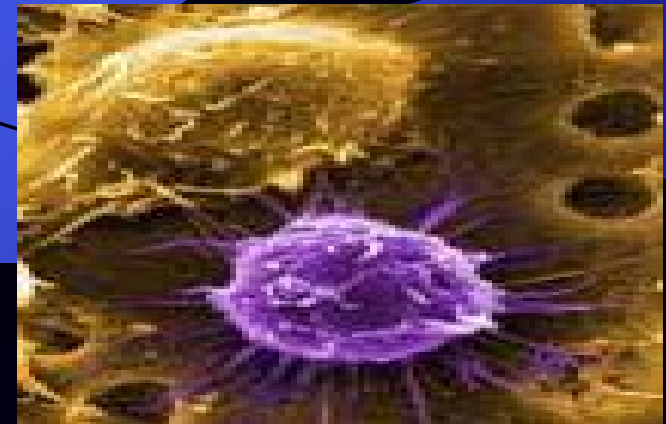


KÖK HÜCRELER

Doç.Dr.Engin DEVECİ

KÖK HÜCRE



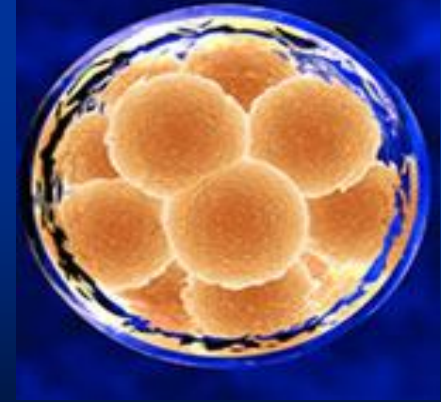
Annie Cavanagh and Dave McCarthy College London

Kök Hücre

Farklılaşmamış, Kendini yenileyebilen, Özelleşmiş hücrelere farklılaşabilen hücrelerdir

Uygun çevreye yerleşme

- Çoğalma
- Çok sayıda farklılaşmış yeni hücreler oluşturma
- Kendini yenileme (self-renewal) ve sürdürme
- Bir hasar oluşumunda yeni bir doku oluşturabilme ve onarımını sağlama



KÖK (STEM) HÜCRELERİ

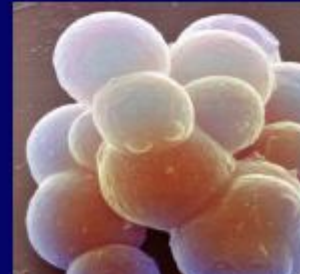
KENDİLERİNİ YENİLEYEBİLEN

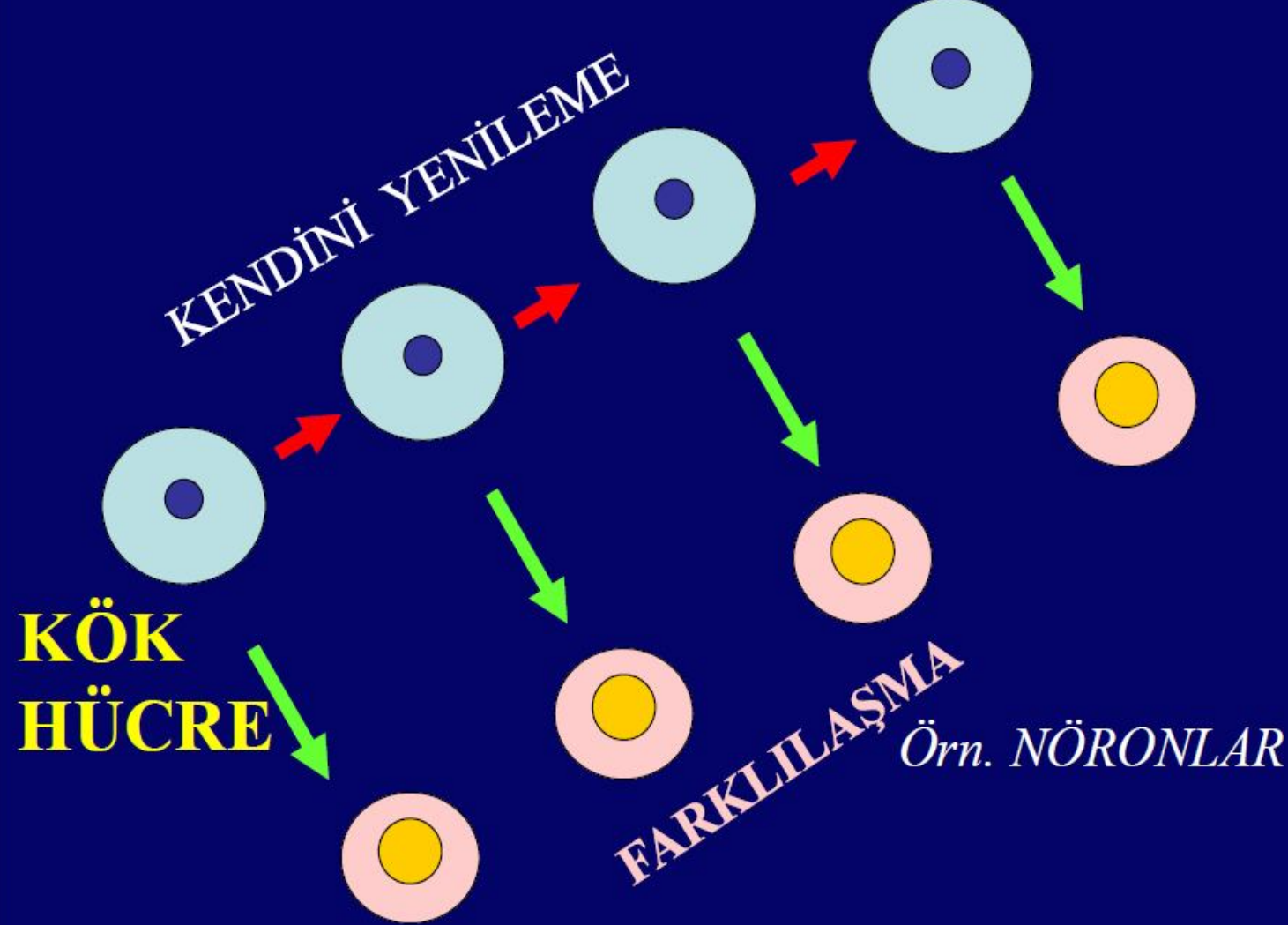
**(Self-Renewal) ve SAYILARI SÜREKLİ
SABİT KALAN**

➤ **FARKLI HÜCRELERİ VEREBİLEN**

(Farklılaşma =Differansiyasyon)

HÜCRELERDİR





Asimetrik hücre bölünmesi, hem hücre içi hem de hücre dışı etkenlerin birlikte çok sıkı kontrol edilmesini gerektirir. Hücre içindeki asimetri, bazı organellerin, protein gruplarının ve RNA'nın yavru hücrelerden sadece birisine aktarılmasıyla başılır

