında, indüklenerek farklılaşmasının istenilen yönde kontrol edilebiliyor olmasıdır.^[9]

Embriyonik olmayan kök hücreler (yetişkin kök hücreler)

Hematopoetik ve mezenkimal kök hücre (MKH)'ler en çok çalışılanlar olup multipotent özellikte olan yetişkin kök hücreler sınıfına girerler. Kas ve iskelet sistemi, kalp ve damar sistemi, sinir sistemi, sindirim sistemi, epitel doku, testis ve ovaryum kök hücreleri unipotent özellikteki diğer yetişkin kök hücrelerdir.^[9]

Hematopoetik kök hücreler: Asimetrik hücre bölünmesi geçirerek yeni bir kök hücre üretebilecekleri gibi farklı hücre tiplerine de dönüşebilirler. Yanı sıra plastisite, homing ve mobilizasyon özellikleri vardır. Kaynakları; Kemik iliği, periferik kan ve kordon kanıdır. Herbir kaynağın kendi içinde avantajları ve dezavantajları olduğu gibi, birbirlerine göre de avantaj ve dezavantajları vardır. Bu kapsamda kaynak olarak birine diğerinden daha iyi bir kaynaktır demek anlamlı olmaz. Fakat günümüze kadar yapılmış çalışma sayısı ve nakil deneyimleri dikkate alınacak olursa kemik iliği HKK'leri daha öndedir.^[11,12]

Mezenkimal kök hücreler; 1970 yılında Friedenstein ve ark.^[13] fare kemik iliği stromasını başka bir dokuya nakletmiş ve burada stroma hücrelerinin yağ, kıkırdak, kemik ve retikulum hücrelerine dönüşebildiğini göstermişlerdir. Böylece kemik iliğinde hematopoetik olmayan öncü hücrelerin var olduğu anlaşılmış ve bu hücreler fibroblast kolonisi oluşturan birim "CFU-f" (colony-forming unit-fibroblast) etkinliğiyle ölçülerek fibroblastların öncüsü hücreler olarak tanımlanmıştır. 1999'da Pittenger ve ark.^[14] genel özellikleri plastik yüzeye yapışmaları ve *in vitro* olarak çoğaltılabilmeleri olan bu hücreleri *in vitro* ortamda adiposit, kondrosit ve osteoblasta farklılaştırmıştır. Birden fazla hücre tipine farklılaşabilmeleri ve *in vitro* çoğalabilmeleri nedeniyle bu hücreler MKH olarak adlandırılmıştır.^[10]

Mezenkimal kök hücreler; Mezoderm tabakasından köken almakla birlikte vücudun bazı bölgelerinde nöral krista kaynaklı mezenkim dokudan da gelişirler. Kemik iliği, adipoz doku, göbek kordonu, kordon kanı, karaciğer, beyin, diş pulpası, deri ve fetal dokularda bulunan farklılaşmamış, çoğalma kapasitesi yüksek, kendini farklılaşmadan yenileyebilme özelliğine sahip, mezodermal farklılaşma yetisi çok fazla olan kök hücrelerdir.^[15,16] Mezenkimal kök hücreler kemik, kıkırdak, kas gibi farklı hücre tiplerine dönüşüm kapasitelerinin yanında ürettikleri birçok büyüme faktörü ve sitokinler nedeni ile immün baskılayıcı ve trofik etki potansiyeline de sahiptir.^[15] Heterojen bir topluluk olan bu hücreleri henüz ortak belirteçlerle tanımlamak zordur. 2008 yılında Uluslararası Hücresel Tedavi Derneği (ISCT)'nin fikir birliğiyle MKH olarak sınıflandırmak için;

- a. Hücrelerin kültür ortamında plastik yüzeye tutunabilmeleri,
- b. Yüzeylerinde CD105 (SH2), CD73 (SH3/4) ve CD90 gibi hematopoetik olmayan hücre yüzey belirteçlerini eksprese ederlerken, CD45, CD34, CD14 veya CD11b, CD79 veya CD19 ve HLA-DR (İnsan lökosit antijeni-DR) gibi tipik hematopoetik belirteçleri eksprese etmemeleri,
- c. *İn vitro* ortamda kemik, yağ ve kıkırdak hücrelerine farklılaşabilmeleri gerekmektedir.^[17]

En çok kullanılan MKH kaynakları; kemik iliği, adipoz doku ve kordon kanı olmakla birlikte yoğunluklu olarak kemik iliği ve adipoz doku kaynaklı olduğu görülmektedir. Kordon kanı, kemik iliği ve yağ doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinin koloni oluşturma kapasitelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada en yüksek kapasite adipoz kaynaklı MKH'ler, onu takiben kemik iliği ve en düşük kapasite ise kordon kanı MKH'lerinde bulunmuştur.^[15] İzolasyon başarılarına da bakılan çalışmada kemik iliği ve yağ kaynaklı olanlar %100'e yakınken, kordon kanı MKH'lerinde maksimum %30-38 oranlarda olduğu gösterilmiştir.^[15,18] Multipotent MKH izolasyonunda asıl kaynak kemik iliği olmasına rağmen aspirasyon işleminin oldukça invaziv oluşu, farklılaşma ve dayanıklılık potansiyellerinin yaşla birlikte azalması alternatif kaynaklar geliştirmeyi gündeme getirmiştir.^[15] Alternatif bir kaynak olan kordon kanı MKH'lerinin elde edilme yöntemi daha az invazivdir. Yağ doku ve kemik iliği MKH ile benzer fenotip, antiapoptotik özellik ve morfolojileri paylaşırlar fakat izolasyon verimliliği daha düşük olduğu için kullanımları kısıtlıdır.^[15,16,18] Kemik iliği ve yağ dokusu kaynaklı MKH'ler benzer morfoloji ve immün fenotiplere sahip olmalarına rağmen, yağ dokusu daha yüksek konsantrasyonda MKH içerir. Fakat kemik iliği kaynaklı olan MKH'ler daha uzun süredir çalışıldığı için klinik güvenilirliği ve uygulamasına ait veriler de daha fazladır.^[15,19,20]

Kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler (Kİ-MKH): Organizmanın en zengin kök hücre kaynaklarından biri sayılan kemik iliği stroması hematopoetik ve MKH'leri, endotelial hücreleri, fibroblastları, retikulum hücrelerini, adipositleri ve osteogenik hücreleri bir arada içeren heterojenik bir hücre popülasyonudur. Mezenkimal kök hücreler kemik iliği stromasındaki tüm bu hücrelerin yaklaşık %0.01'ini oluşturmaktadır. Esas görevleri

çeşitli büyüme faktörlerini, sitokinlerini ve ekstraselüler matris proteinlerini sentezleyip regüle ederek, hücre-hücre etkileşimlerini sağlamak ve böylece hematopoez sürecine doğrudan ve dolaylı olarak destek sağlamaktır.^[21]

