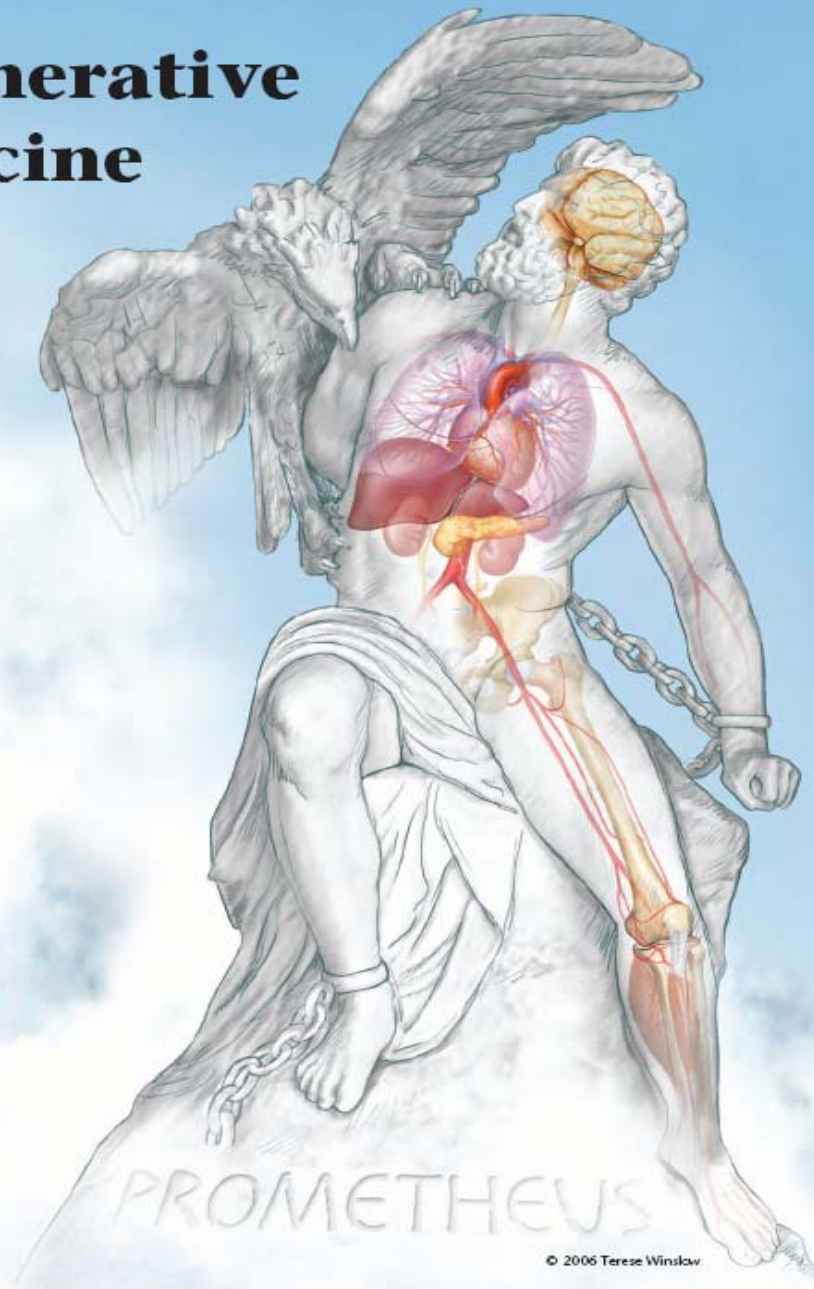


KÖK HÜCRE TEKNOLOJİLERİ

Sevda IŞIK

Regenerative Medicine 2006



© 2006 Terese Winslow

Kök Hücre Nedir?



- Farklı hücre tiplerine dönüşme potansiyeline ve kendini yenileme gücüne sahip olan hücrelere kök hücre denmektedir.

Kök Hücre Çalışmalarının Tarihçesi

- 1878 vücut dışında ilk memeli yumurtasını dölleme girişimi.
- 1959 Amerika'da IVF yöntemiyle ilk hayvan (tavşan) elde edilmiştir.
- 1978 ilk IVF bebek Louise BROWN dünyaya gelmiştir.
- 1981 Evans, Kaufman ve Martin in vitro şartlarda ilk olarak fare embriyonal kök hücrelerini elde etmiştir.
- 1994 IVF yöntemiyle oluşturulan insan blastositlerinin kültürasyonu yapılmıştır.

- 1995-96 primat embriyonik kök hücreleri in vitro şartlarda Rhesus maymunundan elde edilmiştir.
- 1998 James Thomson ark. ilk defa insan embiyonik kök hücrelerini izole etmiştir.
- 1998 Gearhart ve ark. ise ilk embriyonik germ hücrelerini izole etmiştir.
- 2001 embriyonel kök hücrelerin direkt farklılaşmasını sağlayacak yöntemler geliştirilmiştir.

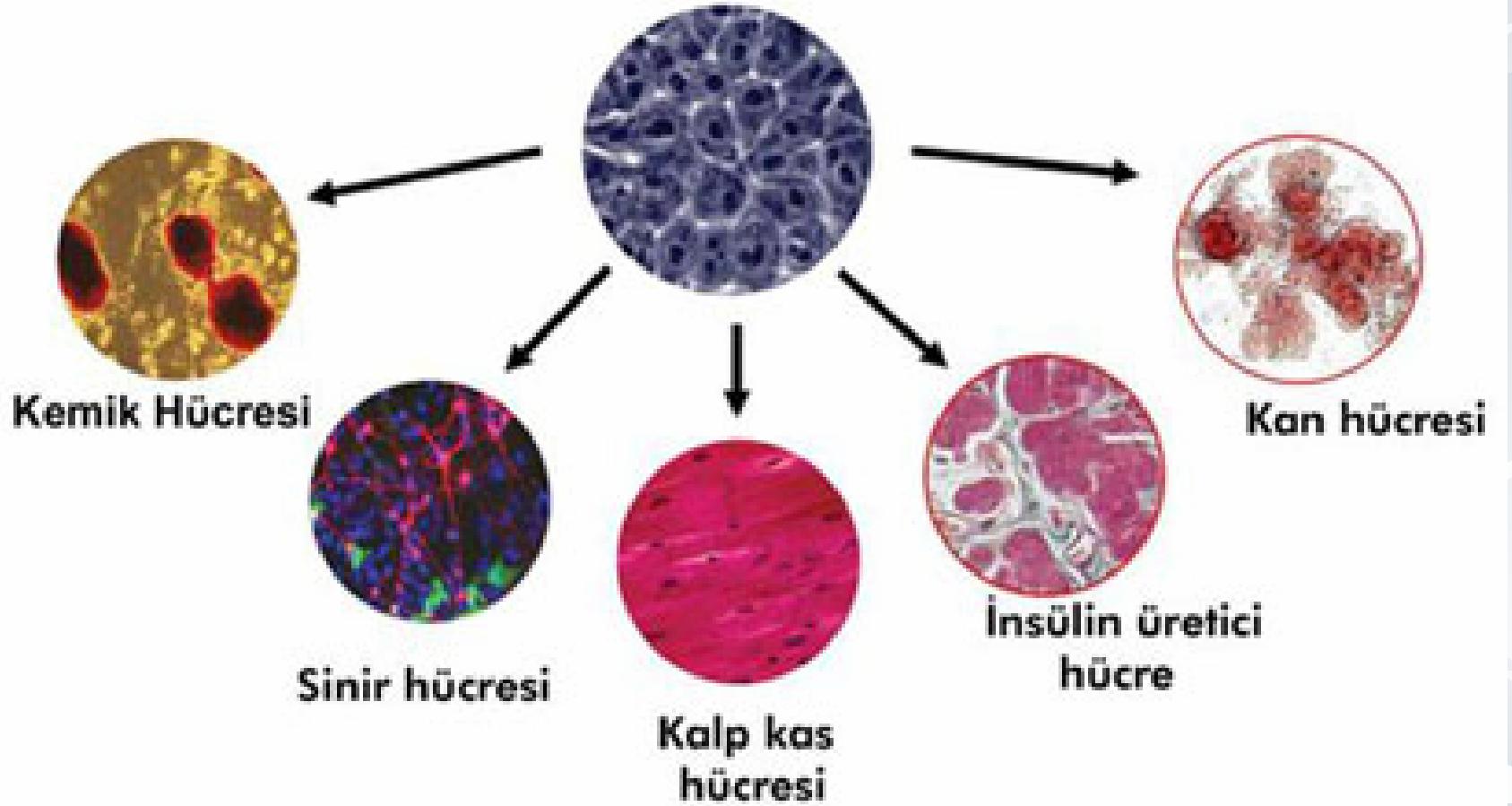
Kök hücreler neden önemlidir?

Kök hücreler diğer bütün hücrelerden farklı olarak iki özelliğe sahiptir.

1)Hücre bölünmesiyle kendilerini uzun zaman boyunca yenilemektedir.