ASİMETRİK KÖK HÜCRE BÖLÜNMESİ

J Knoblich '2006

FARKLILAŞMA

SC

Stem cell

SELF-RENEWAL



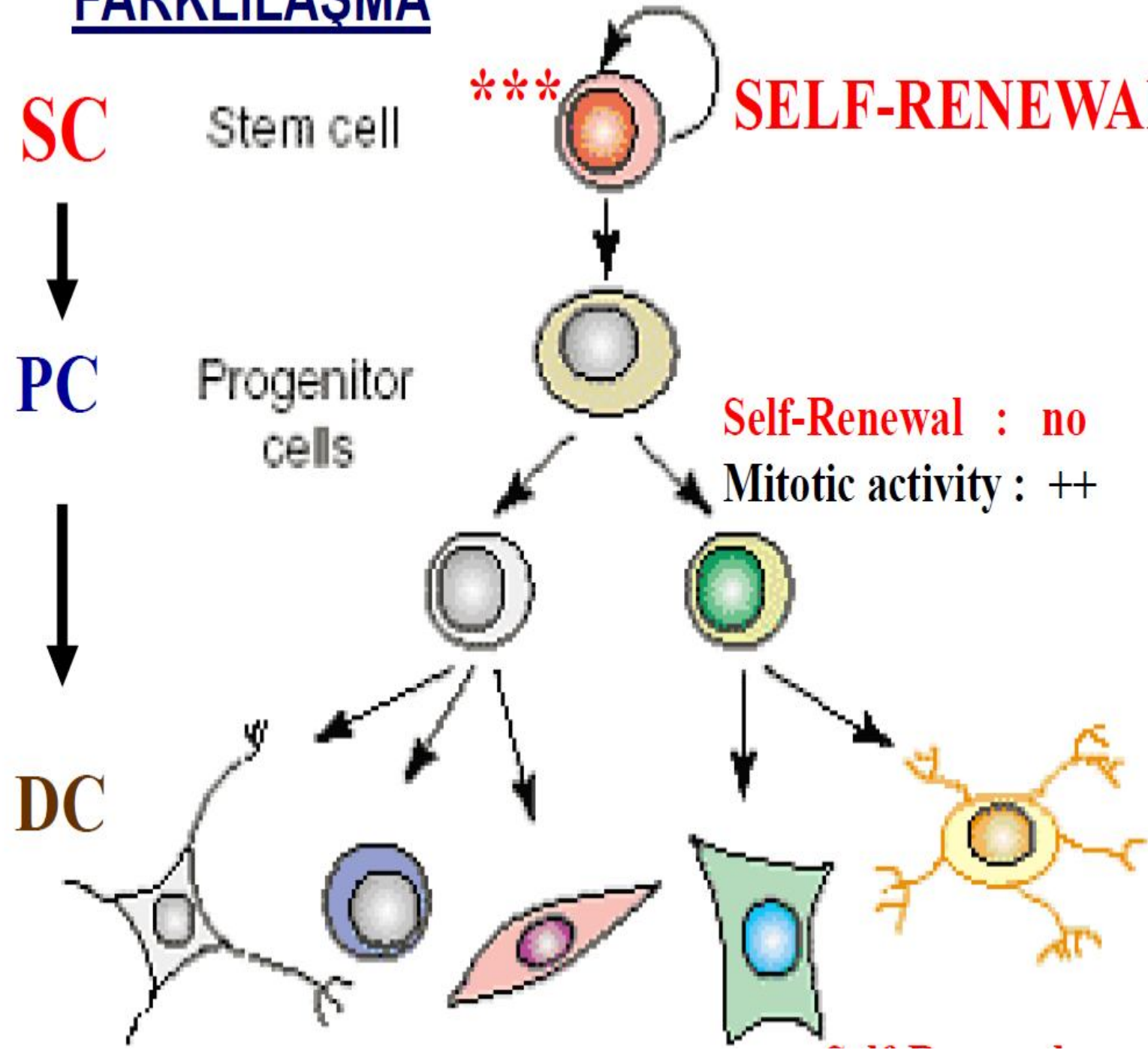
PC

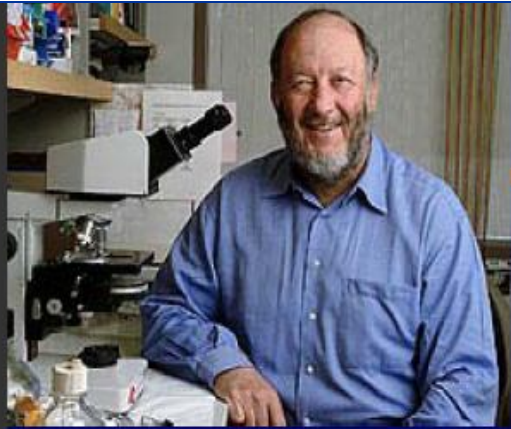
Progenitor cells

Self-Renewal : no
Mitotic activity : ++

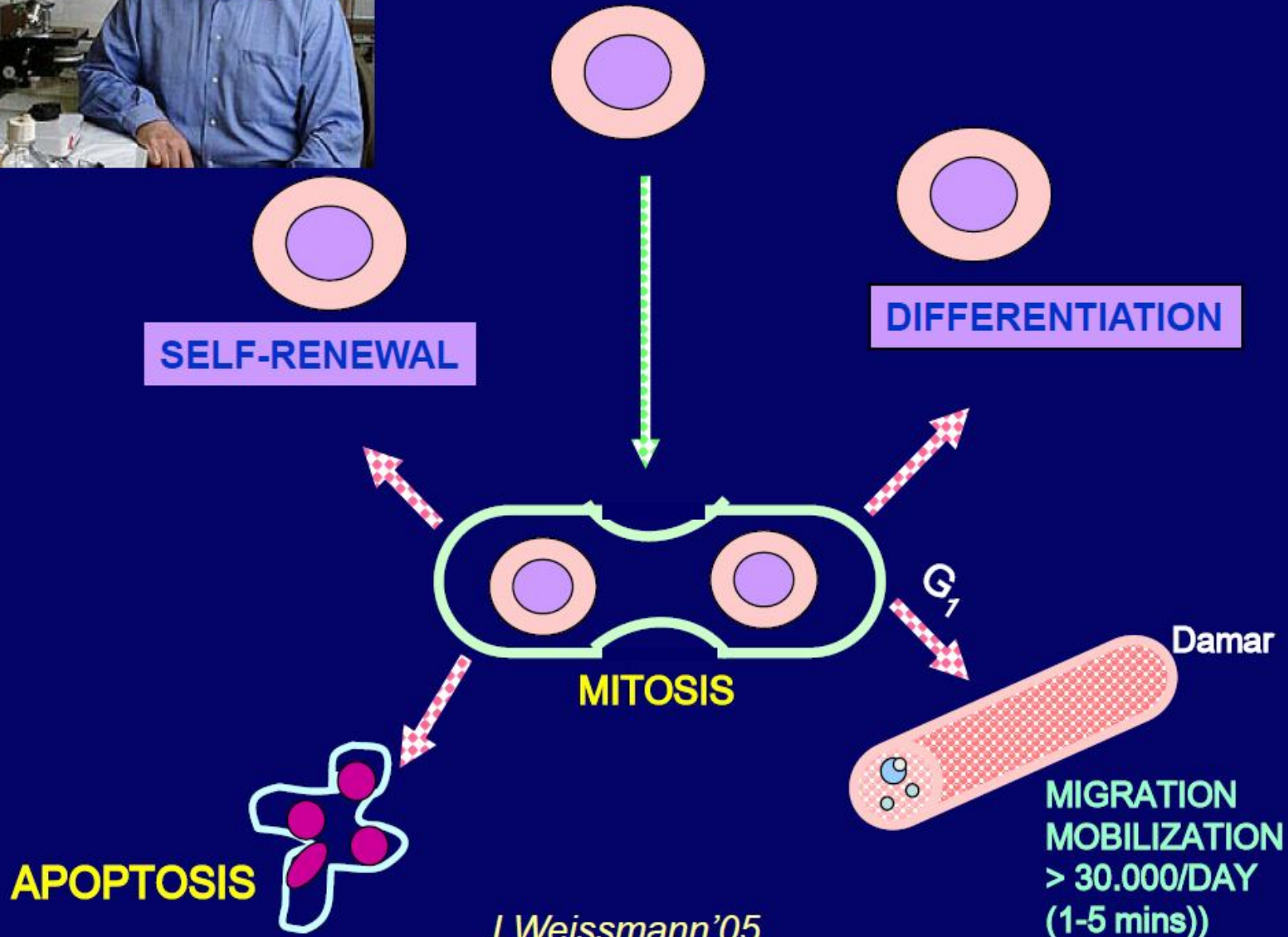


DC





KÖK HÜCRELER



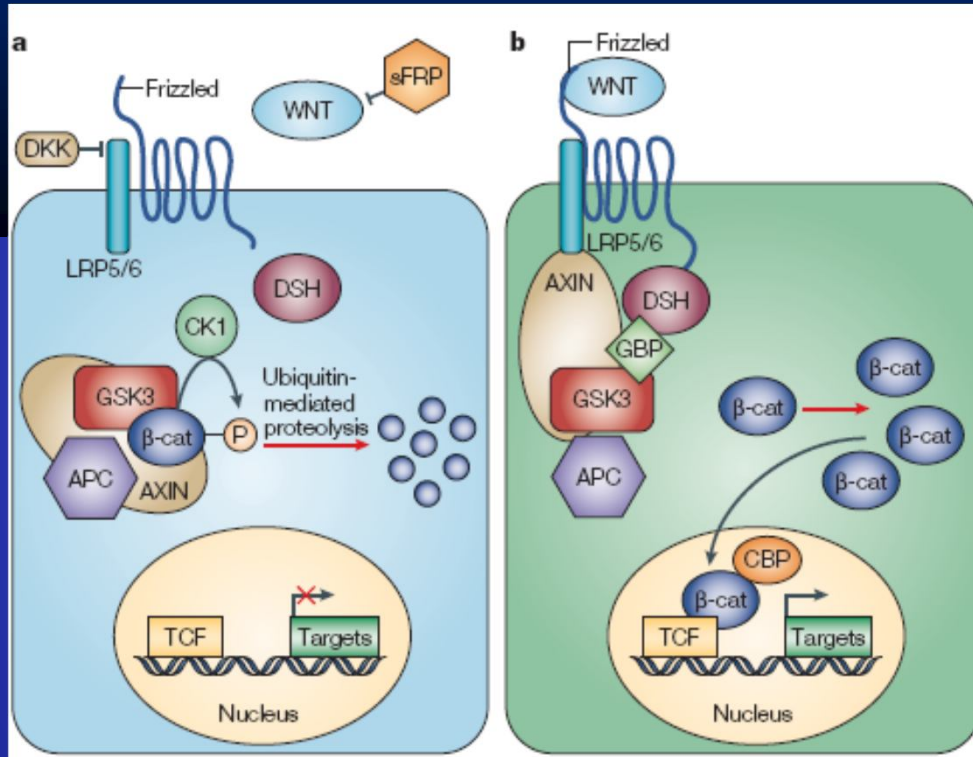
Kendini yenileme

- **LIF (Lösemi inhibitör faktör)** gp130 reseptörü üzerinden **JAK-STAT** (Signal transducer-activator of transcription)ve **SHP2-Erk**(protein tirozin fosfataz -Ekstraselüler sinyal düzenleyen kinaz)yolaklarının uyarılmasıyla **STAT3**'ün uyarılması ve çekirdekte ilgili genlerin transkripsiyonu
- **Oct4**(octamer-binding transcription factor 4)
 - morula evresinde trofoektoderm ve iç hücre kitlesinin gelişiminden sorumlu
- **Nanog**
 - ilkel endodermin oluşumda ve gastrülasyonda etkilidir.
- **Notch/Wnt sinyal yolları**
 - EKH ve erişkin kök hücrelerde

Kök hücreler yüksek çoğalm potansiyellerini, sahip oldukları yüksek telomeraz enzim aktiviteleri sayesinde sağlar iken, farklılaşmadan bu işlevi devam ettirmelerini ise, buldukları mikroçevrelerden (niche;yatak) kaynaklanan bazı sinyal yollarının (Wnt, Notch ve Jak/Stat3 gibi) aktivasyonuna bağlı olarak kendini-yenilemeden sorumlu olan transkripsiyon faktörlerinin (oct3, nanog gibi) devam eden ekspresyonlarıyla sürdürürler

- **JAK-STAT** (Janus Kinase-Signal Transducer ve Activator Transcription) **sinyal yolağı** , hücre zarından DNA transkripsiyonu ve hücre aktivitesine neden olan hücre çekirdeğinde, DNA gen rehberleri olarak, hücre dışında kimyasal sinyallerin bilgilerini iletir.
- **SHP2-Erk:**Hücre yüzeyinden çekirdeğine sinyal geçirilmesinde önemli bir rol oynar ve hücre çoğalması ve farklılaşması için hücre içi regülatör görevi yapar
- **NANOG:** NANOG protein, hücrenin nükleer bileşenine lokalize olmuş ,305 amino asit içeren DNA bağlanmasını kolaylaştıran bir proteindir.

WNT Sinyal İleti Yolunun Aktivasyonu



1. Hücre proliferasyonu
2. Farklılaşmasında
3. Transkripsiyon regulasyonu
4. Hücre adhesyonu

•Notch; gelişimsel olarak korunan transmembran reseptörlerini kodlar ve bu reseptörler birbirinden farklı ama eşit olarak korunmuş transmembrana bağlanan iki ayrı ligant ailesi tarafından aktive olurlar.