Kemik iliği kaynaklı MKH'ler günümüzde kemik iliği aspirasyonu ile fikal veya perkollun yoğunluk gradiyentinden faydalanarak toplanan mononükleer hücrelerin plastik yüzeye yapışarak çoğaltılması ve pasajlanmasıyla ya da manyetik boncuklar kullanılarak floresan aktive hücre ayırma (FACS) ile yapılan taramayla elde edilirler.^[21]

Bu hücrelerin; interlökin 1 alfa (IL1 α), interlökin 1 beta (IL1 β), interlökin (IL) 6, 7, 8, 11, 14, 15, hepatosit büyüme faktörü (HGF), LIF, FGF, tümör nekrozis faktörü (TNF) gibi kemokin ve sitokinleri sentezleyip regüle ederek hematopoez sürecine destek sağlamanın dışında, farklılaşma yeteneklerinin fazla olması, migrasyon özelliği, hasarlı doku tamirine katkı sağlaması, hasarlı olan hücrelerle füzyon yeteneğinin olması, genetik geçmişlerinin kararlı olması, tümör oluşturma riskinin diğer kök hücre türlerine göre az olması klinik tedavilerde ön plana çıkmasını sağlamıştır. Ayrıca immün modülatör özellikleri ile Kİ-MKH'leri tümör nekrozis faktörü alfa (TNF- α), IL1 α , IL1 β , interferon gama (IFN γ), dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β), prostaglandin E2 (PGE2), nitrik oksit (NO), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi faktörler salgılayarak immün sistem üzerine etki ederler.^[22]

Yağ dokusu kaynaklı mezenkimal kök hücreler (YD-MKH): Yağ dokunun damarca zengin stromal (Stromal vascular fraction; SVF) bölgesinden elde edilirler. Farklı izolasyon protokolleri olmakla birlikte genellikle (Zuk ve ark.^[23] 2001) aynı yöntem kullanılır. Doku ya da lipoaspirat yıkandıktan sonra kollojenaz tip 1/2 enzimi ile inkübe edilir. Enzim aktivitesi inhibisyonunu takiben uygun besi ortamı ve serumla santrifüj edilerek dip kısımda kalan pellet toplanır, ekim yapılan hücreler %70-80 yoğunluğunla geldiğinde pasajlanır.^[23]

Yağ dokusu kaynaklı-MKH'leri ile ilgili ilk çalışmalar 1992'de araştırmacıların domuzdan alınan preperitoneal yağı kullanmasıyla başlamıştır. Adipoz kök hücreleri, subkütanöz ve omental yağ içeren beyaz yağ dokusunun her türünde bulunabilmektedir. Yağ dokusu kaynaklı-MKH'ler

fibroblast benzeri morfoloji gösterir ve normal diploid karyotipe sahiptir. Uzun süreli kültüre dayanıklı olan bu hücreler *in vitro* kolay çoğalır. Dondurma çözme işlemine rağmen multipotensi özelliklerini kaybetmezler. Adiposit, osteoblast, kondrosit serisi dışında hepatosit, iskelet, kalp ve düz kas, endotel, hematopoetik, nöral ve epitel hücrelere farklılaştığı da gösterilmiştir.^[24]

Yağ doku kaynaklı MKH'ler için; Pozitif belirteçler CD9, CD13, CD29, CD44, CD54, CD73, CD90, CD105, CD106, CD117, CD140b, CD146, CD166 ve HLA I olarak; Negatif belirteçler ise CD11b, CD14, CD19, CD31, CD34, CD45, CD79 α , CD133 ve CD144 olarak bilinmektedir.^[9]

Yağ dokusu kaynaklı-MKH'lerin; tip 1 ve 2 diyabetes mellitus, karaciğer sirozu, Crohn hastalığı, Graft versus host hastalığı (GVHD), miyokard enfaktüsü, lipodistrofi, Alzheimer, Parkinson, inme, vitiligo, böbrek ve kalp yetmezliği, fekal inkontinans, osteoartrit, osteoporoz, menisküs gibi ortopedik hastalıklar, kanser ve immün hastalıklarda bağışıklık sistemini baskılayıcı ve düzenleyici, multipl skleroz (MS), sekonder progresif MS, nörodejeneratif hastalıklar, omurilik yaralanmaları ve travmatik sinir kesileri gibi sinir sistemi hastalıkları, diş hekimliğinde implantlar, plastik cerrahide yanık tedavisi gibi rejeneratif amaçlı, osteogenesis imperfekta gibi kalıtsal hastalıklarda kullanıma ait deneysel ve klinik çalışmalar vardır. Yağ dokusu kaynaklı MKH'ler düşük immünoje-

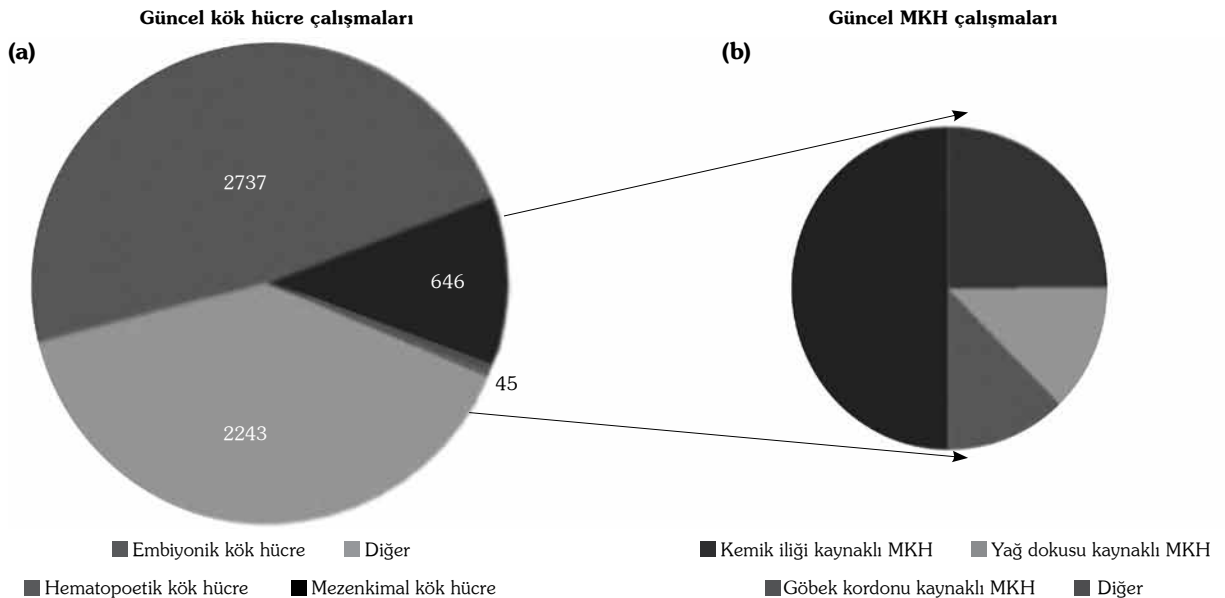
nitesi, yüksek modülatör ve immünsüpresif özelliklere sahip olduğu için klinikte kullanılmaktadır. Bununla birlikte belli bazı hastalıkların tedavisi için klinik çalışmalar halen devam etmektedir.^[25]