2)Belirli fizyolojik ya da deneysel koşullar altında kalp kası gibi, insülin sentezleyen pankreas hücreleri gibi spesifik işlevleri olan hücrelere dönüşebilirler

KÖK HÜCRE



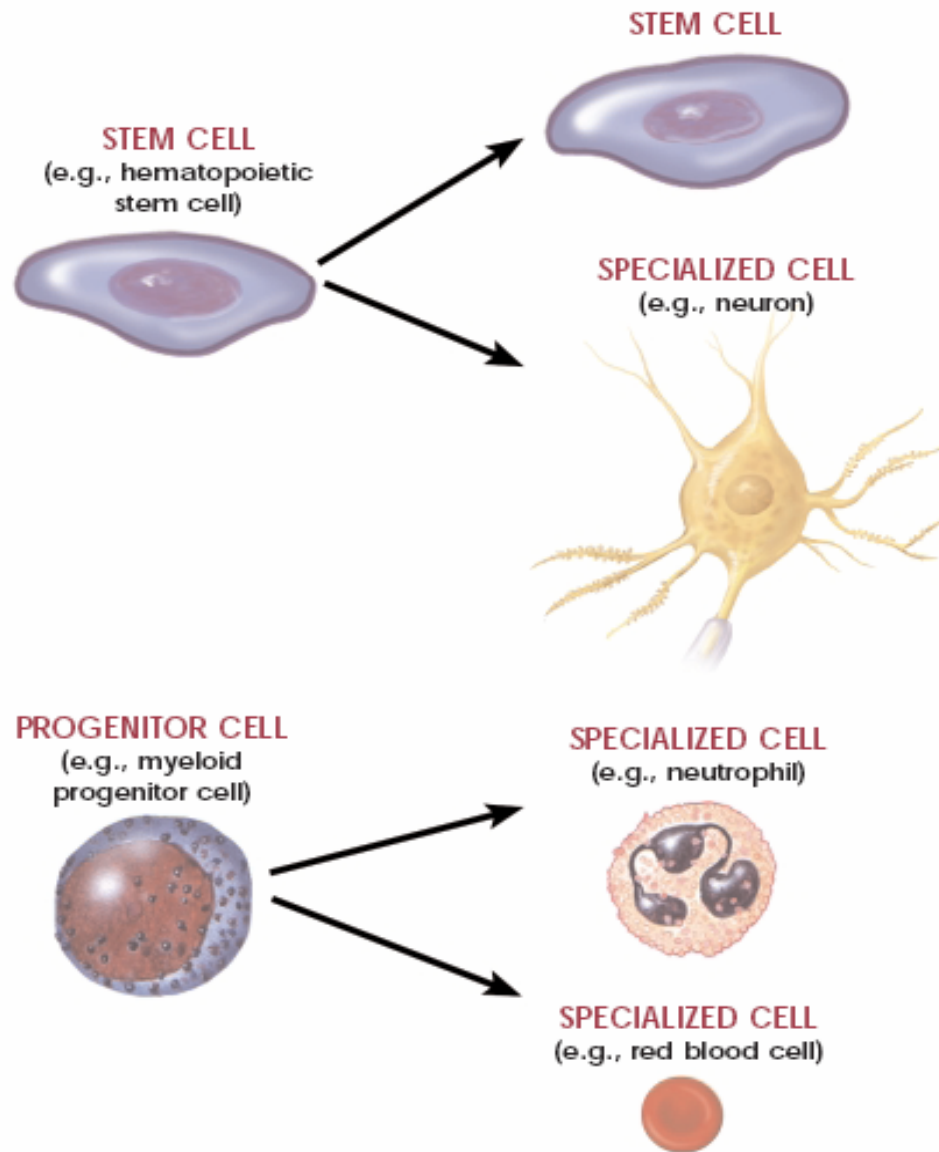


Figure 4.1. Distinguishing Features of Progenitor/Precursor Cells and Stem Cells. A stem cell is an unspecialized cell that is capable of replicating or self renewing itself and developing into specialized cells of a variety of cell types. The product of a stem cell undergoing division is at least one additional stem cell that has the same capabilities of the originating cell. Shown here is an example of a hematopoietic stem cell producing a second generation stem cell and a neuron. A progenitor cell (also known as a precursor cell) is unspecialized or has partial characteristics of a specialized cell that is capable of undergoing cell division and yielding two specialized cells. Shown here is an example of a myeloid progenitor/precursor undergoing cell division to yield two specialized cells (a neutrophil and a red blood cell).

Kök hücrelerin spesifik özellikleri nelerdir?

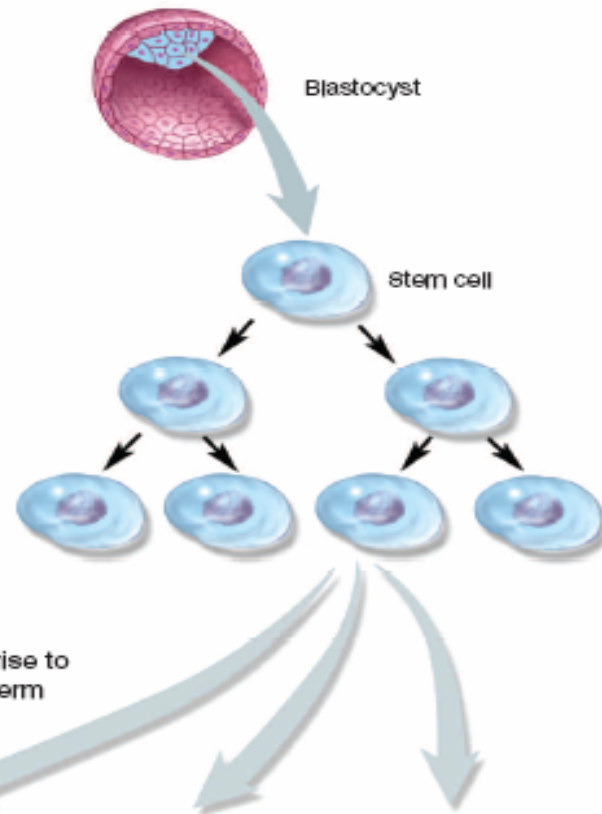
- *Kök hücreler özelleşmemiştir.*
- *Kök hücreler uzun zaman boyunca bölünebilme ve kendini yenileme özelliğini taşımaktadır.*
- *Kök hücreler özelleşmiş hücrelere dönüşebilme yeteneğini taşımaktadır.*

Characteristics of Embryonic Stem Cells

- 1. Origin:**
Derived from pre-implantation or peri-implantation embryo

- 2. Self-Renewal:**
The cells can divide to make copies of themselves for a prolonged period of time without differentiating.

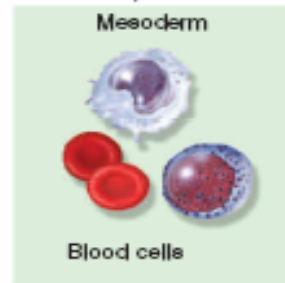
- 3. Pluripotency:**
Embryonic stem cells can give rise to cells from all three embryonic germ layers even after being grown in culture for a long time.



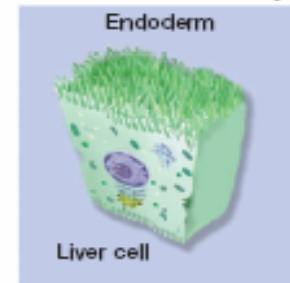
The three germ layers and one example of a cell type derived from each layer:



Ectoderm gives rise to: brain, spinal cord, nerve cells, hair, skin, teeth, sensory cells of eyes, ears nose, and mouth, and pigment cells.



Mesoderm gives rise to: muscles, blood, blood vessels, connective tissues, and the heart.