Hematopoetik kök hücrelerde ve Timositlerde WNT ekspresyonu

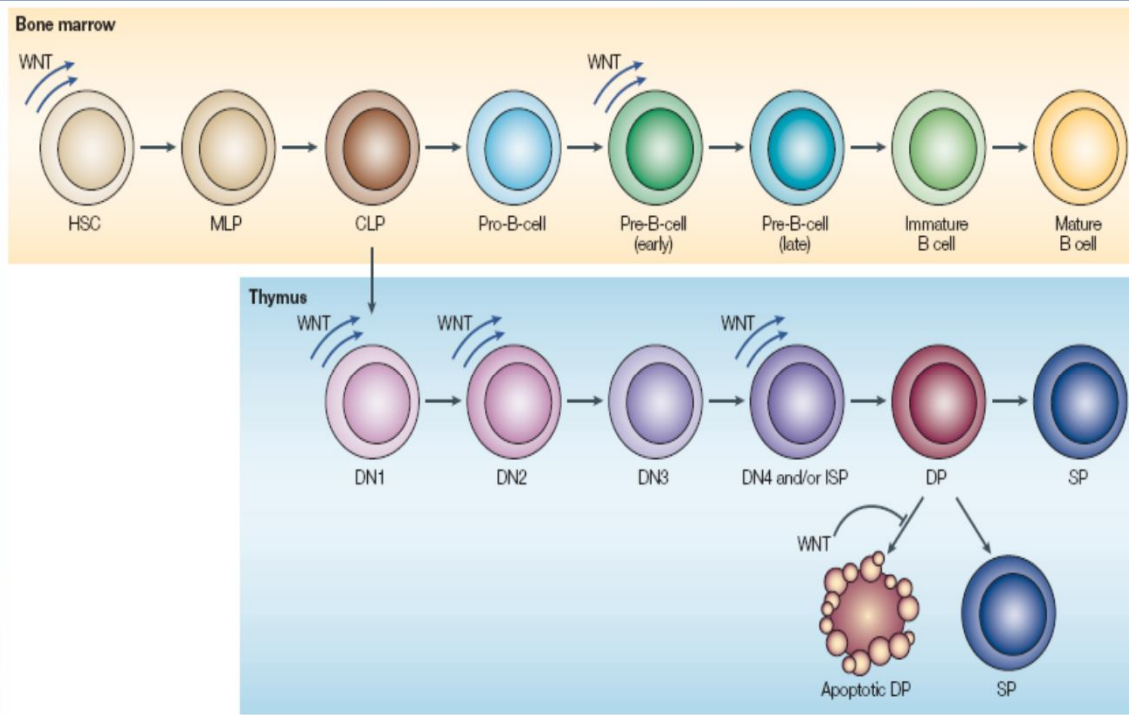


Figure 3 | WNT signalling in haematopoiesis and thymopoiesis. A schematic depiction of the various cellular stages of

- WNT sinyal ileti yolunun embriyonik dönemdeki aktivasyonu T hücre ve B hücre normal gelişiminde rol oynarken,
- Postnatal dönemdeki aktivasyonu birçok kanser türünün patogenezeine (kolon, endometriyum, hepatosellüler vb) eşlik etmektedir.

LIF ((**Lösemi inhibitör faktör**)fibroblast tabakası tarafından salgılanır iken aynı zamanda kültür ortamına ilave edilen LIF ile de sağlanır. LIF, LIF reseptör ve gp130 molekülleri ile bir kompleks oluşturarak görev görür. Oluşan bu kompleks Janus'a bağlı tirozin kinaz (JAK)'ı aktive eder. Sinyalin aktivasyonunu sağlayan transkripsiyon faktör ailesi (Signal transducer-activator of transcriptipon: STAT)fosforilizasyon işleminden sonra aktive olur ve özellikle LIF'in aktivasyonu sonucunda STAT3'ün aktivasyonu ile EKH çekirdeğini etkileyerek EKH farklılaşmadan çoğalması sağlanmış olur

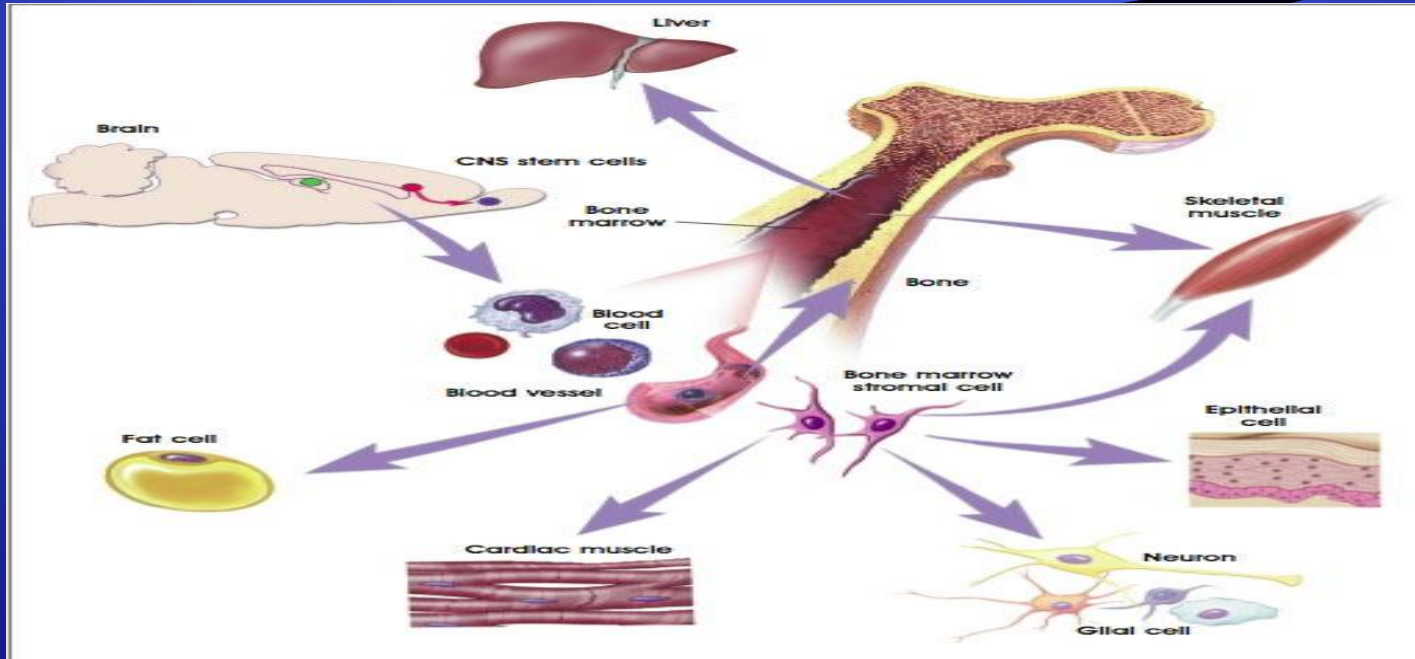


Stem cell Fibroblast hücre tabakası üzerinde gelişen insan embriyonik kök hücre topluluğu. Orijinal doku içerisinde fibroblastlar kök hücrelere spesifik büyüme faktörleri sağlarlar.

Farklanma (Plastisite)

Farklanma, çok hücreli organizmaları oluşturan hücrelerin olgunlaşma sürecinde geçirdikleri bir dizi değişimi tanımlamak için kullanılır.

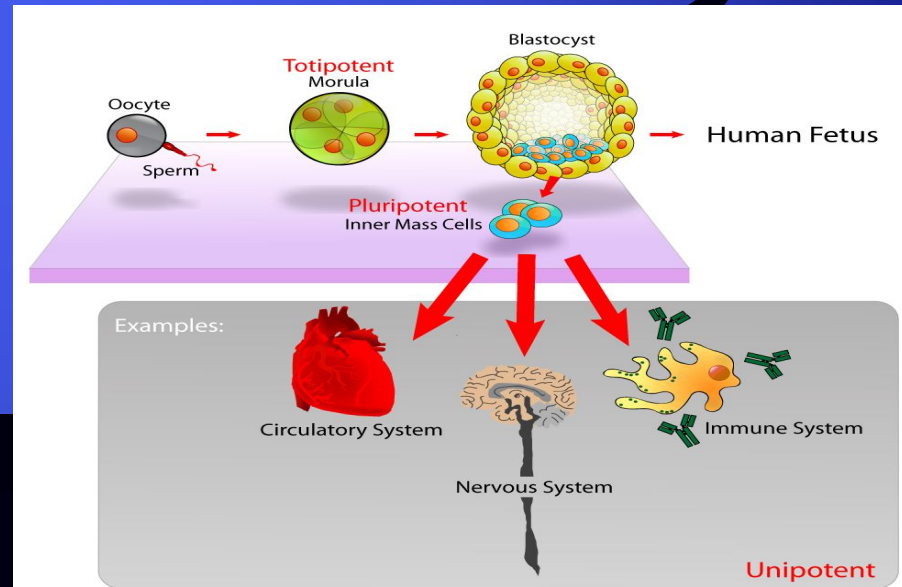
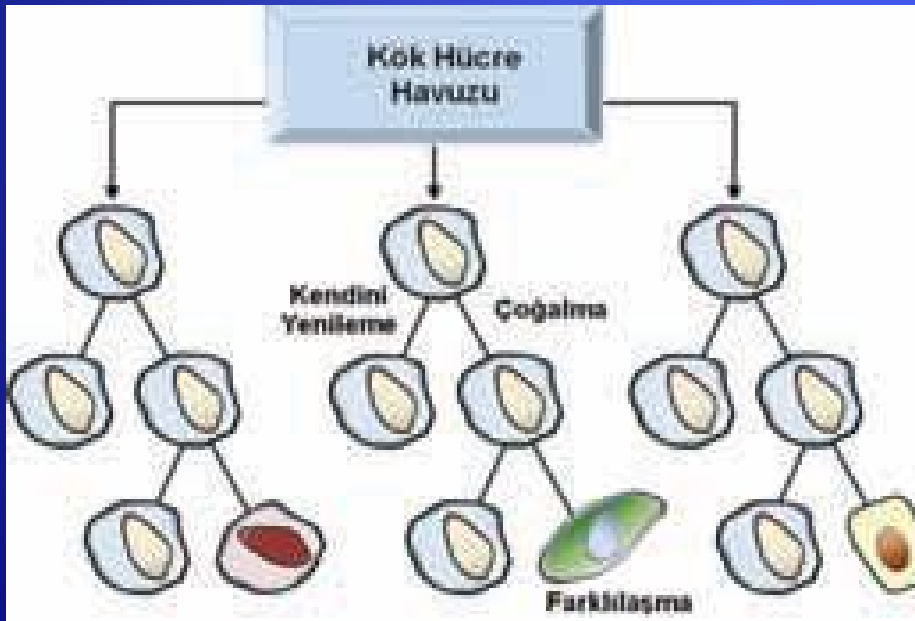
Farklanma sitokinlerin, büyüme ve farklanma faktörlerinin, hücre dışı matriks proteinlerinin ve hücrelerarası iletişimlerin kombine etkisiyle başarılan karmaşık olaylar bütünüdür.



Kök hücreler, iki temel özelliğe sahiptir:

Sürekli çoğalabilir ve böylece kullanılabilir bir havuz oluştururlar. Doğru sinyali aldıklarında çeşitli hücre tiplerine dönüşebilirler

Farklanma yeteneklerine göre tek hücre tipine dönüşebilen unipotent, birden çok hücre tipine dönüşebilen multipotent, vücuttaki pek çok dokuyu oluşturabilecek pluripotent ve tam bir embriyo oluşturabilecek totipotent özellikte olabilirler.