MEZENKİMAL KÖK HÜCRELER İLE İLGİLİ GÜNCEL KLİNİK UYGULAMALAR

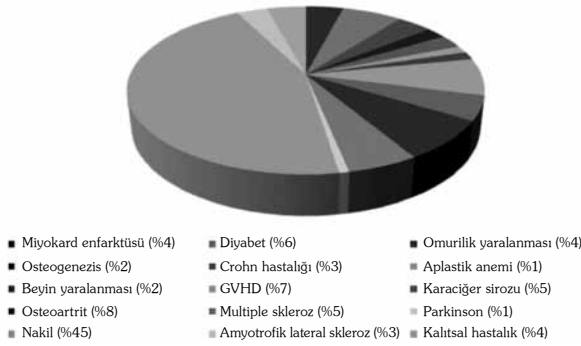
Mezenkimal kök hücreler kemik, kırık, kas gibi farklı hücre tiplerine dönüşüm kapasitelerinin yanında ürettikleri birçok büyüme faktörü ve sitokinler nedeni ile immün baskılayıcı ve trofik etki potansiyeline sahiptir. Bu özellikleriyle 1990 yılından beri klinik kullanıma uygunluğuyla ilgili birçok çalışma gerçekleştirilmiştir.^[15]

2016 yılı itibarı ile Uluslararası Sağlık Örgütü tarafından desteklenen www.clinicaltrials.gov sitesinde kayıtlı 5665 kök hücre çalışması olduğu bilgisine erişilmektedir. Bu çalışmalardan 643'ü ise MKH'lerin etkinliğini göstermeye çalışmaktadır (Şekil 1, 2).

Graft versus host hastalığı, kemik iliği nakillerinde donörden alınıp hastaya kök hücrelerle birlikte verilen sağlıklı T-lenfositlerin aracılık ettiği şiddetli immünolojik reaksiyon sonucu organ fonksiyon bozukluğu ile giden kompleks bir klinik sendrom olup allojenik kök hücre naklinden (KHN) sonra en önemli mortalite ve morbidite nedeni olarak kabul edilir. Mezenkimal kök



Şekil 1. (a) Kök hücre bazlı toplam klinik çalışma verileri. (b) Mezenkimal kök hücre çalışma verileri. MKH: Mezenkimal kök hücre.



Şekil 2. Mezenkimal kök hücre ile tedavi edilen yaygın hastalık yüzdeleri. GVHD: Graft versus host hastalığı.

hücreler son zamanlarda immünmodülatör etkileri ve immün yanıtı düzenlemeleri nedeniyle GVHD tedavisinde alternatif bir yaklaşım olarak kullanılmaya başlamışlardır. Mezenkimal kök hücreler, T hücre çoğalmasını, temel doku uyumluluğu kompleksi (MHC) gözetmeden baskırlar. Mezenkimal kök hücrelerin immünsüpresif ve immünmodülatör etkileri ifade ettiği ve içerdiği yüzey molekülleriyle ilişkilidir. Donörden gelen protein parçaları alıcının T hücreleri tarafından ayırt edilir. Tüm çekirdekli hücreler, antijeni MHC I sınıfı aracılığıyla T hücrelerine iletirler. Mezenkimal kök hücreler insan lökosit antijeni (HLA) tarafından kodlanan MHC I sınıfına yüzey moleküllerini az seviyede bulundurduğu için immün yanıtı neden olmazlar. İkinci olarak, genellikle MKH'ler, lenfosit ve antijen sunucu hücrelerin yüzeyinde bulunan MHC II yüzey moleküllerini içermedikleri için doku uyumu aranmaz.^[26,27]

Graft versus host hastalığı, allogeneik hematopoietik kök hücre nakillerinden sonra alıcının farklı dokularına karşı saldırıya geçen donör T-lenfositlerine bağlı olarak gelişen morbidite ve mortalitesi yüksek, yaygın bir komplikasyon tablosudur. Görülme oranı tedavi dozuna, HLA uyumuna, alıcının yaşına ve hastalığın evresine göre %20-70 arasında değişmektedir. Akut GVHD (aGVHD) için standart ilk tedavi kortikosteroidlerdir. Fakat hastaların %30-50'sinde iyileşme görülmezken 3. ve 4. evre GVHD gelişebilmekte, toksisite ve enfeksiyon riski artabilmektedir. Literatüre göre steroidlere dirençli GVHD olgularında sağkalım oranı %10 ve altındadır.^[28,29]

Multipotent progenitor hücreler olan MKH'ler ekstsansif immünmodülatör etkilerinden dolayı GVHD'de kullanılmaktadır. Mezenkimal kök hü-

renin GVHD'de kullanımının ilk başarılı denemesi 2004 yılında LeBlanck ve ark.^[30] tarafından yapılmıştır. Steroide dirençli 4. evre GVHD'li dokuz yaşında bir olguda uygulanan MKH tedavisinin iyileştirici etkisi görülmüş, ancak bir süre sonra relaps yapan olguda tekrar edilen MKH tedavisi sonrası kalıcı bir yanıt alındığı bildirilmiştir.^[31]

Erbey ve ark.^[32] 2016 yılında; yaş ortalaması 7 olan 33 pediatrik hastaya, totalde 68 doz Kİ-MKH infüze etmişler ve medyan doz olarak $1.18 \times 10^6 / \text{kg}$ hücre uygulamışlardır. Hastalardan 18'sinde tam, yedisinde kısmi yanıt alınmış, ancak sekizinde tedaviye yanıt alınamamıştır. Mezenkimal kök hücre infüzyonu sırasında ve hemen sonrasında hiçbir hastada komplikasyon görülmemiştir. Araştırmacılar iki yıllık sağkalım yüzdelerini tam ve kısmi yanıt alınan hastalarda %63.8, tedaviye yanıt alamadıkları hastalarda ise %29.4 olarak bildirmişlerdir. Birinci doz uygulamasından sonraki 100. gün kümülatif insidanslara bakılan çalışmada nakle bağlı mortalite oranı MKH infüzyonuna yanıt alınamayan grupta %46.6 iken tam ve kısmi yanıt alınan gruplarda mortalite olmamıştır. Araştırmacılar ayrıca kronik GVHD (cGVHD) gelişen toplam 20 hastadan sekizinin yaşadığını ve bu hastaların MKH infüzyonuna tam ve kısmi yanıt veren hastalar olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak steroidlere dirençli pediatrik aGVHD olgularında MKH infüzyonunun güvenilir ve efektif bir tedavi olduğunu fakat cGVHD gelişen aGVHD olgularında kısıtlı bir etki gösterdiğini bildirmişlerdir.^[32]