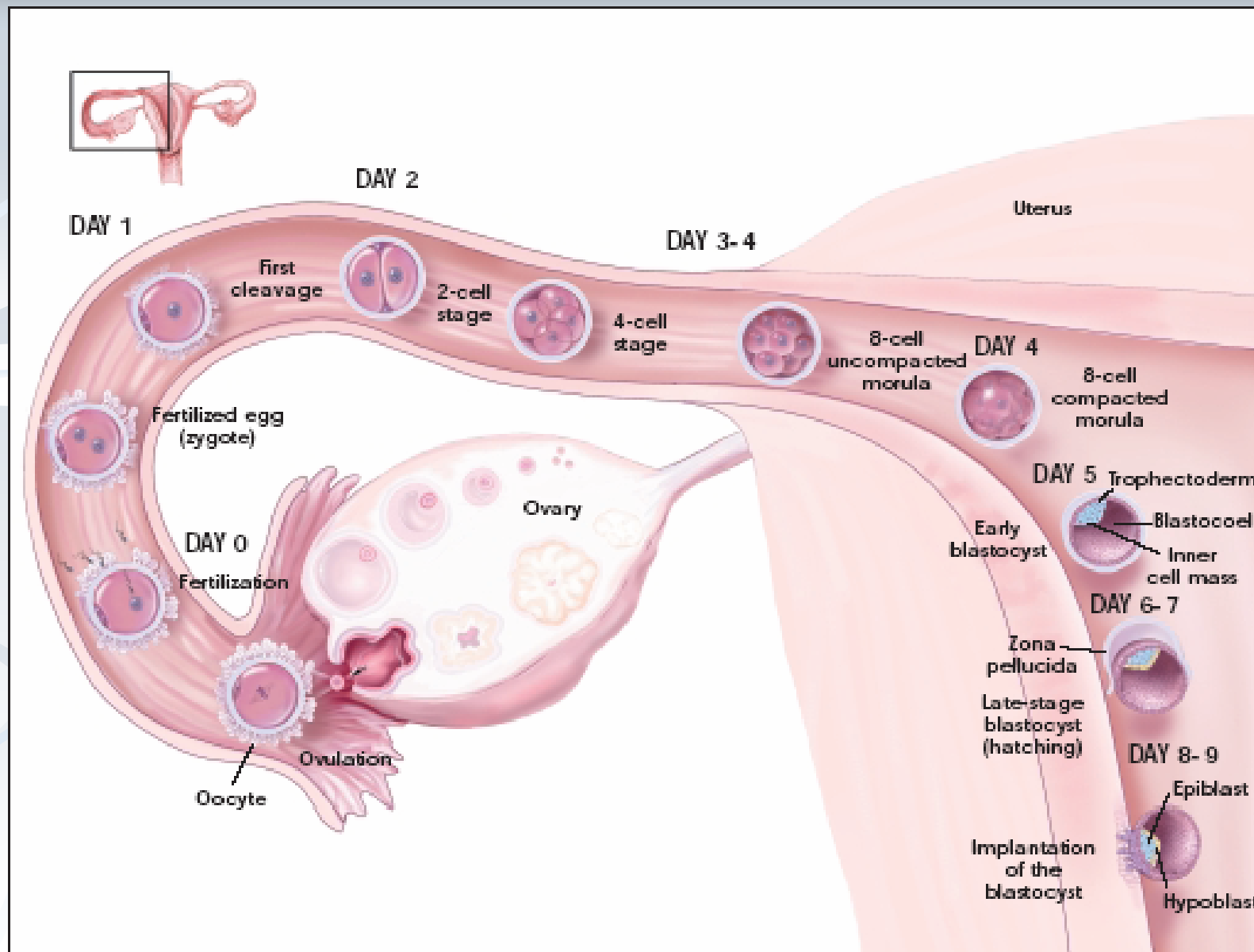
Endoderm gives rise to: the gut (pancreas, stomach, liver, etc.), lungs, bladder, and germ cells (eggs or sperm)

Kök Hücreleri Elde Edildikleri Kaynak Bakımından 3'e Ayırmak Mümkündür

- 5-6 günlük Zigot kök hücre kaynağı olarak kullanılabilir.
- Anne karnında büyüyerek fetus haline gelen organizmanın ileride sperm veya yumurta olacak üreme hücreleri kök hücre kaynağı olarak kullanılabilir.
- Yetişkin kök hücrelerin bulunduğu ilgili dokular kök hücre kaynağı olarak kullanılabilir (kemik iliği ve göbek kordonu gibi).



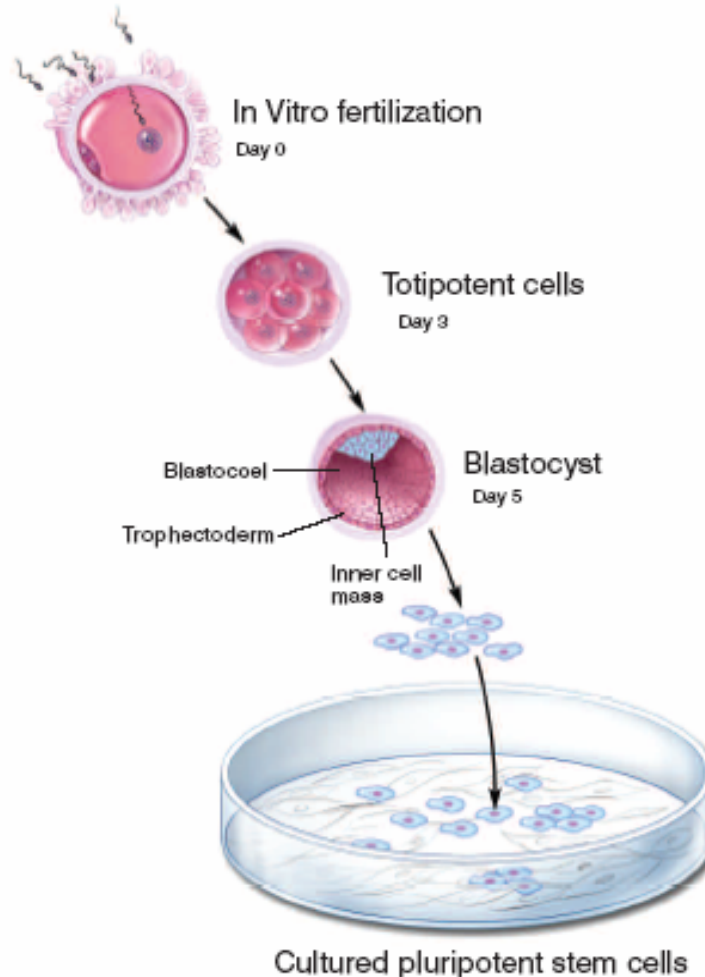
Embriyonik Kök Hücre



Embriyonik Kök Hücre Kültürü

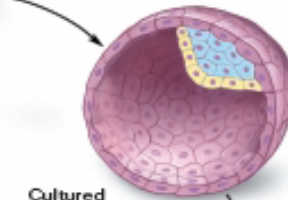
Nasıl Yapılır?

How Human Embryonic Stem Cells Are Derived





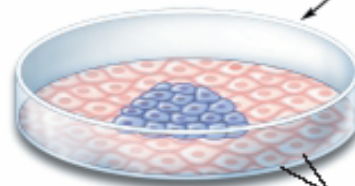
Cleavage stage embryo



Cultured blastocyst



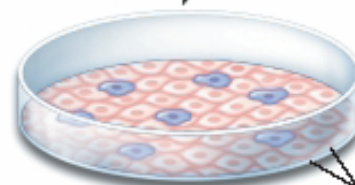
Isolated inner cell mass



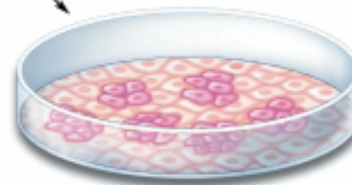
Irradiated mouse fibroblast feeder cells