Pluripotent embriyonik kök hücreler, kendini yenileme, çoğalma ve farklılaşma özellikleriyle tanımlanırlar

- **TOTİPOTENT:** Tam bir bireyi verebilecek kapasitede olan hücrelerdir. (*zigot*)
- **PLURİPOTENT:** Üç germ tabakasından türevlenmiş yaklaşık 200 çeşit hücreyi verebilen hücrelerdir. (*İç hücre Kitlesi (ICM)*)
- **MULTİPOTENT:** Pluripotent hücrelerden daha sınırlı sayıda hücre tipine dönüşen hücrelerdir. (Erişkin kök hücreler)

Kök hücreleri farklılaşma potansiyellerine göre sınıflandırılırlar

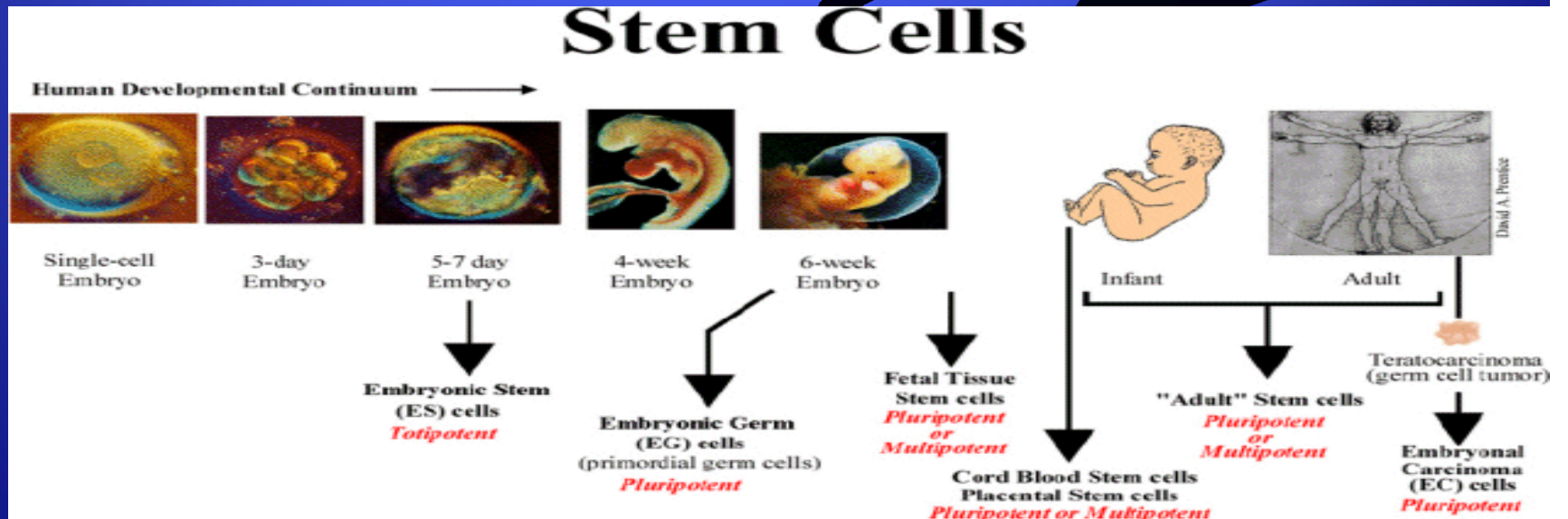
1. **TOTİPOTENT**, Kök hücreleri vücudumuzun bütün doku ve hücrelerini oluşturma özelliğine sahip hücrelerdir. Bu hücreler yumurta ve sperm hücrelerinin füzyonundan sonra üretilirler. Döllenmiş yumurta hücresinin ilk bir iki mitoz bölünmesi sonucunda oluşan hücrelerdir.

2. **PLURİPOTENT**, Kök hücreleri totipotent hücrelerden köken alan ve üç germ tabakasından gelişen bütün hücreleri oluşturma yeteneğinde olan hücrelerdir.

3. **MULTİPOTENT**, Kök hücreleri birbirine yakın hücre gruplarını oluşturabilen kök hücreleridir.

4. **OLİGOPOTENT**, Kök hücreleri lenfoid ve myeloid hücrelerde olduğu üzere sadece birkaç hücre grubunu oluşturan kök hücreleridir.

5. **UNİPOTENT**, Kök hücreleri kas ana hücresinde olduğu üzere bir hücre tipini oluşturan kök hücreleridir.



Kök hücre belirteçlerini kullanarak kök hücre tipini belirlemek, günümüzde en yaygın başvurulan yöntemlerden birisidir. Hücrelerin yüzeyinde yer alan, hücrede sinyal yolları üzerinde veya hücre-hücre yapışma molekülleri olarak rol oynayan bu belirteçlerden birçoğu kısaca “CD” (Farklanma Kümeleri=Clusters of Differentiation) olarak bir başlık altında toplanmış olup, hücre türüne göre çok özgün veya çok yaygın olarak bulunurlar

Kök hücrelerini diğerlerinden ayıran en önemli özellik, farklanma yetkinliklerinin yüksek oluşudur.

Bu özellikleri sayesinde organizmanın hücresel yapım ve onarım olaylarında eksilen hücreleri yenilemek üzere geniş bir olarak sunarlar