Boruckowski ve ark.^[33] 2016'da serumsuz kültür ortamında çoğaltılan göbek kordonu MKH'lerini (Wharton Jeli) akut ve kronik GVHD gelişmiş 10 olguda çalışmışlar, alıcı kilosuna göre 1.5×10^6 hücre/kg medyan doz infüze ettikleri aGVHD yedi hastadan dördünde, cGVHD gelişmiş üç hastadan ikisinde tam ve kısmi yanıt alındığını bildirmişlerdir. Yanıt alınan altı hastada beş (%83.3), yanıt alınamayan dört hastada ise bir (%25) sağkalım kaydedilmiştir. Kök hücre tedavisine yanıt veren hastalardan ikisi tam remisyon gösterirken dördünün indirgenmiş yoğunlukta immünsüpresif tedavi aldığı ve infüzyonla bağlantılı ciddi bir yan etki görülmediği bildirilmiştir. Sonuç olarak göbek kordonu MKH'lerinin aGVHD ve cGVHD olgularında güvenilir ve etkili bir tedavi yöntemi olduğu fakat ileri düzey çalışmalarla terapötik koşulların optimizasyonu yapıp, Wharton jeli MKH'lerinin etkilerinin artırılması gerektiği bildirilmiştir.^[33]

Wu ve ark.^[34] 2015 yılında yaptıkları çalışmada; kordon kanından izole edilmiş flow sitometri ile MKH'ye özgül saflık karakterizasyonu bildirilen, osteojenik ve adipojenik farklılaşma yetileri kanıtlan MKH'lerin allojenik hematopoetik kök hücre nakli sonrasında GVHD gelişen olgulardaki iyileştirici etki ve immün regülatör mekanizması sunulmuştur. T lenfosit alt grupları, doğal öldürücü (NK), treg ve dendritik hücreleri kapsayan immün hücreler; IL-17 ve TNF- α gibi sitokinleri, MKH transfüzyonu öncesi ve sonrası olarak izlemişler. Birincil hastalık relaps yapmaksızın GVHD semptomları ve nakle bağlı komplikasyonlarda belirgin bir iyileşme gösterilmiştir. CD3⁺, CD3⁺ ve CD4⁺, CD3⁺ ve CD8⁺ eksprese eden hücreler belirgin bir şekilde azalıp NK hücrelerinde herhangi bir değişiklik gözlenmezken, CD4⁺ ve CD8⁺ Treg hücreleri artarak dört haftada en yüksek seviyeye ulaşmış; NK, TNF- α ve dendritik hücrelerin azalarak iki haftada en düşük seviyeye ulaştığı kaydedilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda MKH'nin GVHD üzerinde iyileştirici etkisi yanı sıra vericinin kemik iliğinin alıcının kanserini yenmeye yardım etmesi için istenilen bir durum olan graft versus lösemi (GVL) etkisini de kaybetmediği gösterilmiştir.^[34]

Progresif ve destrüktif seyir gösteren kronik inflamatuvar bir gastrointestinal sistem hastalığı olan Crohn hastalığı'nda oluşan fistül onarımında MKH uygulamasıyla ilgili faz I ve faz II klinik çalışmaları yürütülmektedir. Garcia-Olmo ve ark.^[35] Faz I çalışmalarında, MKH'ye spesifik ekspresyonları gösterilmiş ve büyüme hızları çalışılmış otolog adipoz doku kaynaklı MKH uygulayarak güvenilirliği ve uygulanabilirliği çalışılmıştır. Kültüre edilen hücrelerin üçüncü pasajında verilen MKH'lerin etkisi dört hastanın sekiz adet fistülünde sekiz hafta boyunca haftada bir kontrol edilerek fistüllerinin altısında sekizinci haftanın sonuna doğru dışa bakan kısımlarının epitelizasyonu ile kapandığı, diğer iki fistülün ise kısmen düzeldiği görülmüştür. Hastaların bir yıllık kontrolünde herhangi bir yan etki görülmediği bildirilmiştir.^[36] Aynı grup faz II çalışmasında uyguladıkları MKH ile fibrin yapıştırıcı kıyaslamışlar ve MKH'nin etkinliğinin daha fazla olduğunu göstermişlerdir.^[35] Yine aynı grubun 2012 yılında yaptıkları çalışmada; allojenik AD-MKH uygulamasını denemişler, altı aylık kontrollerde tedaviyle ilgili bir yan etki saptamadıklarını bildirmişlerdir. İnfüzyondan 24 hafta sonra %69.2 olguda fistül akıntısı indirgenmiş, %56.3 olguda tedavi edilen

fistüllerde tam kapanma, %30'unda ise var olan tüm fistüllerin tamamen kapandığı bildirilmiştir. Mezenkimal kök hücrenin lokal enjeksiyonunun kolaylığı ve tedaviye yanıt oranlarının yüksek oluşu nedeniyle preanal fistüllerde kullanımının yararlı olduğunu belirtmişlerdir.^[37]

Mezenkimal kök hücrelerin sistemik olarak vücuda verildikten sonra hedef bölgeye yönelmesi, *in vivo* düzenleyici parakrin etkileri ve yamalanmayı sağlama özellikleri onların osteoartrit gibi hastalıkların tedavisinde de yer bulmasını sağlamıştır.

Kıkırdak defektleriyle ilgili olarak Koh ve ark.^[38] 2016'da yayınladıkları çalışmada; sadece metotreksat (MTX) tedavisi ve fibrin yapıştırıcısıyla AD-MKH ve MTX tedavisi karşılaştırılmıştır. Üçüncü 12. ve 24. ayında izlenen hastalarda ağrı ve semptomlarda AD-MKH infüze edilen hasta gruplarında diğerlerine göre artan bir iyileşme varken, artroskopi sırasında alınan biyopsiler ve diğer alt skorlarda (günlük/rekreasyon aktivite, spor, yaşam kalitesi) her iki grupta da başarılı bir yenilenme kaydedilmiş olup gruplar arası anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.^[38]