Cells dissociated and replated

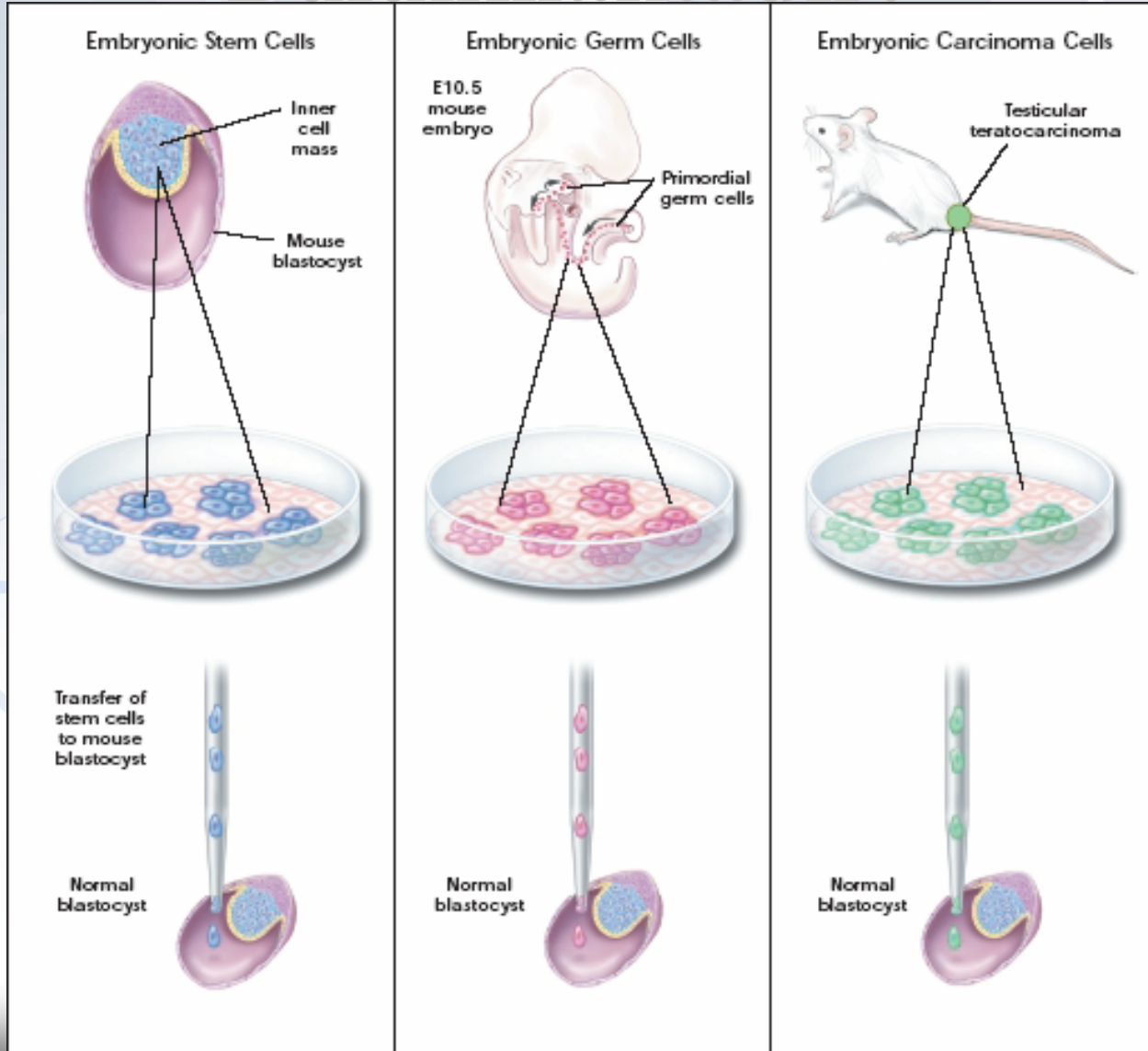


New feeder cells



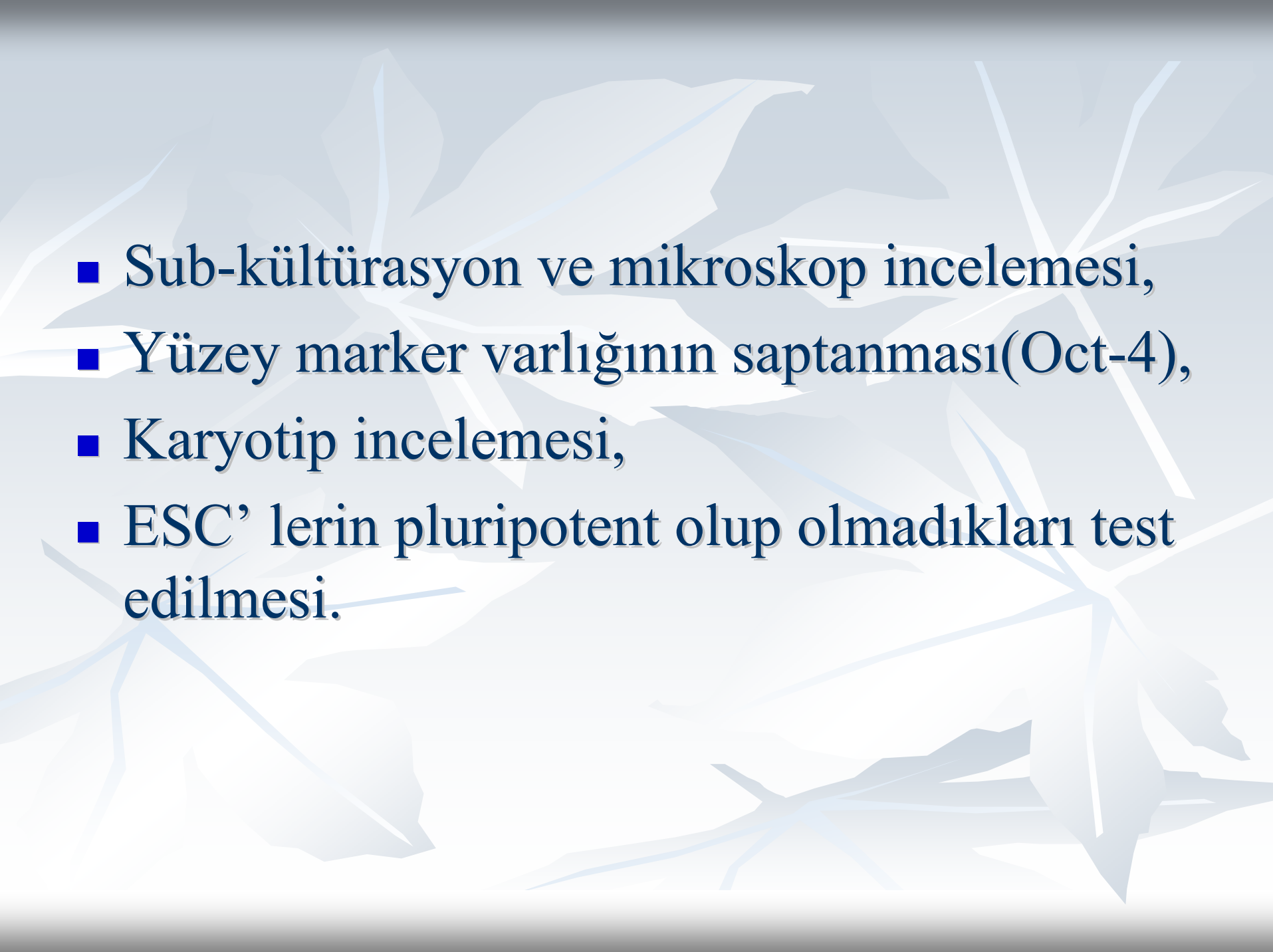
Established embryonic stem cell cultures

Üç Çeşit Embriyonik Kök Hücre Bulunmaktadır:



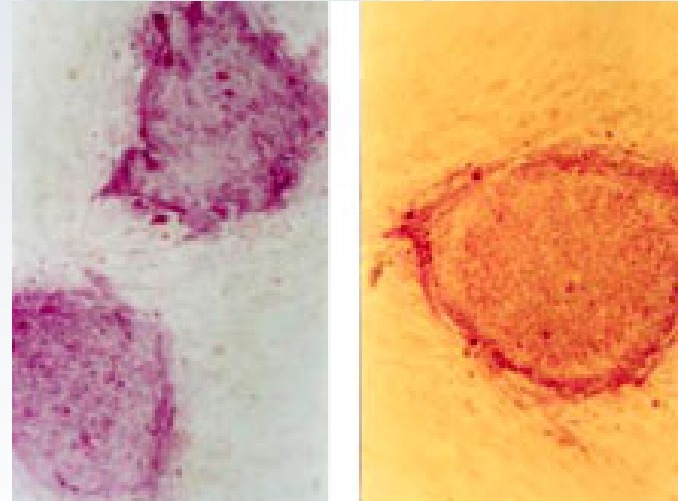
Embriyonik Kök Hücrelerin Tanımlanmasında Hangi Laboratuvar Testleri Kullanılmaktadır?

Embriyonik kök hücre hatlarını oluşturma sürecinin çeşitli aşamalarında bilim adamları kültüre edilmiş hücrelerin embriyonik kök hücre temel özelliklerini taşıyıp taşımadıklarını test ederler. Bu süreç **karakterizasyon** olarak bilinmektedir.

- 
- Sub-kültürasyon ve mikroskop incelemesi,
 - Yüzey marker varlığının saptanması(Oct-4),
 - Karyotip incelemesi,
 - ESC' lerin pluripotent olup olmadıkları test edilmesi.

- İmmünolojik olarak tanımlanabilmeleri için erken dönemde ekspresyon gösteren işaretçilerin (SSEA-1, 3, 4, TRA-1-60 ve 81 vb) veya gen ürünlerinin (OCT-4, Alkalın Fosfataz vb.) immünohistokimyasal yöntemler ile **boyanması** tekniği kullanılmaktadır.

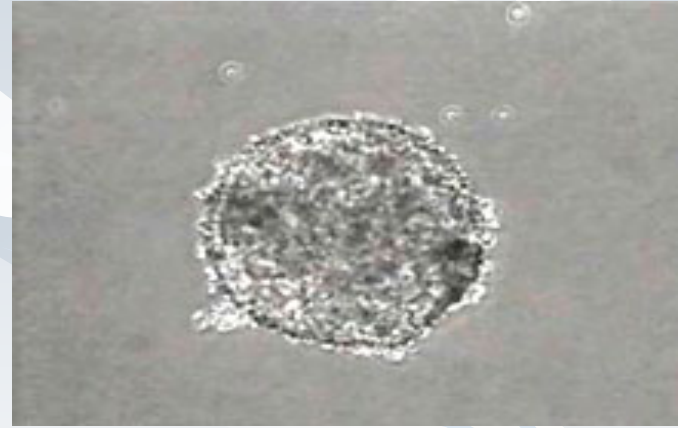
- Alkalın fosfataz boyama sonucu boyanan hücreler farklılaşma gözlenmeyen hücrelerdir.