Kök Hücre Çeşitleri

Kök Hücreler

Embriyonik Kök Hücreler

Embriyonik Olmayan Kök Hücreler

Erişkin Kök Hücreleri

Fetüs Kök Hücreleri

Kadavra Kök Hücreleri

Hematopoetik Kök Hücreler

Kemik İliği Kök hücreleri

Periferik Kan Kök Hücreleri

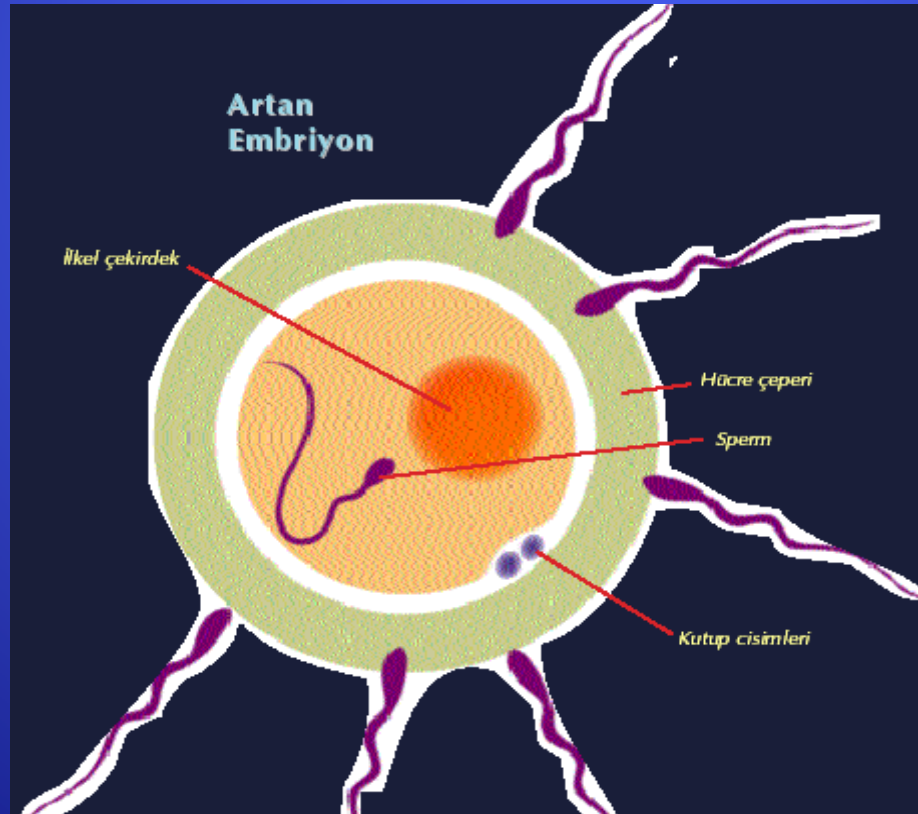
Kordon Kanı Kök Hücreleri

Stromal Kök Hücreler

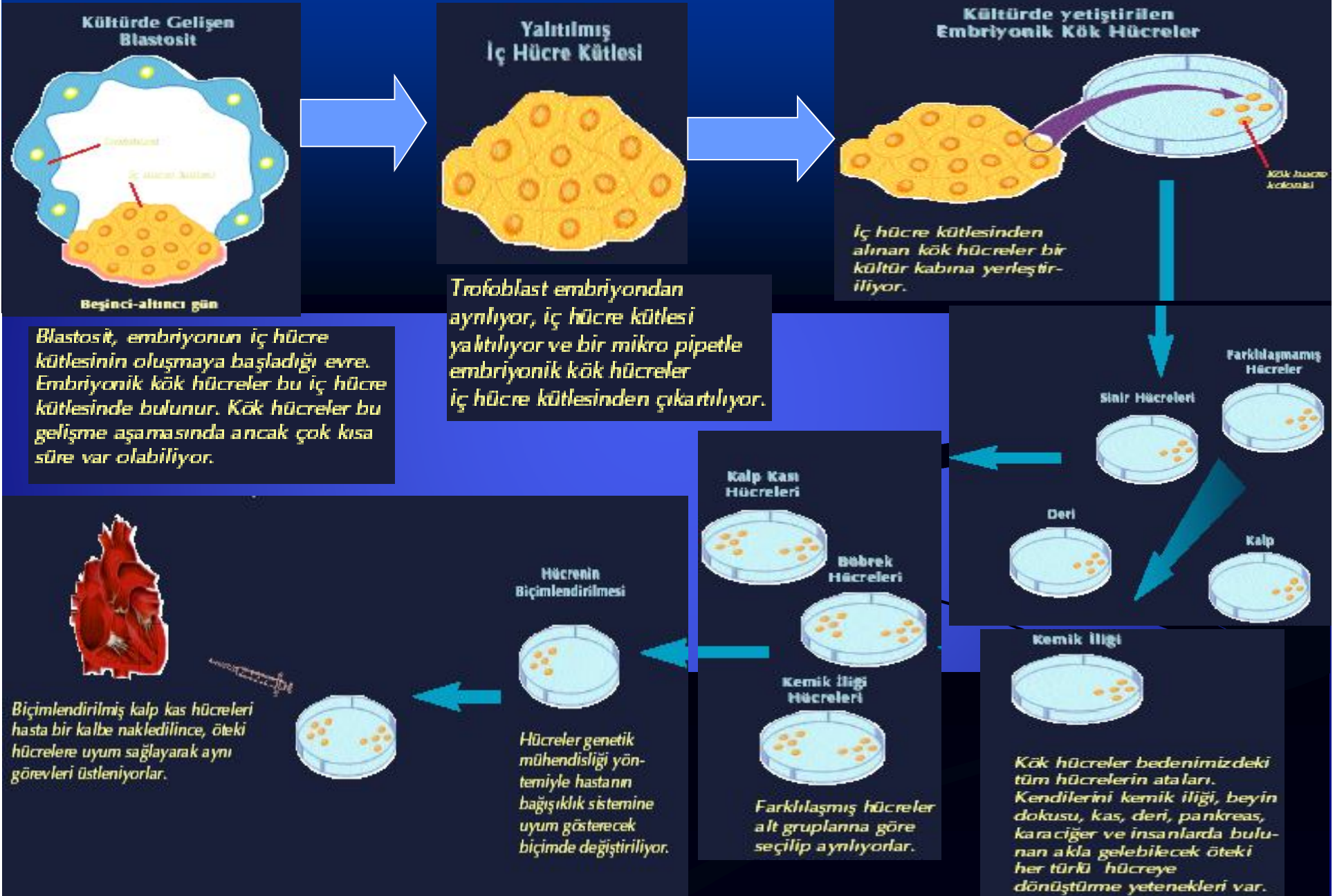
Organlardaki Kök Hücreler

Kök hücre Embriyonik ve Yetişkin	Kaynak	Üretilen
Embryonik kök hücre ----- Embryonik germ hücre	blastosistin iç hücre kitlesi ----- fetal gonadların primordial germ hücresi	tüm hücreler ----- tüm hücreler
Yetişkin Hematopoietik kök hücre(HSC)	kemik iliği, Umbilikal kord Periferik kan	Kan hücresi
Mezenşimal kök hücre (MSC)	kemik iliği kordon kanı Periferik kan (yağ doku)	osteoblast, kondroblast adiposit,kas stromal hücreler
Nöral kök hücre ----- Epitel öncü hücre	Beyin ----- Deri,GIS	Nöron,astrozit oligodendrosit ----- Epidermal hücre, Kıl folikülleri glandular hücre Epitelial crpt hücre
Çizgili kas öncü hücre ----- Endotel öncü hücre	kas, (kemik iliği) ----- Damar (Kemik iliği)	Çizgili kas ----- Endotel döşeyen hücre

DÖLLENMEDEN HEMEN SONRA



BAŞTAN SONA KÖK HÜCRE ELDESİ ve UYGULAMASI



EMBRYONEL KÖK HÜCRE



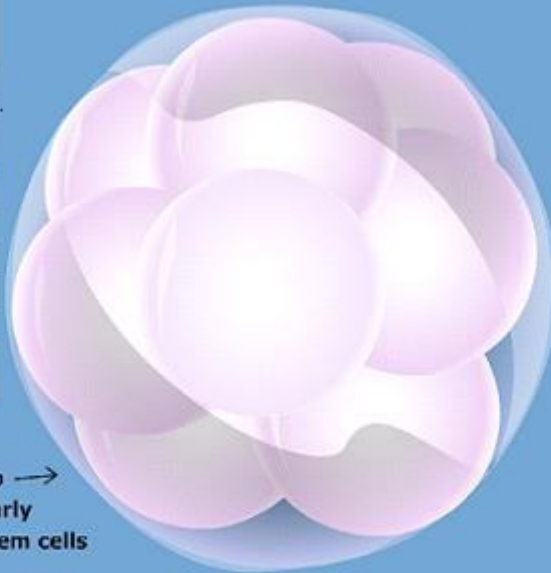
- Anneden gelen yumurta ile, babadan gelen spermin döllenmesiyle oluşan ilk hücreye "zigot" denir.
- Daha sonra zigot bölünüp 2, 4, 8 hücre oluşturur. (her 36 saatte 1 sayısı 2' e katlanır.)
- İlk 4 gün içinde oluşan 8 hücrenin her biri, bir insan oluşturabilecek potansiyele sahiptir.
- Anne karnındaki gelişimin 5. gününde oluşan hücre topluluğuna "blastosit" denir.
- Blastositler tek başına birey oluşturamaz ama insan vücudaki 200'den fazla hücre türlerine dönüşebilirler.

Erken embriyonik kök hücreler

Totipotent: Stem cell that can become ANY kind of cell in the body.

"Toti" comes from the Latin word meaning "whole" or "total", so you can think of a totipotent stem cell as having "total" potential.

Eight cell stage embryo → containing early embryonic stem cells



Early Embryonic Stem Cells

The first step in human development occurs when newly **fertilized** egg, or **zygote**, begins to divide, producing a group of stem cells called an **embryo**. These early stem cells are **totipotent**, meaning that they can become any kind of cell in the body.

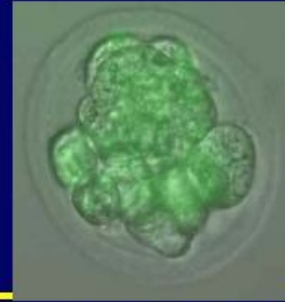
- Early embryonic stem cells
- Blastocyst embryonic stem cells
- Fetal stem cells
- Umbilical cord stem cells
- Adult stem cells

İNSAN EMBRYONİK KÖK HÜCRELERİNİN İN VİTRO FARKLILAŞMASI

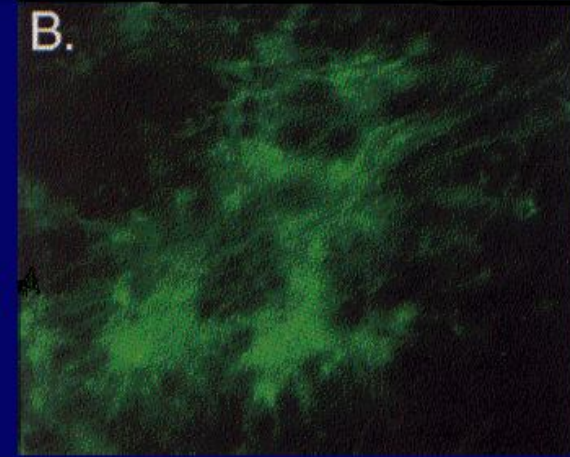


NÖRONLAR

Tubulin+

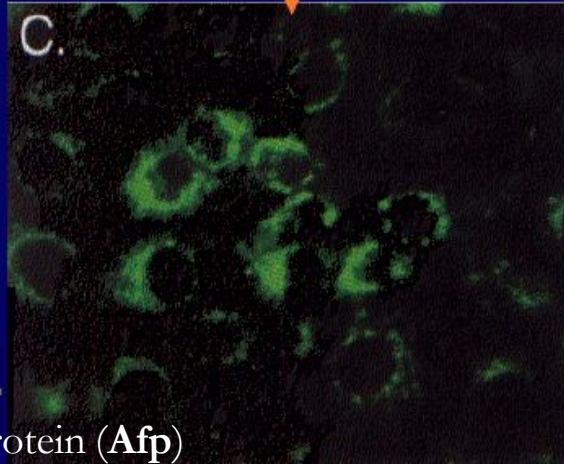


**EMBRYONİK
KÖK
HÜCRELER**



Cardiomyositler

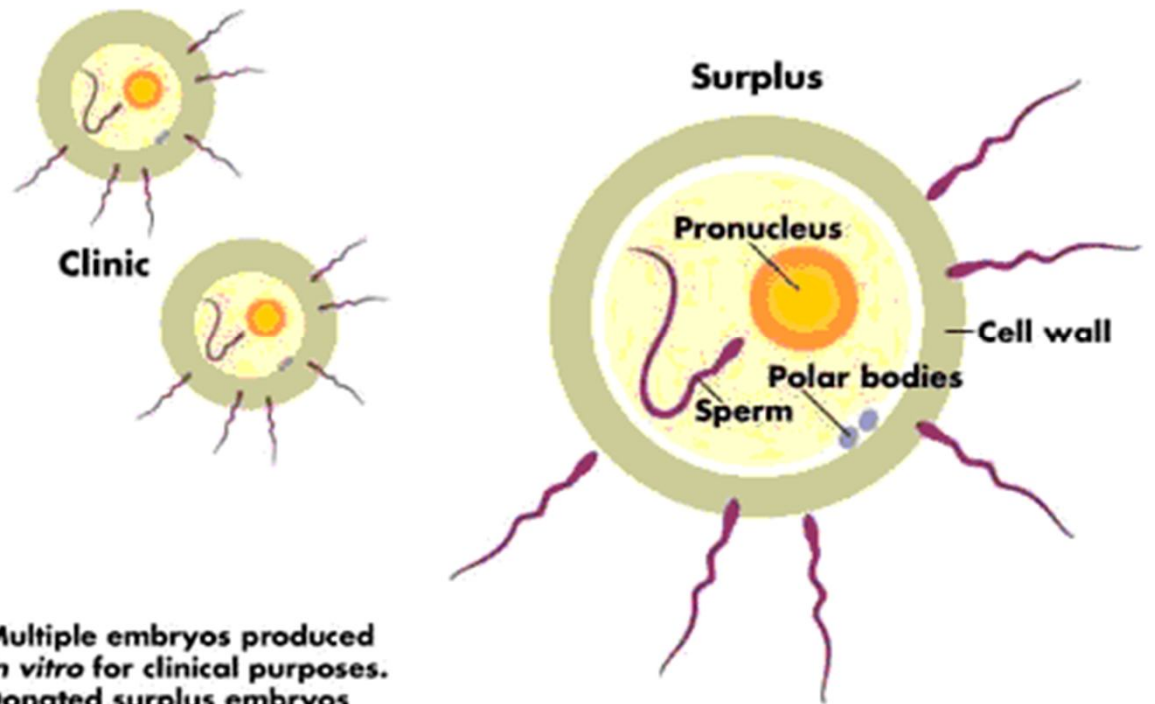
**Cardiac
troponin+**



Endoderm-AFP +

Alpha-fetoprotein (Afp)