Osteogenesis imperfecta (OI) tedavisinde MKH kullanımı üzerine prenatal ve postnatal klinik çalışmalar yapılmaktadır. OI; COL1A1 ya da COL1A2 genlerinde 1500 farklı dominant mutasyondan kaynaklanan kollajen sentezi bozukluğunun neden olduğu genetik bir hastalıktır. Götherström ve ark.^[39] 2014 yılında bildirdikleri klinik çalışmalarında prenatal ve postnatal olarak ortak donörden alınan MKH retransplantasyonu uygulamışlardır. Araştırmacılar 2.8×10^6 hücre/kg olarak uyguladıkları tedavi sonrası düşük seviyede kemik engraftmanı, lineer büyüme, kırık ve mobilite de iyileşme saptadıklarını bildirmişlerdir. Otuz birinci haftasındaki fetüse infüze ettikleri 30×10^6 hücre/kg sonuçlarına göre hamilelik ve infantil evrede yeni bir kırık gelişmediği rapor edilmiş, 13 aylık olana kadar takip edilen hastada normal gelişim ve normal uzama izlenmiştir. Postnatal infüzyonun gerçekleştirildiği hastada da 19. ayına kadar normal gidişat izlenmiştir. Sonuçlar doğrultusunda prenatal ve postnatal OI tespit edilen olgulara allojenik MKH retransplantasyonunun güvenilir ve etkili olduğunu bildirilmiştir.^[39]

Osteoartrit tedavisinde, allojenik kemik iliği kaynaklı MKH'nin denendiği bir başka çalışmada

primer hastalıkları radyolojik bulgularla gösterilmiş 30 hasta iki gruba ayrılmış, kontrol grubuna hyaluronik asit (60 mg tek doz), deney grubu hastalarına ise yine eklem içi 40×10^6 MKH uygulanmış. Bir yıl sonraki kontrollerde ağrı, yaşam kalitesi ve hareket kısıtlılığında azalma olduğu kaydedilmiş. Kök hücre uygulanan hastalarda zayıf kıkırdak alanlarda belirgin bir artış kaydedilmiş olup, allojenik MKH'nin güvenilirliği ve uygulanabilirliği belirtilmiştir.^[40] Osteoartrit üzerine MKH'nin farklı dozlarının uygulandığı bir başka çalışmada, faz I çalışmalarında düşük, orta ve yüksek doz kök hücre tedavilerinden üçer hastalık grup oluştururken, faz II çalışmalarında dokuz hasta üzerinde yüksek dozu deneyerek devam etmişler ve bu hastaların altıncı aydaki radyolojik, klinik, artroskopik ve histolojik sonuçlarına göre kıkırdak defektlerinde azalma; medial femoral ve tibial kondillerdeki kıkırdak hacminde artış bildirmişlerdir. Ayrıca histolojik verilere göre ince hiyalin kıkırdak benzeri rejenerasyonlar gösterilmiştir. Sonuçlar doğrultusunda MKH infüzyonunda yüksek doz uygulamasının yararlı ve etkili olduğu vurgulanmıştır.^[41]

Plastik cerrahide, otolog/allojenik MKH nakilleri, rekonstrüktif ve estetik amaçla sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Rigotti ve ark.^[42] 2007 yılında yara iyileşmesi üzerine yayınladıkları çalışmalarında radyasyon hasarlı dokular üzerine AD-MKH uygulaması yapmışlar ve radyoterapi sonrası hasar gören dokularda kök hücre kaynaklı iyileşme saptadıklarını bildirmişlerdir.^[42] Yine yağ kaynaklı MKH'lerin çalışıldığı bir başka çalışmada geniş keratokist nedenli hemimaksillektomi uygulanan bir hastada GMP koşullarında hazırlanmış kök hücre ile trikalsiyum fosfat granüllerini titanyum mesh içinde prefabrike edilmiş ve elde edilen dokunun mikrovasküler flep olarak maksillaya nakli sağlanmış doku biyopsilerinde yeniden şekillenen kemik varlığının tespit edildiği bildirilmiştir.^[43] Tanikawa ve ark.nın^[44] 2013 yılında yaptıkları klinik çalışmalarında; 14 adet kraniyofasiyal mikrozomili hastaya karakterizasyonu sağlanmış ve canlı hücre sayısı hesaplanmış otolog YD-MKH'li ve kök hücre kontrol grubu olarak greft uygulanmıştır. Çalışmada izolasyon sonrası CD73 ve CD105 ekspresyonları %95 olarak tespit edilirken kök hücre uygulanan gruptaki hastalarda yağ volümü sağkalımı %88, kontrol grubunda ise %54 oranında tespit edilmiştir.^[44]

Kardiyak hastalıklarda, MKH'lerin kullanımı,

bilinen en eski kullanım alanlarından biridir. İskemik kalp hastalıklarında umut kaynağı olan MKH'ler geniş randomize ve uzun dönemli klinik çalışmalara ihtiyaç duymaktadır. Yapılan klinik çalışmalarda amaç; MKH'lerin fonksiyonel olarak miyositlere dönüşmesini sağlamak, kalbin yerleşik hücrelerini hasarlı bölgeye yönlendirmek ve MKH'lerce salgılanan solubl faktörlerle inflamatuvar olayları baskılamak olmuştur.^[9]

Akut miyokard enfarktüsü (AMİ) üzerine Chen ve ark.^[45] 2004 yılında AMİ geçiren 69 hastaya koroner damar yoluyla otolog kemik iliği MKH'sini vermiş ve ventrikül işlevlerini artırdığını göstermiştir. Williams ve ark.^[46] ise 2011 yılında kronik iskemik kalp hastalığı (KİKH) olan sekiz hastaya miyokard içine otolog Kİ-MKH vermiş, bölgesel olarak kasılabilirliğinin arttığını ve diyastol/sistol sonu hacimlerin küçüldüğünü gözlemlemişlerdir.^[46] Mathiasen ve ark.^[47] tarafından 2015 yılında yapılan randomize çift-kör ve plasebo-kontrollü bir çalışmada, iskemik kalp yetmezliği olan 30 ila 80 yaş aralığında bulunan 37 hastaya miyokard içine otolog Kİ-MKH, 18 hastaya ise plasebo verilmiştir. Birinci son nokta altı aylık takipte sol ventrikül sistol sonu hacmi (LVESV) değişikliğinin MRG ve bilgisayarlı tomografi ile ölçülerek belirlenmiştir. Altıncı ayda MKH'li grupta LVESV değeri azalırken, plasebo grubunda artmıştır.^[47] Kronik total oklüzyonu, (KTO) üzerine Li ve ark.^[48] 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada; 15 hastaya rastgele göbük kordonundan elde edilmiş MKH'leri nakletmişler ve hastaların enfarktüs alanlarında belirgin bir azalma saptarken, sol ventriküldeki ejeksiyon fraksiyonunun belirgin bir şekilde arttığını gözlemlemişlerdir.^[48]