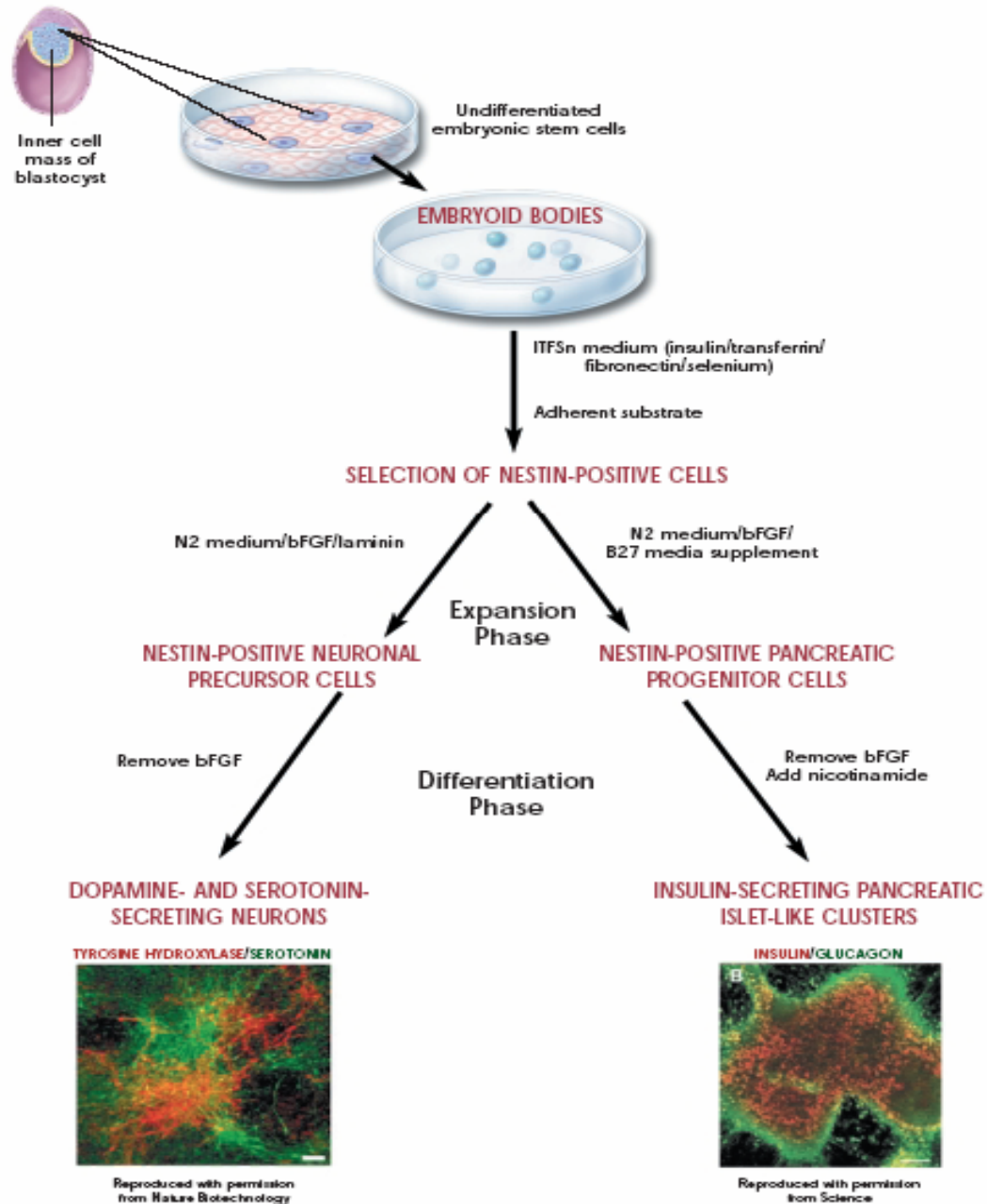
Embriyonik Kök Hücreler

Farklılaşmaya Nasıl Stimule Edilmektedir?

- Farklı hücre tiplerini elde etmek için farklılaşmayı engelleyici faktörleri içermeyen kültür ortamı kullanılarak gerçekleştirilen hücre kültürü sonrası, her üç germ tabakasına ait hücre oluşumu gözlenen **embriyoid body** (embriyoid cisimcik) yapıları oluşturulması metodudur.



- İşlem sonrası elde edilmesi istenilen hücre dönüşümünün sağlanması için uygun şartlar ve gerekli kimyasal ajanlar kullanılmaktadır.



Embriyo Kökenli Kök Hücrelerin Özellikleri:

- Hücreler blastositin epiblast denen iç kısmından elde edilmiş olmalıdır.
- Hücreler farklılaşma göstermeksizin sınırsız sayıda simetrik bölünme gösterebilmelidir.
- Diğer vücut hücrelerine kıyasla son derece yüksek bir çekirdek/sitoplazma volüm oranı sahiptirler ve belirgin pronükleus yapısı içerirler.

- Bu hücreler, destek hücreleri üzerindeki kültürleri sırasında üç boyutlu koloni oluştururlar.
- Stabil, diploid ve normal kromozom yapısı göstermelidir.
- Embriyo kaynaklı kök hücreler ektoderm, endoderm ve mezodermden oluşan hücre tiplerine farklılaşma yeteneğinde olmalıdır.

- Tek bir embriyonik kök hücreden genetik olarak tanımlanmış hücre kolonileri meydana gelebilmeli ve bu hücreler orijinal hücrelerle aynı özellikleri taşımalıdır.
- Bu hücreler transkripsiyon faktörü Oct-4'ü ekspresse etmelidir.
- Hücre döngülerinde G_1 kontrol noktası olmamalıdır.
- Embriyonik kök hücreler X inaktivasyonu göstermezler.



Yetişkin Kök Hücre Nedir?

- Yetişkin kök hücre farklılaşmış doku ya da organ hücreleri arasında bulunan, kendini yenileyebilen ve dokunun ya da organın özel hücre tiplerini elde etmek için farklılaşmamış bir hücredir.
- Yetişkin kök hücreleri vücutta birçok doku ve organda bulunurlar ve bulundukları bölgedeki hücrelerin hasar görmesi durumunda çoğalarak hasarlı kısmın onarılmasını sağlarlar.

- *****Yetişkin kök hücrenin en önemli rolü bulundukları dokuyu onarmaktır.**
- Embriyonik kök hücrelerden farklı olarak, yetişkin kök hücrelerin kökeni bilinmemektedir.
- Bugüne kadar çok fazla sayıda yetişkin kök hücresi tespit etmiştir.

- Yetişkin kök hücre araştırmaları 40 yıl öncesine uzanmaktadır. 1960larda kemik iliğinin en az iki çeşit kök hücre içerdiği saptanmıştır.
- 1. Hematopoietic kök hücreleri: Vücuttaki bütün kan hücrelerini oluşturmaktadır.
- 2. Kemik iliği stromal hücreleri: Kemik, kıkırdak, yağ ve fibröz bağlayıcı doku hücrelerini oluşturmaktadır.