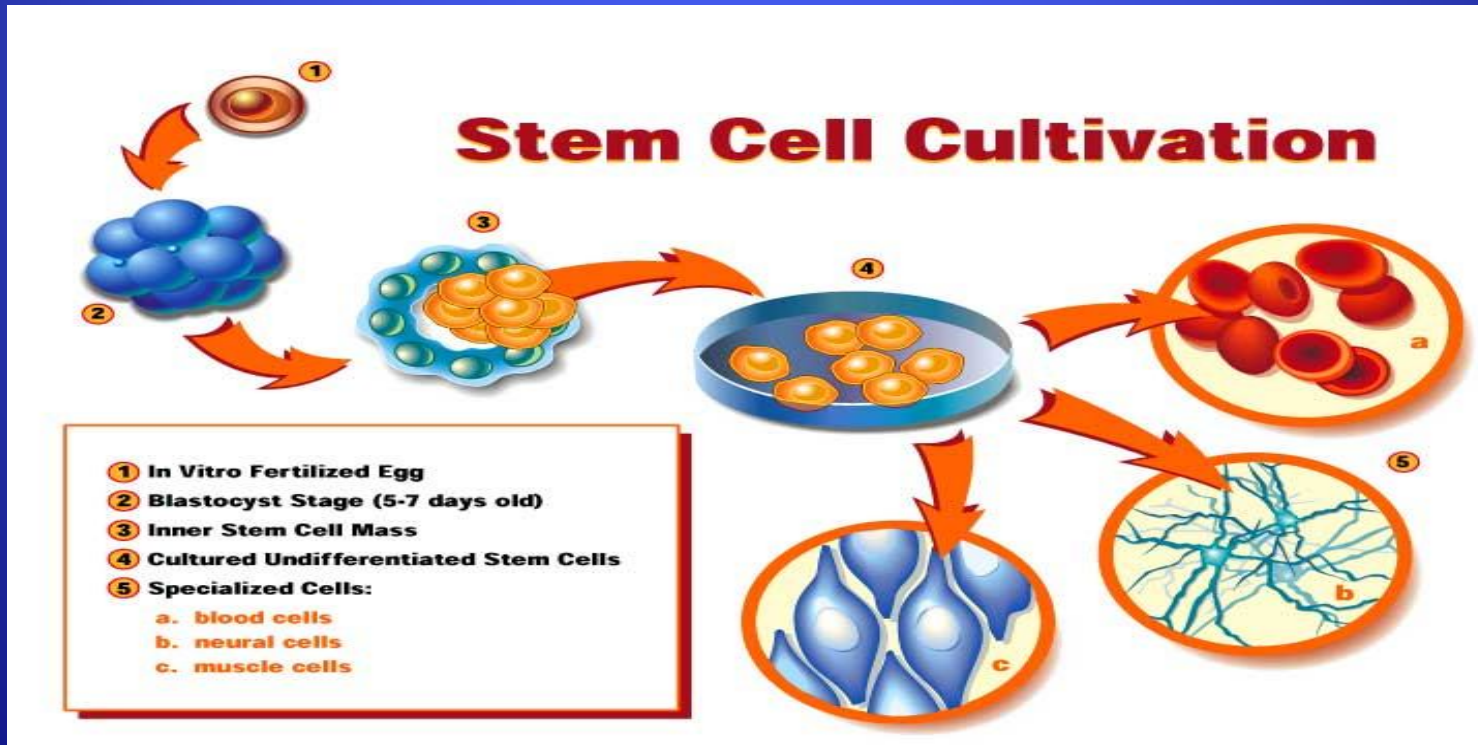
***In Vitro* fertilized embryo**



Multiple embryos produced *in vitro* for clinical purposes. Donated surplus embryos used to culture embryonic stem cells.

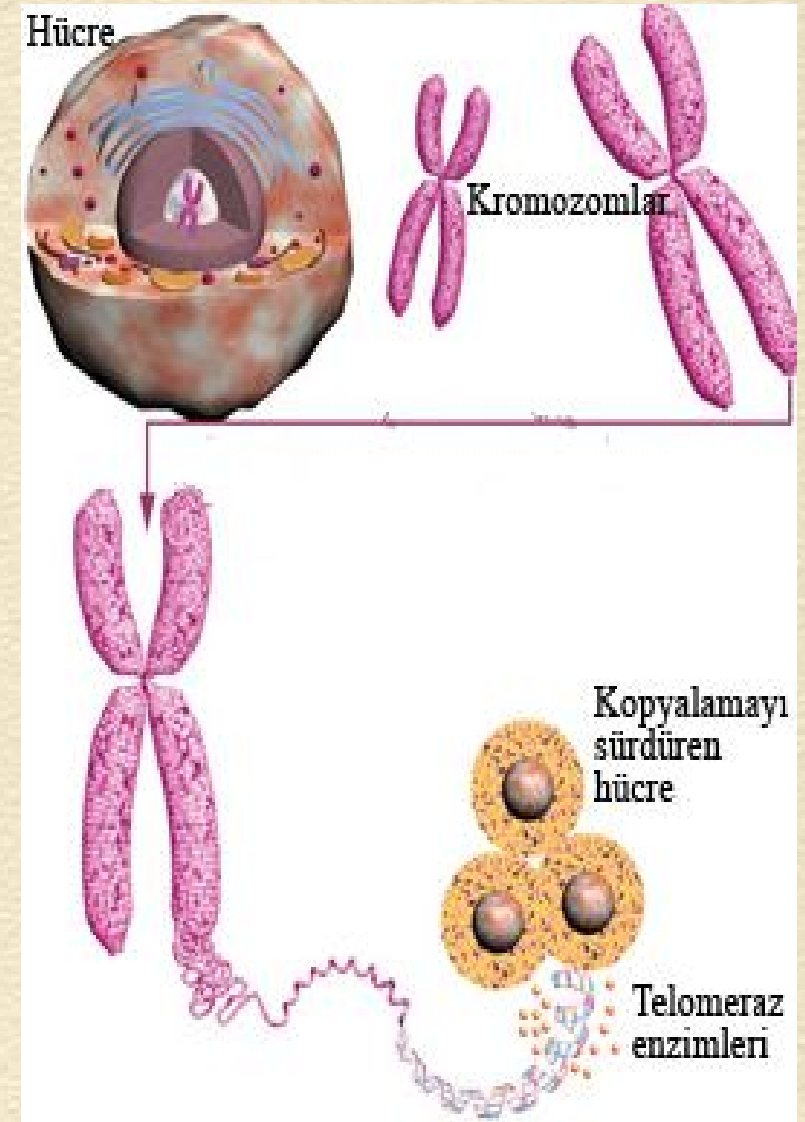
Early day 0

- Blastosit adı verilen bu hücre topluluğundan alınan hücrelerin her birine "embriyonel kök hücre" adı verilir.
- Embriyonel kök hücreler daha çok tüp bebek ünitelerinden elde edilir.
- Erişkin kök hücrelerine göre embriyonel kök hücreler; daha hızlı çoğalma gücündedir.
- Çoğalma çeşitliliği olarak da daha geniş bir yelpazeye sahipler.(yani farklılaşma potansiyeli erişkin kök hücrelere göre daha fazla)
- Embriyonel kök hücrelerin telomerleri çok uzun bu da çok uzun süre çoğalabiliyorlar anlamına gelir.
- Hücrelerin ömrünü belirleyen kromozonların ucunda bulunan "telomer" denilen DNA zincirleridir. (bu zincirlerin uzun kalmasını sağlayan ise "telomeraz" enzimidir.)



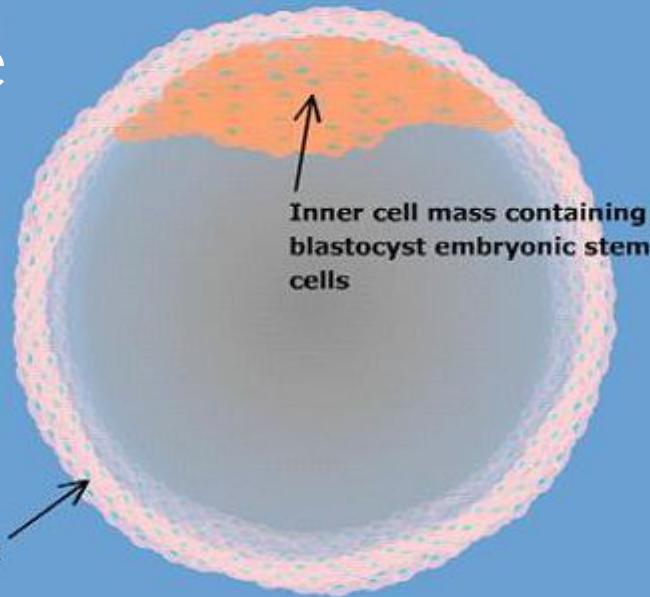
➤ Çoğalma çeşitliliği bakımından diğerlerine göre daha zengin.Yani; farklılaşma potansiyeli oldukça yüksek.

➤ Embriyonel kök hücrelerin **telomerleri** çok uzun olduğu için çok uzun süre çoğalabiliyorlar. Hatta laboratuvar ortamlarında iki yıldan fazla yaşatılabilirler.



Blastosist Embriyonik Kök

Pluripotent: Stem cell that can become ALMOST ANY kind of cell in the body. "Pluri" comes from the Latin word meaning "more" or "most", so you can think of a pluripotent stem cell as having "more" potential.



Blastocyst Embryonic Stem Cells

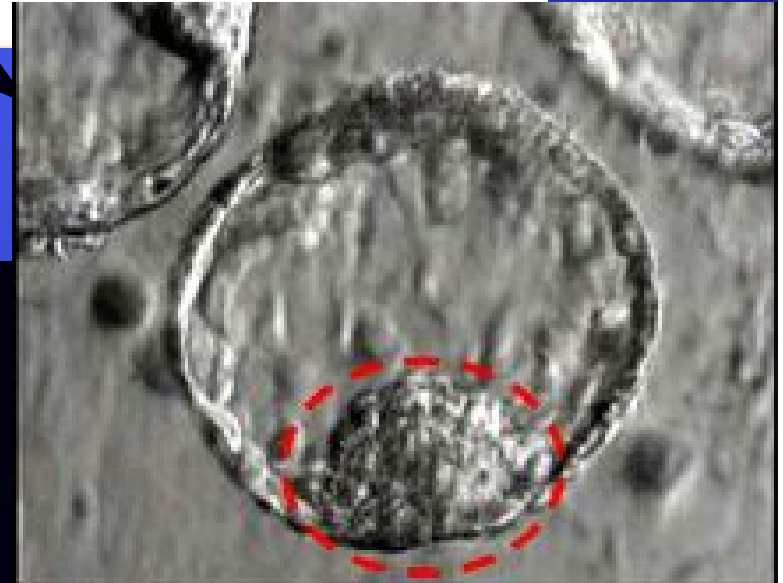
Seven days after fertilization, the embryo forms a hollow ball-like structure called a **blastocyst**. Embryos in the blastocyst stage contain two types of cells. Embryonic stem cells form the **inner cell mass** which ultimately develops into the **fetus**, or unborn child. **Trophoblast** cells make up the outside of the ball and eventually become the **placenta** which supplies nutrients to the fetus.