Nörolojik hastalıklarda, MKH'ler özellikle omurilik yaralanmaları, MS, Parkinson ve amiyotrofik lateral skleroz (ALS) gibi hastalıkların tedavisinde ilgi çekici olmuştur. Mezenkimal kök hücreler bu hastalıkların tedavisinde kullanılmakta olup, uzun dönem sonuçları beklenmektedir. Multipl skleroz üzerine Yamout ve ark.^[49] 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada 10 hastaya otolog Kİ-MKH'leri uygulamış 3-6 aylık takipte hastaların yarısında iyileşme gözlemlemişlerdir. Yine 2010 yılında Karussis ve ark.^[50] 19 ALS ve 15 MS hastasına damar içi/intratekal kombinasyonla otolog MKH vermişlerdir. Altı ila 28 ay süresince takip edilen bu hastalarda hiçbir yan etki gözlemlenmemiştir. Connick ve ark.^[51] 2012'de yaptıkları bir çalışmada

sekonder progresif MS olan 10 hastaya kg başına $1-6 \times 10^6$ hücre olacak şekilde MKH verip, 10 ay boyunca hastaları izlemişlerdir. Hastalardan birinde tedaviden sonra döküntü, ikisinde de bakteriyel enfeksiyon gözlemlenmiştir. Hastaların görme yetilerinde iyileşme kaydedilen bu çalışma MKH'lerin yapısal, fonksiyonel, fizyolojik olarak tedaviyi ve sinir hücrelerinin korunmasını desteklediğini göstermiştir. 2014 yılında Lufriu ve ark.^[52] tarafından yapılan randomize, plasebo kontrollü faz II çalışmasında dokuz MS hastasına kilogram başına $1-2 \times 10^6$ olacak şekilde MKH damar içi yolla verilmiştir. Hastalarda daha düşük proinflatuar T hücre profili, IFN-c oranında azalma gibi tutarlı immünolojik değişiklikler gözlemlenmiştir. Sonuç olarak hastalara verilen MKH'ler immünomodülatör özellikleri ile inflamatuar parametrelerin düşürülmesini sağlamıştır.

Amiyotrofik lateral skleroz hastalarında Oh ve ark.^[53] 2015 yılında yaptıkları faz-1 çalışmasında intratekal enjeksiyonla iki kez tekrarlanan otolog Kİ-MKH tedavisinin güvenilirliğini denemişlerdir. Çalışma sekiz hastayla gerçekleştirilmiş. Hastalardan 26 gün aralıkla iki kez Kİ-MKH izole edilmiş, hücreler 28 gün boyunca *in vitro* çoğaltılmış ve otolog beyin-omurilik sıvısı (BOS) içinde süspansiyon hale getirilmiştir. Klinik ve laboratuvar ölçümleri ilk enjeksiyondan 12 ay sonra değerlendirilmeye başlanmış ve değerlendirme için ALS fonksiyonel değerlendirme ölçeği (ALSFRS-R), Appel ALS skoru kriterleri kullanılmıştır. Hastalarda 12 ay boyunca ciddi bir yan etki gözlemlenmemiş, ALSFRS-R skorundaki düşüş hızı altı aylık takip sürecinde hızlı olmadığı saptanmıştır. Çalışmanın sonunda ALS hastalarına iki kez intratekal enjeksiyonla verilen otolog Kİ-MKH'lerin güvenli ve uygulanabilir olduğu kanısına varılmıştır. Petrou ve ark.^[54] 2016 yılında yayımladıkları çalışmada ALS olan 26 hastaya nörotrofik faktör (NTF) salgılayan MKH'leri tek doz olarak nakletmişlerdir. Faz I/II kısmında MKH'ler erken evre ALS olan altı hastaya kas içine verilirken, hastalığı daha ileri boyutta olan diğer bir altı hastaya intratekal olarak verilmiştir. Klinik çalışmanın Faz 2a kısmında ise erken-evre ALS olan 14 hastaya otolog MKH-NTF'ler kas içine ve intratekal kombin olarak verilmiştir. Hastaların %87'sinde ALS fonksiyonel derecelendirme skorunda düşüş, tedaviden altı ay sonra hastalarda en az %25 iyileşme gözlemlenmiş olan bu çalışmayla ALS hastaların-

da NTF salgılayan MKH tedavisi ile klinik yarar sağlanabileceği sonucuna varılmıştır.^[54]

Omurilik yaralanması üzerine, Park ve ark.^[55] 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada; 10 hastaya intramedüller olarak MKH vererek uzun dönem sonuçlarını değerlendirmişlerdir. Hastalardan MKH'ler kemik iliğinden izole edilmiş, dört hafta boyunca kültüre edilerek çoğaltılmıştır. Hastalara 8×10^6 MKH doğrudan omuriliğe, 4×10^7 MKH ise intradural boşluğa enjekte edilmiş olup dört ve sekiz hafta sonra her bir hastaya ilave olarak 5×10^7 hücre daha enjekte edilmiştir. Sonuçları değerlendirmek için MRG ve elektrofizyolojik kayıtları alınmış, altı aylık takipte 10 hastanın altısında üst ekstremitenin motor gücü iyileşme göstermiş, üçünün günlük yaşam aktiviteleri artarak iyileşmiş ve MRG'lerde boşluk boyutunun azalması gibi değişimler gözlemlenmiştir. Ayrıca hastalar elektrofizyolojik olarak da gelişme göstermişlerdir. Hastalarda MKH nakliyle ilişkili hiçbir yan etki gözlemlenmemiştir. Sonuç olarak uzun dönem takipte omurilik yaralanması bulunan 10 hastanın üçünde üst ekstremitenin motor gücünde, günlük yaşamsal aktivitelerinde ve belirgin bir şekilde MRG görüntülerinde gelişme gözlemlenmiştir. Omurilik yaralanmalarında kök hücre kullanımı henüz yenidir, hastalar hücrelerin yanında fizyoterapi de aldıkları için henüz klinik başarının altında yatan mekanizma tam olarak ortaya konulamamıştır.

Karaciğer sirozu ve hepatit hastalığı için MKH'ler umut kaynağı olmuştur. Bu alanda Mohamadnejad ve ark.^[56] yaptıkları faz I çalışmasında dekompanse karaciğer siroz hastalığı bulunan dört hastaya periferik damar yoluyla otolog MKH (31.73×10^6) vermişlerdir. Değerlendirirken birincil olarak yapılan işlemin güvenliği ve fizibilitesi, ikincil olarak ise son dönem karaciğer hastalığı skoru ve hastaların yaşam kalitesi göz önünde bulundurulmuş, hastalarda takip sürecinde herhangi bir yan etki gözlemlenmemiştir. Son-dönem karaciğer hastalığı skoru 1'den itibaren 3-4 puan artarak iyileşme göstermiştir. Ayrıca takibin sonunda dört hastanın da yaşam kalitesi artmıştır. Yaşam kalitesi değerlendirme ölçeği (kısa form 36; KF-36) göstermiştir ki fiziksel komponent skalası değeri 31.44'ten 65.19'a, mental komponent skalası değeri ise 36.32'den 65.55'e yükselerek iyileşme göstermiştir.^[56]