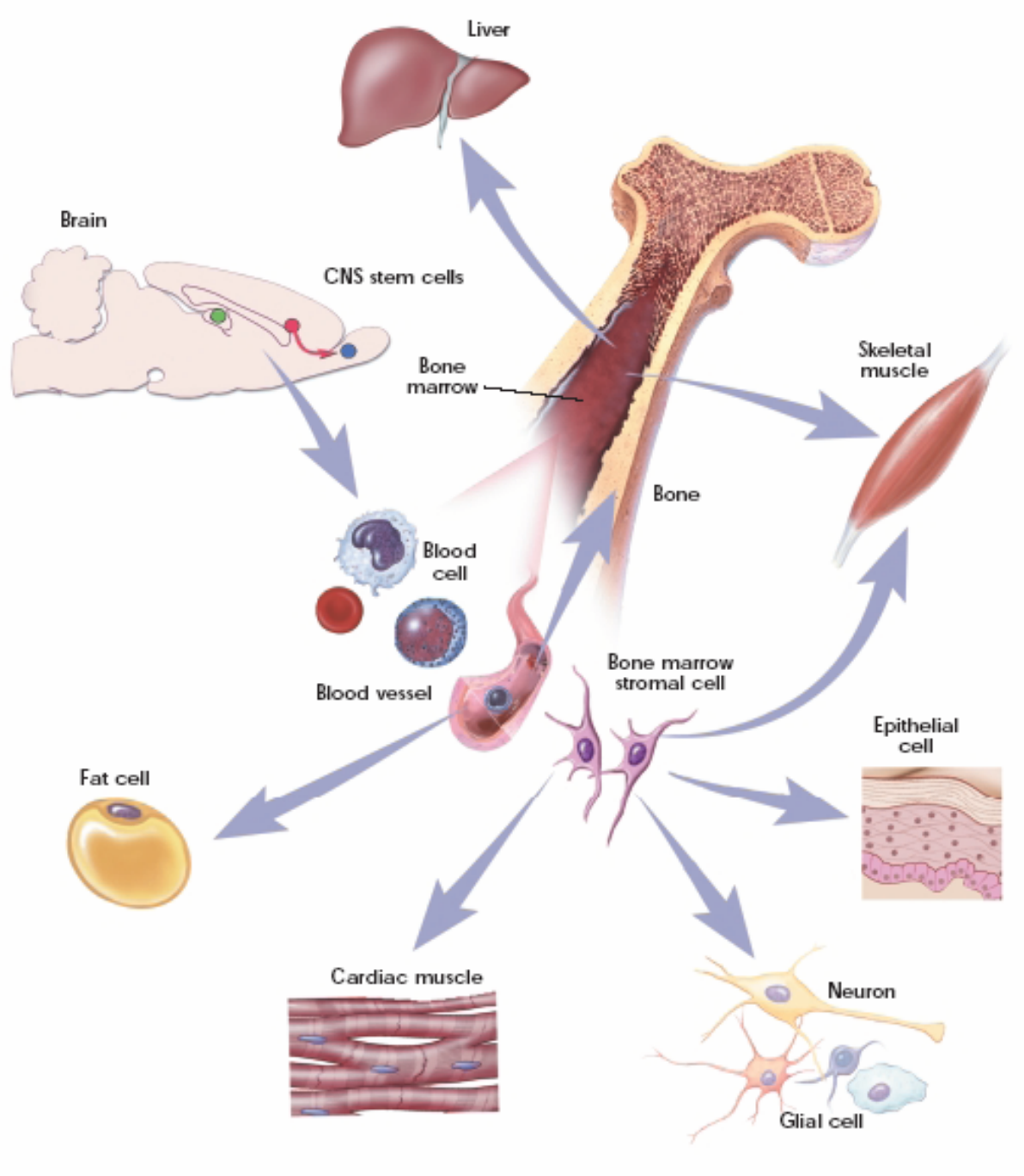
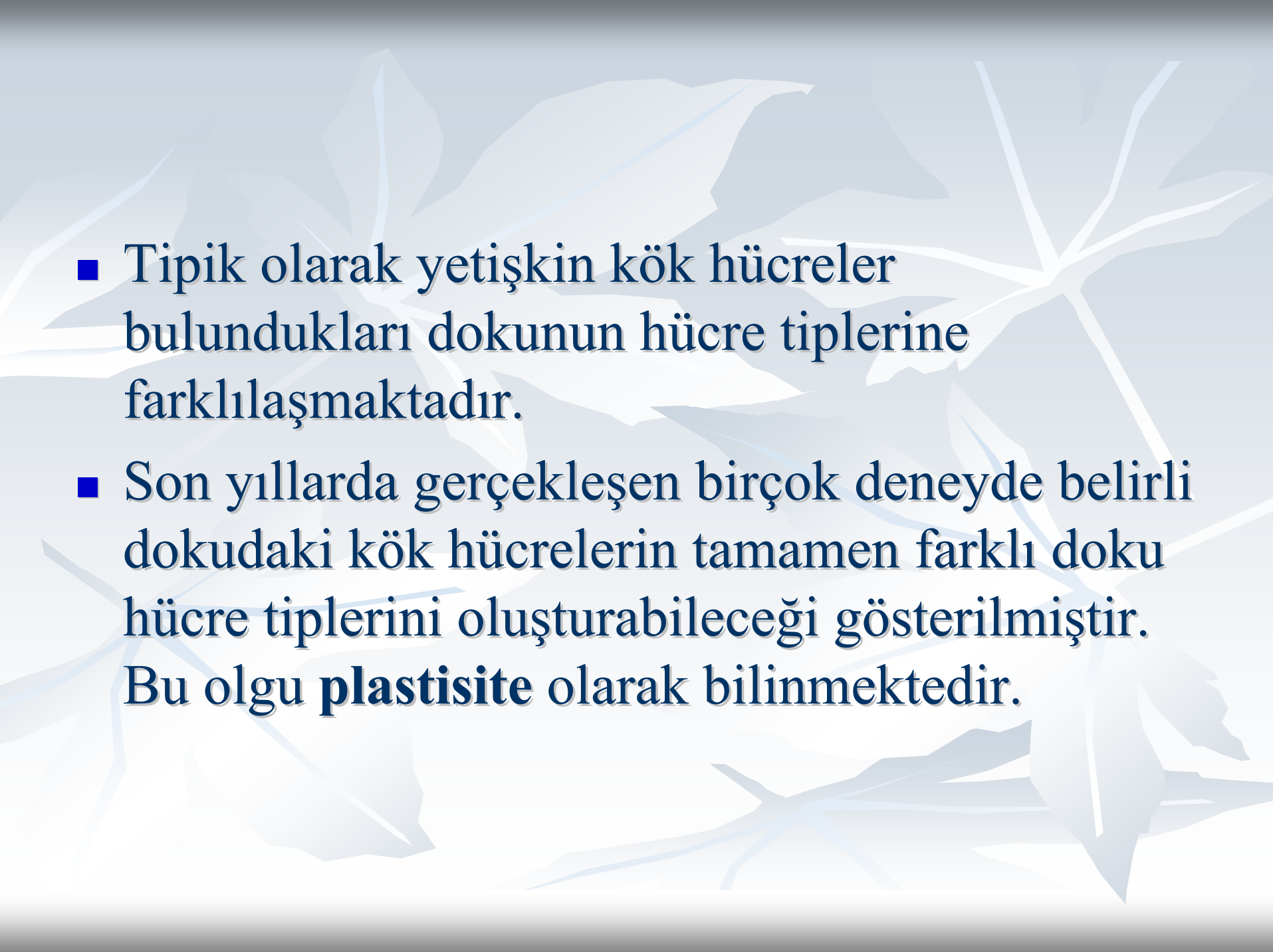
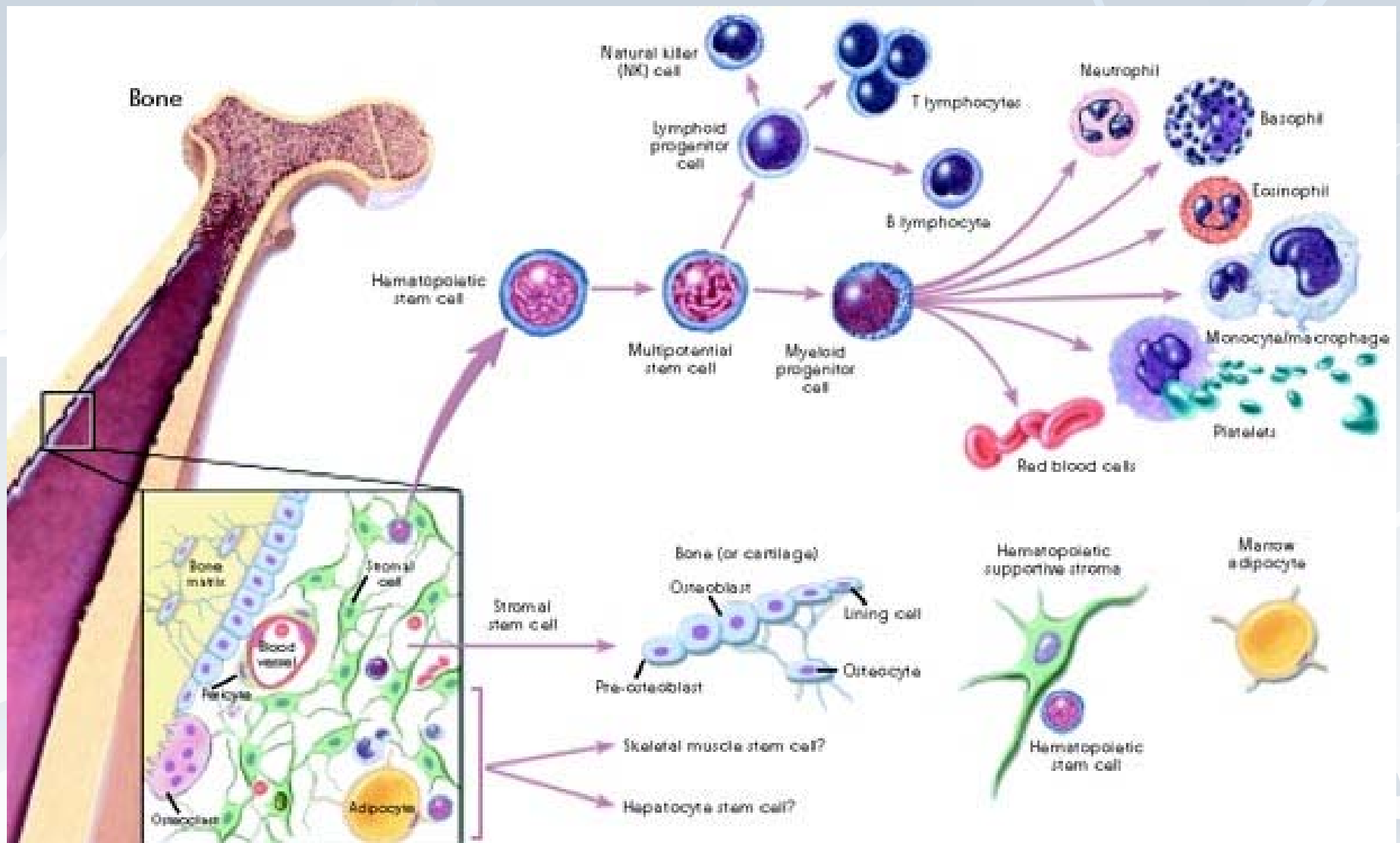


Figure 4.2. Preliminary Evidence of Plasticity Among Nonhuman Adult Stem Cells.