Embryonic stem cells in the blastocyst are **pluripotent**, meaning that they have the ability to become almost any kind of cell in the body. An embryo at the blastocyst stage has not yet developed features characteristic of the human body.

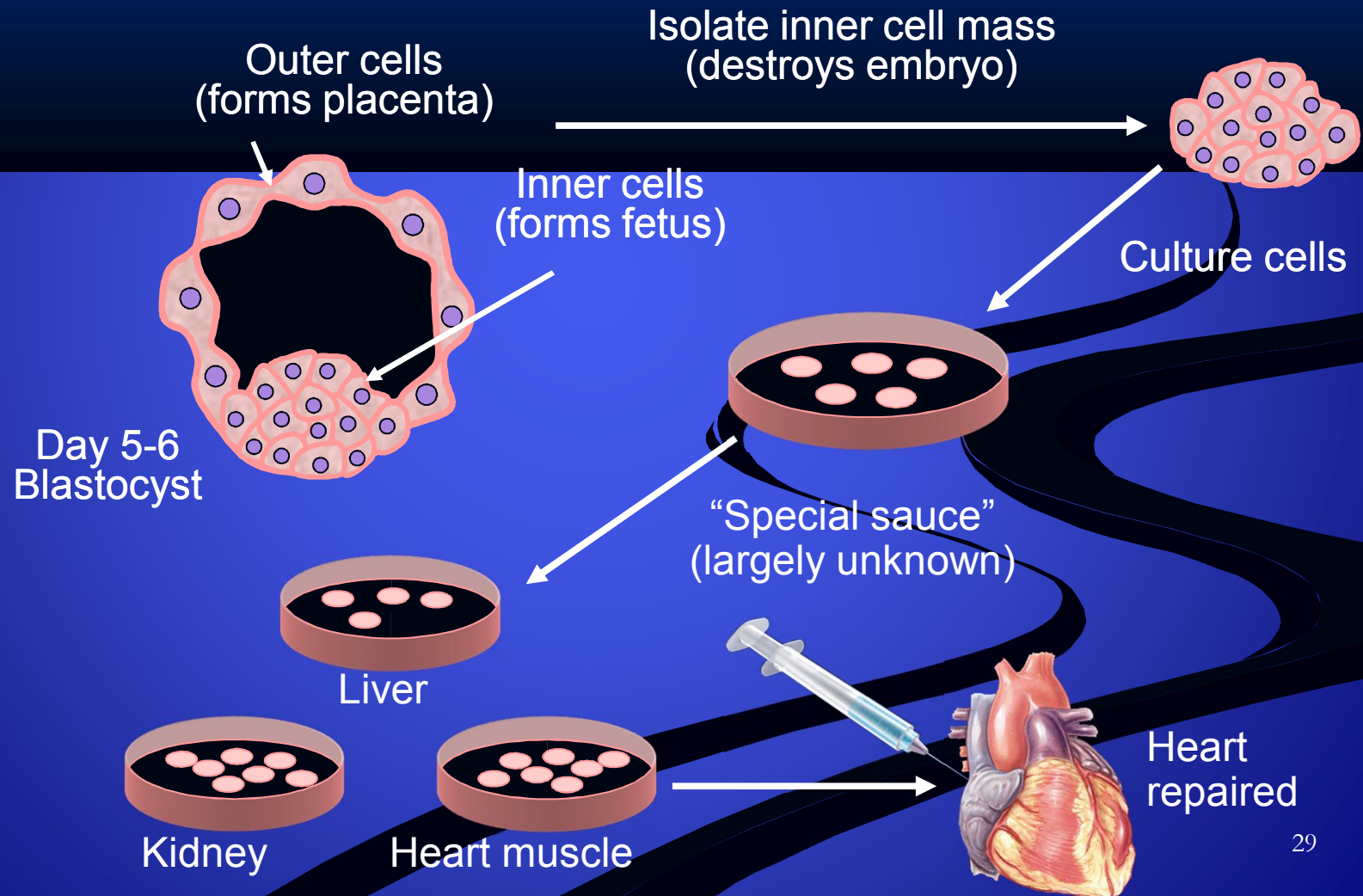
- ✓ Early embryonic stem cells
- ✓ Blastocyst embryonic stem cells
- Fetal stem cells
- Umbilical cord stem cells
- Adult stem cells

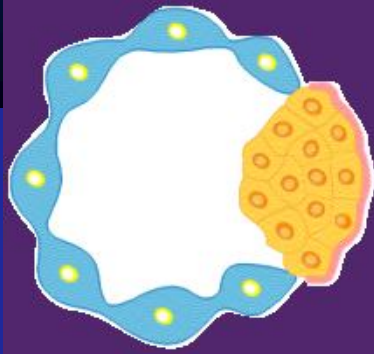
Embriyonik kök hücrelerinin potansiyel kullanımı:

Insan ES hücreleri ile tedavi edilebilecek hastalıklar arasında Parkinson, diabet, travmatik spinal kord yaralanmaları, Purkinje hücre dejenerasyonu, Duchenne tipi musküler distrofi, kalp yetmezliği, ve osteogenezis imperfekta sayılabilir. Ancak, ES hücreleri ile tedavi yapılabilmesi için hücrelerin transplanttan önce spesifik hücrelere dönüştürülmüş olması gerekir. Ayrıca, bu tedavilerin hepsinin hipotetik ve deneysel aşamada olduğunu belirtmek gerekir.



Derivation and Use of Embryonic Stem Cell Lines





Blastosist



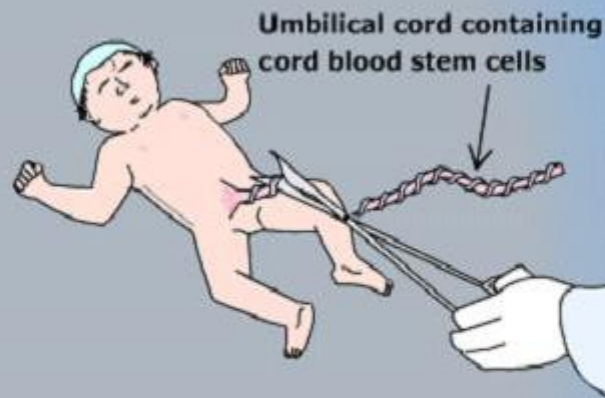
Kültürde
Geliştirilmiş
Embriyonik
Kök Hücreleri



Multipotent Kök Hücreleri

Multipotent: Stem cell that can differentiate into only a limited range of cell types.

"Multi" comes from the Latin word meaning "many" or "much," so you can think of a multipotent stem cell as having "much" potential.



Umbilical Cord Stem Cells

The umbilical cord is the lifeline that transports nutrient- and oxygen-rich blood from the placenta to the fetus. After birth, the umbilical cord is removed from the infant, leaving a bellybutton in its place. Blood from the umbilical cord contains stem cells that are genetically identical to the newborn child.

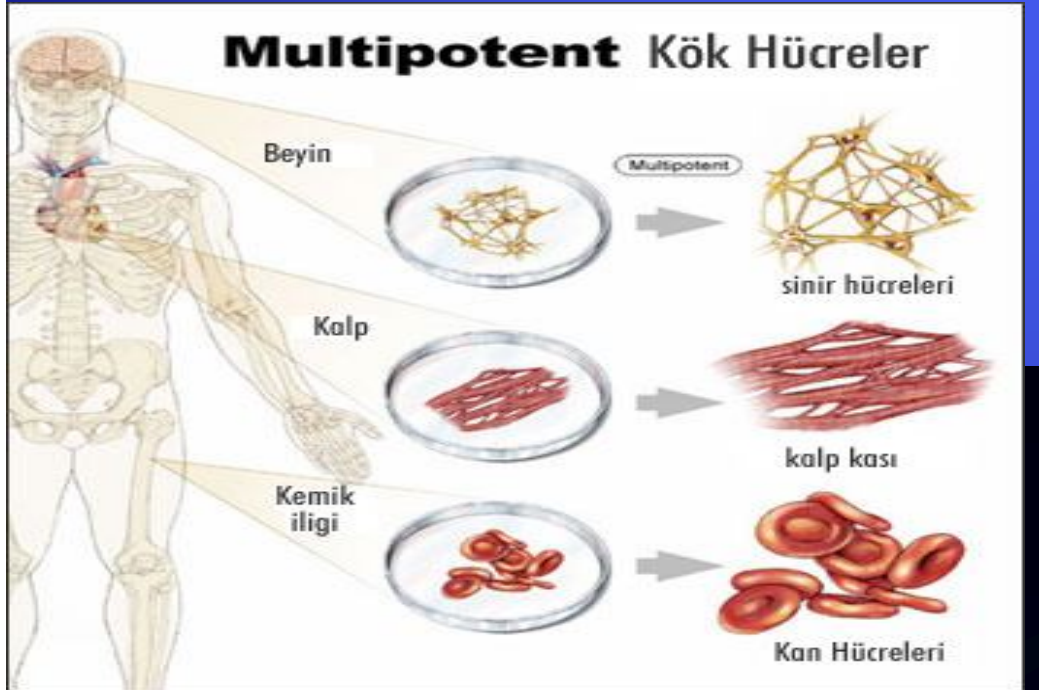
Umbilical cord stem cells are **multipotent**, meaning that they can differentiate into only a limited range of cell types.

- Early embryonic stem cells
- Blastocyst embryonic stem cells
- Fetal stem cells
- Umbilical cord stem cells
- Adult stem cells

ERİŞKİN KÖK HÜCRESİ

Erişkin kök hücrelerinin, diğer tüm kök hücreler gibi iki önemli özelliği vardır. Birincisi, uzun süre kendilerini kopyalayabilme özelliğine sahiptirler. İkincisi, özel bir fonksiyonu ve morfolojisi olan spesifik bir hücreye dönüşebilirler.

Kök hücreler ayrışmadan (differansiye olmadan) önce ara bir safha geçirirler. Bu safhadaki hücrelere öncü veya progenitor hücre adı verilir. Fetal ve erişkin dokudaki progenitor hücreler yarı farklılaşmışlardır ve bölünerek matur hücrelere differansiye olabilirler.