Tıp 1 diyabet tedavisinde kullanılan ilk hücresele tedavi "Edmonton yöntemi" olarak bilinen ve donörün pankreas dokusundan çeşitli enzimatik işlemler sonrasında elde edilen hücrelerin, çeşitli kemoterapötiklerle immün sistemi baskılanmış olan alıcıya nakledilmesiyle 1999 yılında uygulanmıştır.^[57,58] Yapılan ilk uygulamalar çok verimli bir sonuç göstermemiştir.^[59] Her ne kadar yöntem geliştirilmiş olsa da donör sayısındaki azlık, elde edilen hücre sayısında yetersizlik ve alıcının uzun süre boyunca immün sisteminin baskılanması, söz konusu yöntemin kullanılabilirliğini azaltmaktadır.^[60-62] Günümüzde halen diyabet tedavisine yönelik MKH nakli çalışmaları deneysel aşamada ve çeşitli kök hücre tiplerinde yapılan araştırmalara göre CD34⁺ kemik iliği ve kordon kanı kök hücreleri, diğer kaynaklardan elde edilen mezenkimal hücrelere oranla daha iyi sonuçlar vermiştir.^[63,64] Lakin elde edilen sonuçlar, metabolik işleyişi çok yönlü olan diyabet için tam anlamıyla yeterli görülmemekte, çeşitli fizyolojik unsurlar değerlendirilerek daha çok veri ile karşılaştırılması gerekmektedir.^[65]

Sonuç olarak, ilk olarak kanserli hastalarda kemik iliğini desteklemesi amacıyla klinikte kullanılan MKH'ler daha sonra GVHD, Crohn hastalığı başta olmak üzere organ nakillerinde, akut ve kronik böbrek yetmezliğinde, tip 2 diyabet, osteoartrit, MS gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Konu ile ilgili deneyimler arttıkça tedaviler üzerine etkileri daha da aydınlanacak ve rejeneratif tıp alanında yeni ufuklar açacaktır.

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

- Fortier LA. Stem cells: classifications, controversies, and clinical applications. *Vet Surg* 2005;34:415-23.
- Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar. 1, Ankara: Türkiye Bilimler Akademisi; 2009.
- Can A. A Concise Review on the Classification and Nomenclature of Stem Cells. *Turk J Haematol* 2008;25:57-9.
- Sağsöz H, Ketani MA. Kök hücreler. *Dicle Üniv Vet Fak Derg* 2008;2:29-33.
- Rossant J. Stem cells and early lineage development. *Cell* 2008;132:527-31.
- Santos F, Hendrich B, Reik W, Dean W. Dynamic reprogramming of DNA methylation in the early mouse embryo. *Dev Biol* 2002;241:172-82.
- Weissman IL. Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: barriers and opportunities. *Science*. 2000;287:1442-6.
- Cavaleri F, Schöler H. Molecular Basis of Pluripotency. In: Lanza R, editor. *Essential of Stem Cell Biology*. San Diago: Academic Press; 2009. p. 39-60.
- Can A. Kök Hücre, Biyolojisi Türleri ve Tedavide Kullanımları. Ankara: Akademisyen Kitabevi; 2014. s. 327-426.
- Kirschstein RL. Stem cells: scientific progress and future research directions. National Institutes of Health, Washington: Department of Health and Human Services; 2001.
- Wang JC, Doedens M, Dick JE. Primitive human hematopoietic cells are enriched in cord blood compared with adult bone marrow or mobilized peripheral blood as measured by the quantitative in vivo SCID-repopulating cell assay. *Blood* 1997;89:3919-24.
- Müller-Sieburg CE, Cho RH, Thoman M, Adkins B, Sieburg HB. Deterministic regulation of hematopoietic stem cell self-renewal and differentiation. *Blood* 2002;100:1302-9.
- Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet* 1970;3:393-403.
- 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.
- Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 2006;24:1294-301.
- Hu L, Hu J, Zhao J, Liu J, Ouyang W, Yang C, et al. Side-by-side comparison of the biological characteristics of human umbilical cord and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Biomed Res Int* 2013;2013:438243.
- 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.
- Rebelatto CK, Aguiar AM, Moretão MP, Senegaglia AC, Hansen P, Barchiki F, et al. Dissimilar differentiation of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, and adipose tissue. *Exp Biol Med (Maywood)* 2008;233:901-13.
- Harris DT. Stem cell banking for regenerative and personalized medicine. *Biomedicine* 2014;2:50-79.