- 
- Tipik olarak yetişkin kök hücreler bulundukları dokunun hücre tiplerine farklılaşmaktadır.
 - Son yıllarda gerçekleşen birçok deneyde belirli dokudaki kök hücrelerin tamamen farklı doku hücre tiplerini oluşturabileceği gösterilmiştir. Bu olgu **plastisite** olarak bilinmektedir.





Yetişkin Kök Hücre Tanımlanmasında Hangi Testler Kullanılmaktadır?

- 1) Canlı dokudaki hücreleri tespit ederek oluşturdukları özelleşmiş hücre tiplerini saptamak,
- 2) Canlı hayvandan hücreleri uzaklaştırarak hücre kültüründe onları çoğaltmak ve orijin dokunun hücrelerini yeniden oluşturup oluşturmadığını belirlemek için başka bir hayvana aktarmak,
- 3) Hücreleri izole etmek, hücre kültüründe çoğaltmak, hangi farklılaşmış hücre tiplerini oluşturacaklarını saptamak için yeni genler ya da büyüme faktörleri eklemek.

. Yetişkin Kök Hücre ile İlgili Anahtar Sorular Nelerdir?

- Kaç tane yetişkin kök hücre bulunur ve bunlara hangi dokulara rastlanır?
- Vücuttaki yetişkin kök hücre kaynakları nelerdir? Geriye kalan embriyonik hücreler midir yoksa farklı bir yolla mı ortaya çıkmaktadırlar? Etraflarındaki bütün hücreler farklılaşmış olmalarına rağmen onlar nasıl farklılaşmadan kalabiliyorlar?
- Yetişkin kök hücreleri manipule ederek çoğalmalarını arttırıp transplantasyon için yeterli doku elde edebilir miyiz?

- Yetişkin kök hücreler normal şartlar altında plastisite gösterirler mi? Plastisite gösteren kök hücrelerin farklılaşmasını ve çoğalmasını düzenleyen sinyaller nelerdir?
- Herhangi bir organın ya da dokunun hücrelerini oluşturan tek bir kök hücre tipi (büyük bir ihtimalle kemik iliğinde ya da kan dolaşımında) mevcut mu?

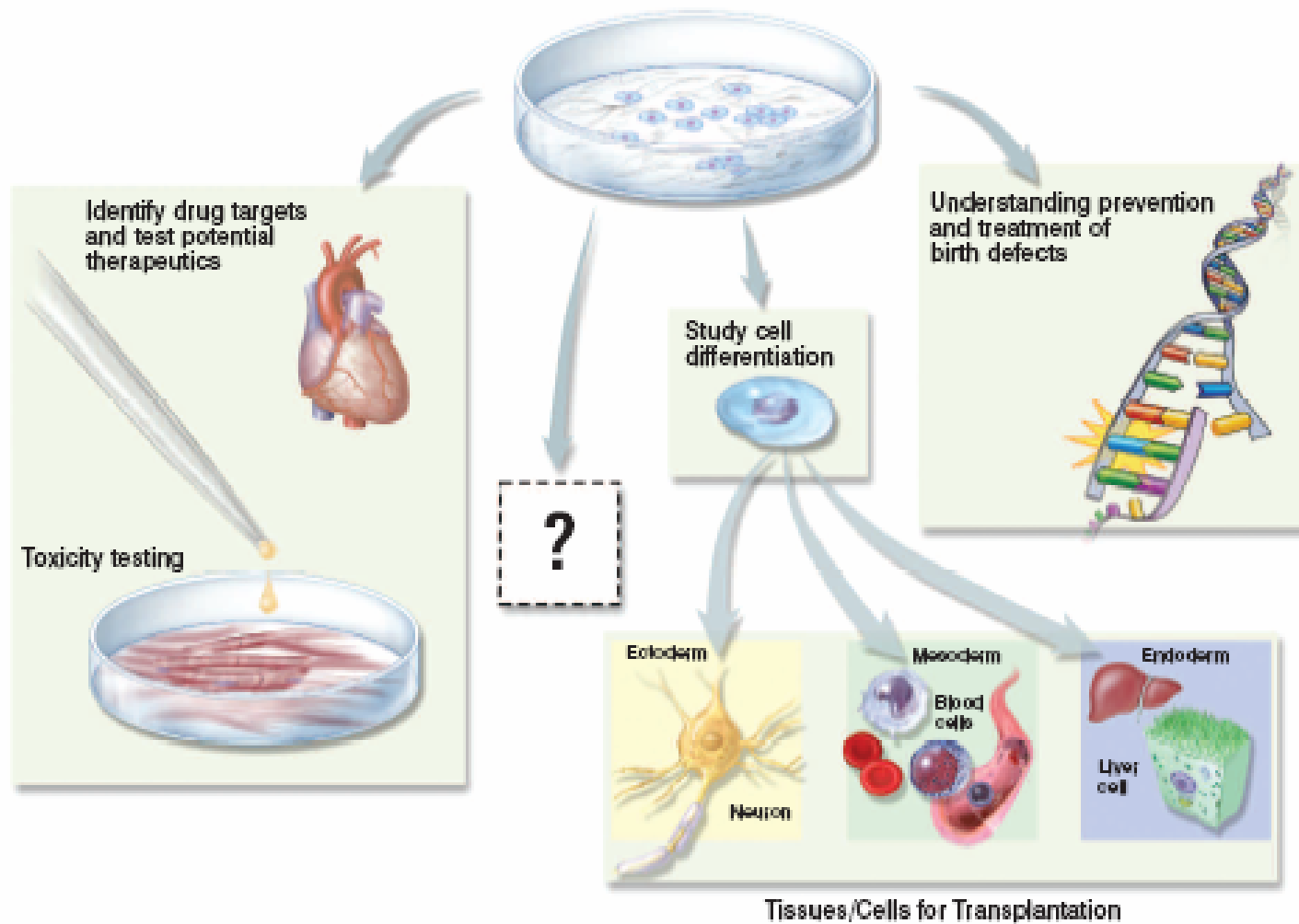
Kordon Kani



Embriyonik Kök Hücrelerinin Kullanım Alanları

- Hücre terapi çalışmaları (Parkinson, Alzheimer, Travmatik Spinal Kord Yaralanmaları, Diabet ve Kalp Hastalıkları)
- Gen terapi çalışmaları
- İlaç endüstrisi
- Embriyo gelişimini aydınlatmaya yönelik çalışmalar.

The Promise of Stem Cell Research



Kök Hücrelerle Tedavi Edilebilen Hastalıklar

- Kalp Rahatsızlıkları
- Sinir Sisteminde Meydana Gelen Bozukluklar
- Otoimmün Rahatsızlıklar