20. Harel A. Cryopreservation and Cell Banking for Autologous Mesenchymal Stem Cell-Based Therapies *Cell & Tissue Transplantation & Therapy* 2013;5:1-7.
21. Tocci A, Forte L. Mesenchymal stem cell: use and perspectives. *Hematol J* 2003;4:92-6.
22. Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood* 2007;110:3499-506.
23. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001;7:211-28.
24. Berzins UB, Brūvere R, Eivazova G, Kozlavskā T. Adipose-derived stem cells cultured in autologous serum maintain the characteristics of mesenchymal stem cells. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences* 2010;64:106-13.
25. Harasymiak-Krzyzanowska I, Niedojadlo A, Karwat J, Kotula L, Gil-Kulik P, Sawiuk M, et al. Adipose tissue-derived stem cells show considerable promise for regenerative medicine applications. *Cell Mol Biol Lett* 2013;18:479-93.
26. Vianello F, Dazzi F. Mesenchymal stem cells for graft-versus-host disease: a double edged sword? *Leukemia* 2008;22:463-5.
27. Blanc KL, Rasmusson I, Sundberg B, Götherström C, Hassan M, Uzunel M, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *The Lancet* 2004;363:1439-41.
28. Bacigalupo A. Management of acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol* 2007;137:87-98.
29. Couriel D, Caldera H, Champlin R, Komanduri K. Acute graft-versus-host disease: pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Cancer* 2004;101:1936-46.
30. Le Blanc K, Barrett AJ, Schaffer M, Hägglund H, Ljungman P, Ringdén O, et al. Lymphocyte recovery is a major determinant of outcome after matched unrelated myeloablative transplantation for myelogenous malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:1108-15.
31. Ograczyk E, Kowalewicz-Kulbat M, Wawrocki S, Fol M. Immunosuppression - tough ally in torrid time. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2015;69:1299-312. [Abstract]
32. Erbey F, Atay D, Akcay A, Ovalı E, Öztürk G. Mesenchymal Stem Cell Treatment for Steroid Refractory Graft-versus-Host Disease in Children: A Pilot and First Study from Turkey. *Hindawi Publishing Corporation Stem Cells International Volume*; 2016.
33. Boruczowski D, Gladysz D, Ruminski S, Czaplicka-Szmaus I, Murzyn M, Olkowicz A, et al. Third-party Wharton's jelly mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant acute and chronic graft-versus-host disease: a report of 10 cases. *Turk J Biol* 2016;40:493-500.
34. Wu QL, Liu XY, Nie DM, Zhu XX, Fang J, You Y, et al. Umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells ameliorate graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation through multiple immunoregulations. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2015;35:477-84.
35. Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I, Pascual JA, Del-Valle E, Zorrilla J, et al. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: a phase II clinical trial. *Dis Colon Rectum* 2009;52:79-86.
36. García-Olmo D, García-Arranz M, Herreros D, Pascual I, Peiro C, Rodríguez-Montes JA. A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum* 2005;48:1416-23.
37. de la Portilla F, Alba F, García-Olmo D, Herreras JM, González FX, Galindo A. Expanded allogeneic adipose-derived stem cells (eASCs) for the treatment of complex perianal fistula in Crohn's disease: results from a multicenter phase I/IIa clinical trial. *Int J Colorectal Dis* 2013;28:313-23.
38. Koh YG, Kwon OR, Kim YS, Choi YJ, Tak DH. Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells With Microfracture Versus Microfracture Alone: 2-Year Follow-up of a Prospective Randomized Trial. *Arthroscopy* 2016;32:97-109.
39. Götherström C, Westgren M, Shaw SW, Aström E, Biswas A, Byers PH, et al. Pre- and postnatal transplantation of fetal mesenchymal stem cells in osteogenesis imperfecta: a two-center experience. *Stem Cells Transl Med* 2014;3:255-64.
40. Vega A, Martín-Ferrero MA, Del Canto F, Alberca M, García V, Munar A, et al. Treatment of Knee Osteoarthritis With Allogeneic Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells: A Randomized Controlled Trial. *Transplantation* 2015;99:1681-90.
41. Jo CH, Lee YG, Shin WH, Kim H, Chai JW, Jeong EC, et al. Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the knee: a proof-of-concept clinical trial. *Stem Cells* 2014;32:1254-66.
42. Rigotti G, Marchi A, Galiè M, Baroni G, Benati D, Krampera M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. *Plast Reconstr Surg* 2007;119:1409-22.
43. Mesimäki K, Lindroos B, Törnwall J, Mauno J, Lindqvist C, Kontio R, et al. Novel maxillary reconstruction with ectopic bone formation by GMP adipose stem cells. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2009;38:201-9.
44. Tanikawa DY, Agüena M, Bueno DF, Passos-Bueno MR, Alonso N. Fat grafts supplemented with adipose-derived stromal cells in the rehabilitation of patients with craniofacial microsomia. *Plast Reconstr Surg* 2013;132:141-52.

45. Chen SL, Fang WW, Ye F, Liu YH, Qian J, Shan SJ, et al. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004;94:92-5.
46. Williams AR, Trachtenberg B, Velazquez DL, McNiece I, Altman P, Rouy D, et al. Intramyocardial stem cell injection in patients with ischemic cardiomyopathy: functional recovery and reverse remodeling. *Circ Res* 2011;108:792-6.
47. Mathiasen AB, Qayyum AA, Jørgensen E, Helqvist S, Fischer-Nielsen A, Kofoed KF, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment in patients with severe ischaemic heart failure: a randomized placebo-controlled trial (MSC-HF trial). *Eur Heart J* 2015;36:1744-53.
48. Li X, Hu YD, Guo Y, Chen Y, Guo DX, Zhou HL, et al. Safety and efficacy of intracoronary human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell treatment for very old patients with coronary chronic total occlusion. *Curr Pharm Des* 2015;21:1426-32.
49. Yamout B, Hourani R, Salti H, Barada W, El-Hajj T, Al-Kutoubi A, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis: a pilot study. *J Neuroimmunol* 2010;227:185-9.
50. Karussis D, Karageorgiou C, Vaknin-Dembinsky A, Gowda-Kurkalli B, Gomori JM, Kassis I, et al. Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol* 2010;67:1187-94.
51. Connick P, Kolappan M, Crawley C, Webber DJ, Patani R, Michell AW, et al. Autologous mesenchymal stem cells for the treatment of secondary progressive multiple sclerosis: an open-label phase 2a proof-of-concept study. *Lancet Neurol* 2012;11:150-6.
52. Llufriu S, Sepúlveda M, Blanco Y, Marín P, Moreno B, Berenguer J, et al. Randomized placebo-controlled phase II trial of autologous mesenchymal stem cells in multiple sclerosis. *PLoS One* 2014;9:113936.
53. Oh KW, Moon C, Kim HY, Oh SI, Park J, Lee JH, et al. Phase I trial of repeated intrathecal autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in amyotrophic lateral sclerosis. *Stem Cells Transl Med* 2015;4:590-7.
54. Petrou P, Gothelf Y, Argov Z, Gotkine M, Levy YS, Kassis I, et al. Safety and Clinical Effects of Mesenchymal Stem Cells Secreting Neurotrophic Factor Transplantation in Patients With Amyotrophic Lateral Sclerosis: Results of Phase 1/2 and 2a Clinical Trials. *JAMA Neurol* 2016;73:337-44.
55. Park JH, Kim DY, Sung IY, Choi GH, Jeon MH, Kim KK, et al. Long-term results of spinal cord injury therapy using mesenchymal stem cells derived from bone marrow in humans. *Neurosurgery* 2012;70:1238-47.
56. Mohamadnejad M, Alimoghaddam K, Mohyeddin-Bonab M, Bagheri M, Bashtar M, Ghanaati H, et al. Phase I trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with decompensated liver cirrhosis. *Arch Iran Med* 2007;10:459-66.
57. Shapiro AMJ, Lakey JRT, Ryan EA, Korbitt GS, Toth E, Warnock GL, et al., Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 2000;343:230-8.57. Scully T. Diabetes in numbers. *Nature* 485(7398):S2-3, 2012.
58. Scully T. Diabetes in numbers. *Nature* 2012;485:2-3.
59. Bretzel RG, Jahr H, Eckhard M, Martin I, Winter D, Brendel MD. Islet cell transplantation today. *Langenbecks Arch Surg* 2007;392:239-53.
60. Hirshberg B. Lessons learned from the international trial of the edmonton protocol for islet transplantation. *Curr Diab Rep* 2007;7:301-3.
61. McCall M, Shapiro AM. Update on islet transplantation. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2:a007823.
62. Shapiro AM, Ricordi C, Hering BJ, Auchincloss H, Lindblad R, Robertson RP, et al. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med* 2006;355:1318-30.
63. El-Badri N, Ghoneim MA. Mesenchymal stem cell therapy in diabetes mellitus: progress and challenges. *J Nucleic Acids* 2013;2013:194858.
64. Pileggi A. Mesenchymal stem cells for the treatment of diabetes. *Diabetes* 2012;61:1355-6.
65. El-Badawy A, El-Badri N. Clinical Efficacy of Stem Cell Therapy for Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis. *PLoS One* 2016;11:151938.