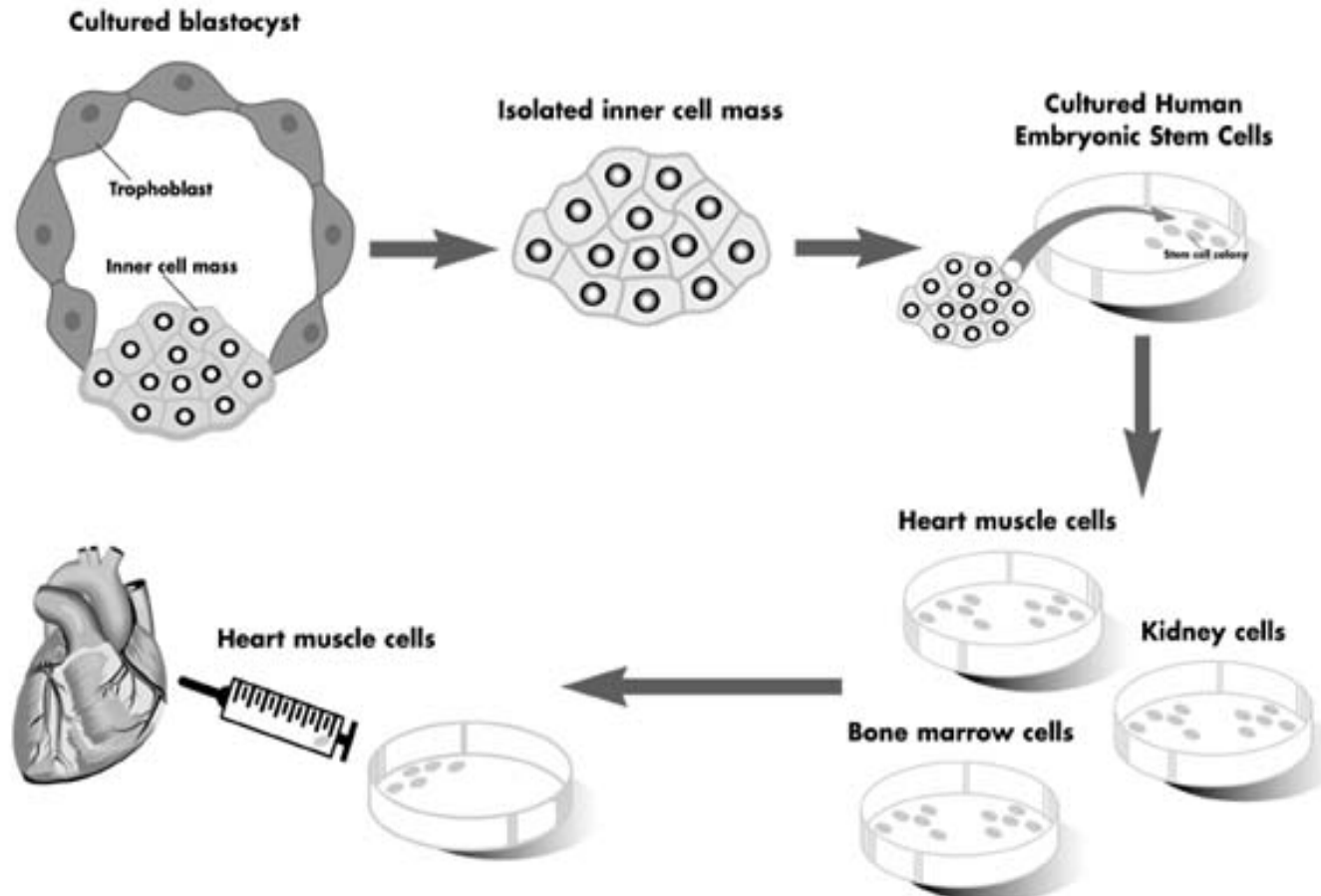
Diabet

Eklem Romatizması

Glomerulonefrit

Kalp Rahatsızlıkları

Culturing Human Embryonic Stem Cells



Sinir Sistemi Rahatsızlıkları

Dopamine-Neuron Transplantation

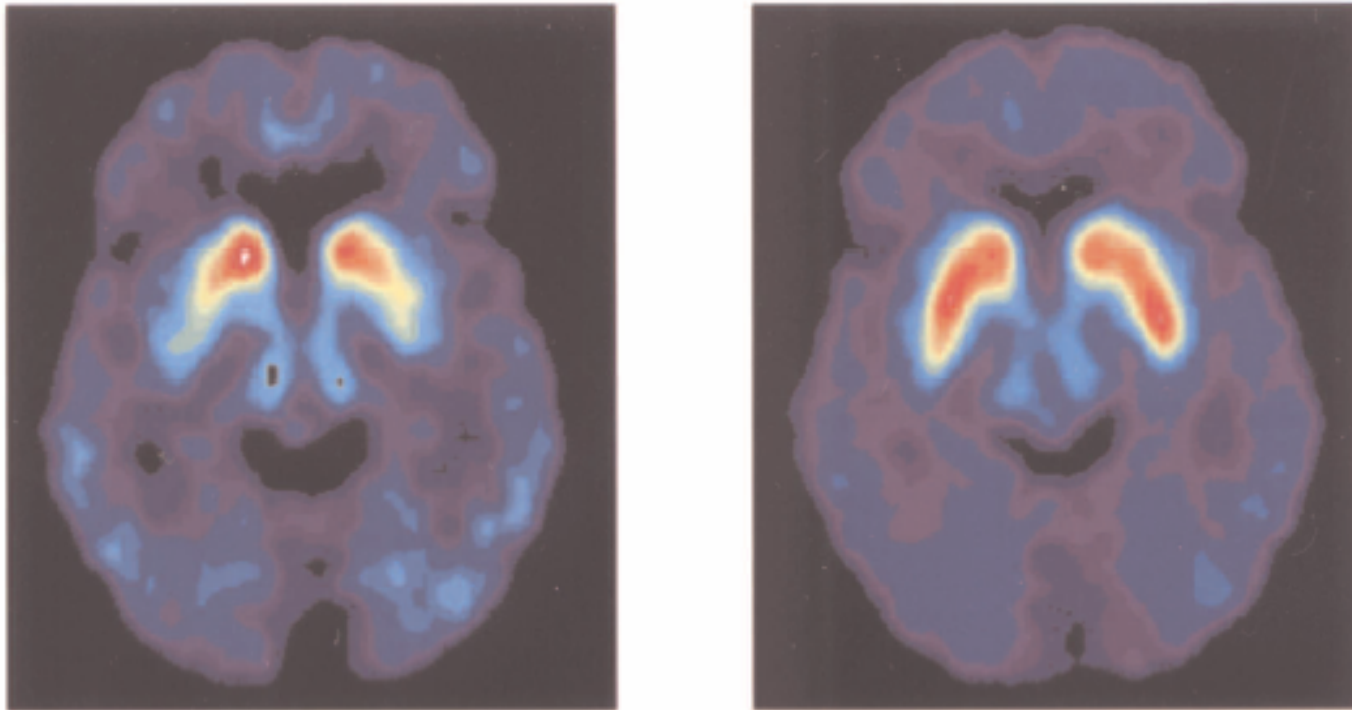
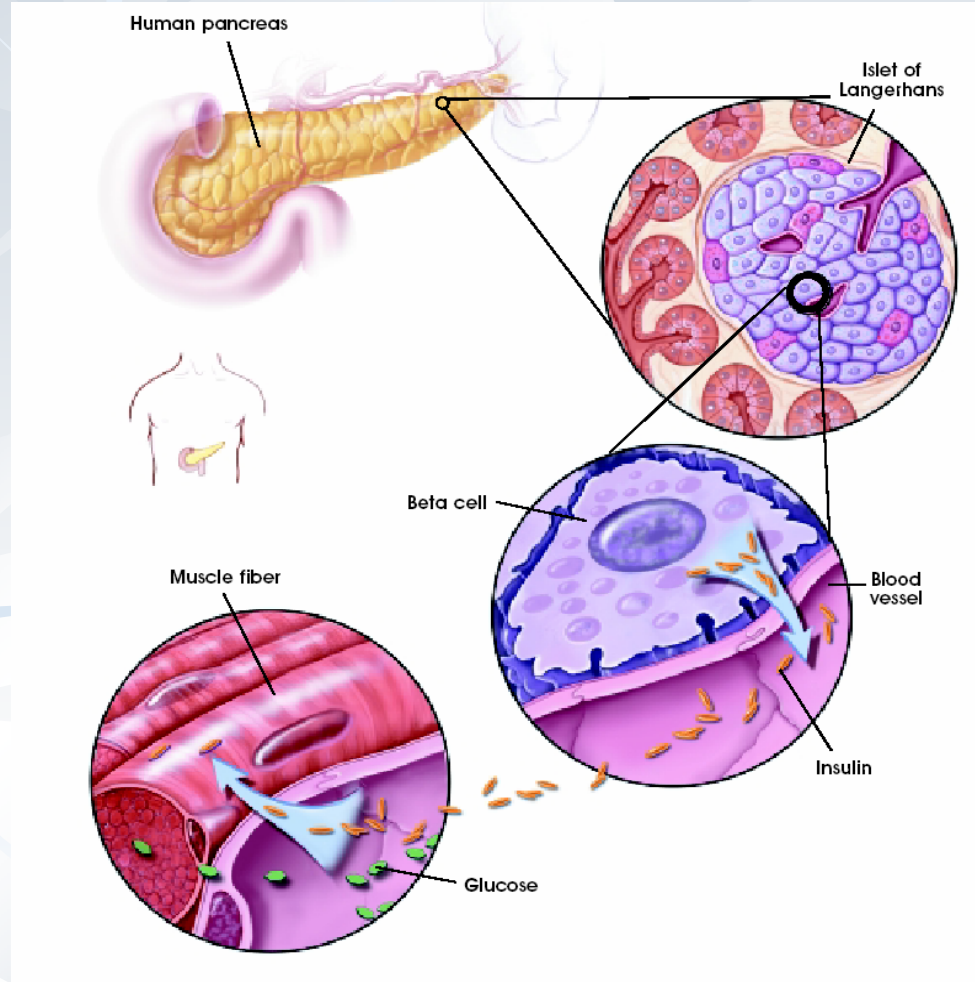


Figure 3.2. Positron Emission Tomography (PET) images from a Parkinson's patient before and after fetal tissue transplantation. The image taken before surgery (left) shows uptake of a radioactive form of dopamine (red) only in the caudate nucleus, indicating that dopamine neurons have degenerated. Twelve months after surgery, an image from the same patient (right) reveals increased dopamine function, especially in the putamen. (Reprinted with permission from N Eng J Med 2001;344 (10) p. 710.)

Şeker Hastalığının Tedavisi



Etik Açıdan Kök Hücrelerinin Kullanımı

- Embriyo ne zaman insan olur?
- İnsanların doğaya müdahale hakkı var mıdır?
- Yüksek maliyetler nedeniyle bu teknolojinin yalnızca zengin insanların hizmetinde kalacağı yönündeki çekinceler.
- Kök hücre teknolojisinin yaygınlaşmasıyla klonlama çalışmalarının kontrol edilemeyecek duruma gelmesi.



TEŞEKKÜRLER