PROGENITOR CELL
(e.g., myeloid progenitor cell)



SPECIALIZED CELL
(e.g., neutrophil)

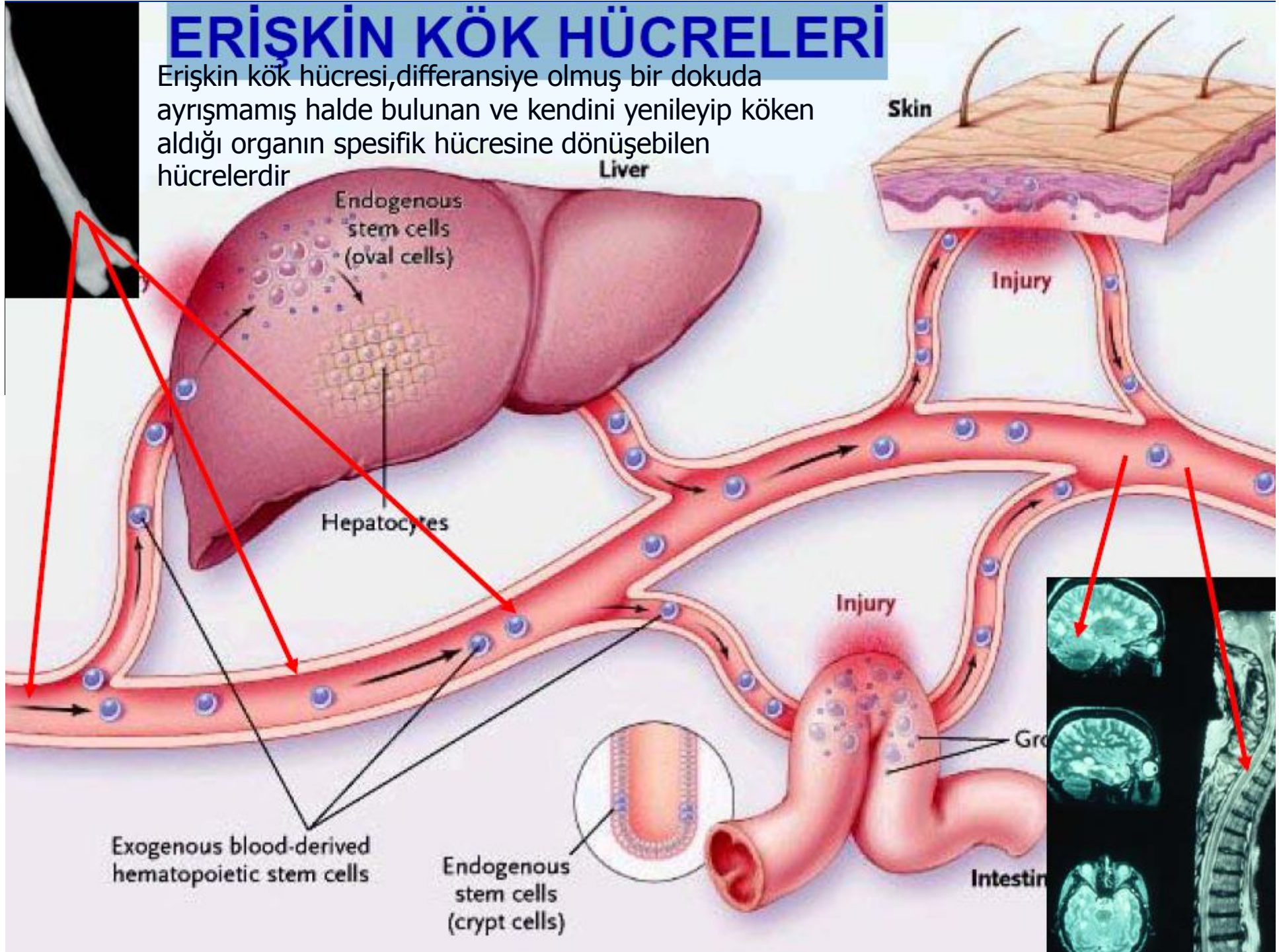


SPECIALIZED CELL
(e.g., red blood cell)

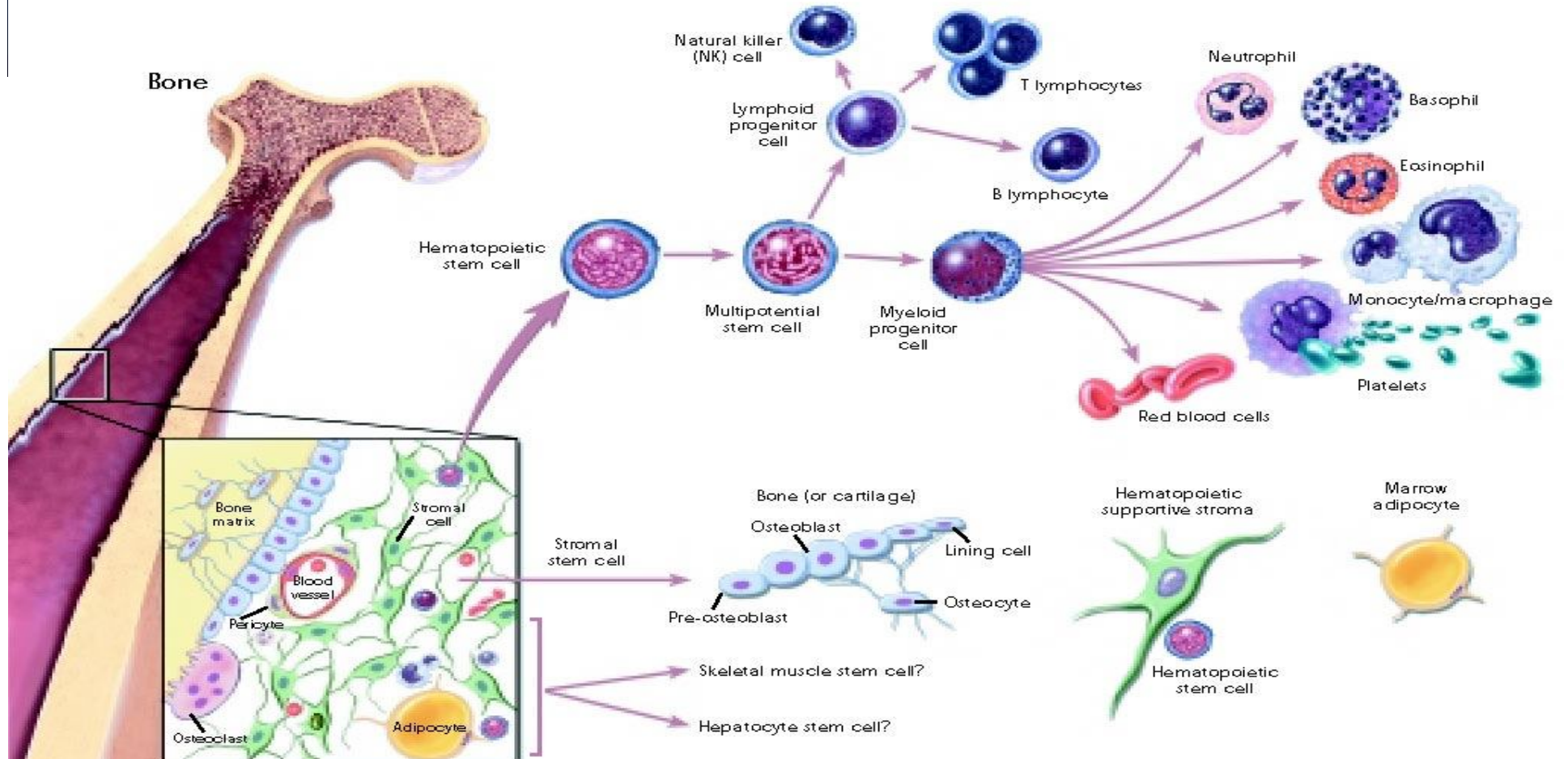


ERİŞKİN KÖK HÜCRELERİ

Erişkin kök hücresi, differansiye olmuş bir dokuda ayrılmamış halde bulunan ve kendini yenileyip köken aldığı organın spesifik hücresine dönüşebilen hücrelerdir



örneğin; hemotopoetik kök hücreler olgunlaşmış kan hücrelerine dönüşmek üzere kemik iliği tarafından sürekli üretilirler. Bu hücrelerin en önemli görevleri kan hücrelerini yenilemektir. Bunun tersine ince bağırsaktaki kök hücreler sabittir (sürekli üretilmezler), ve fiziksel olarak oluşturdukları matür hücrelerinden kolaylıkla ayırt edilebilirler. Kök hücresi içerdiği bildirilen erişkin organ ve doku listesine her gün bir yenisi eklenmektedir, bunlar arasında kemik iliği, periferik kan, beyin, spinal kord, diş kökü, kan damarları, çizgili kas, derinin epitel tabakası, sindirim sistemi, kornea, retina, karaciğer ve pankreas bulunmaktadır.



KARŞILAŞTIRMA

Embriyonik Kök Hücre

Çok sayıda hücreye dönüşme yeteneği

Kültüre edilebilirlik kolay

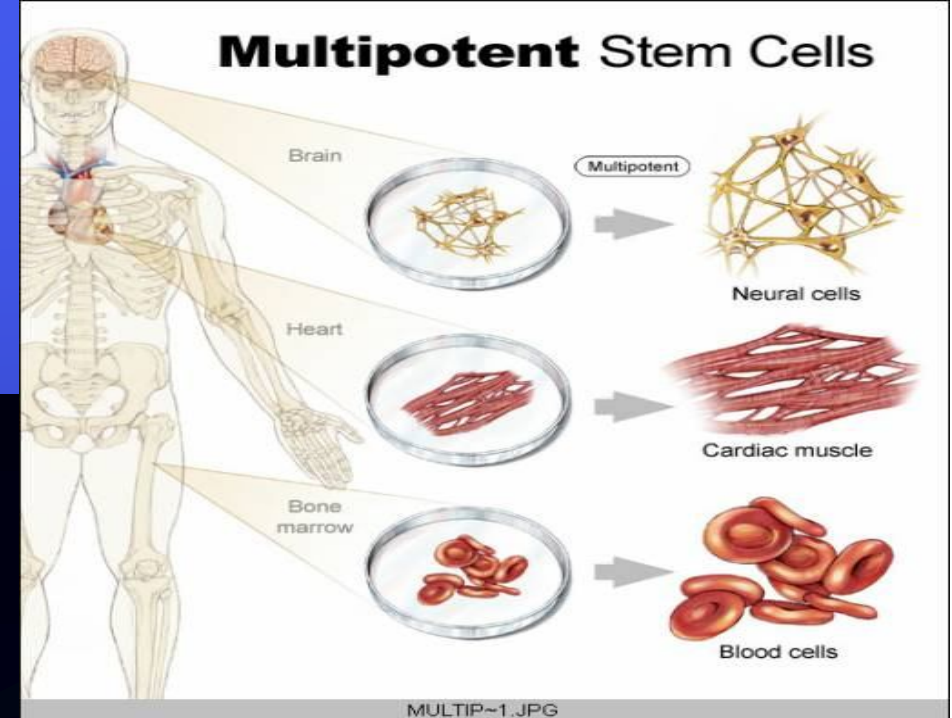
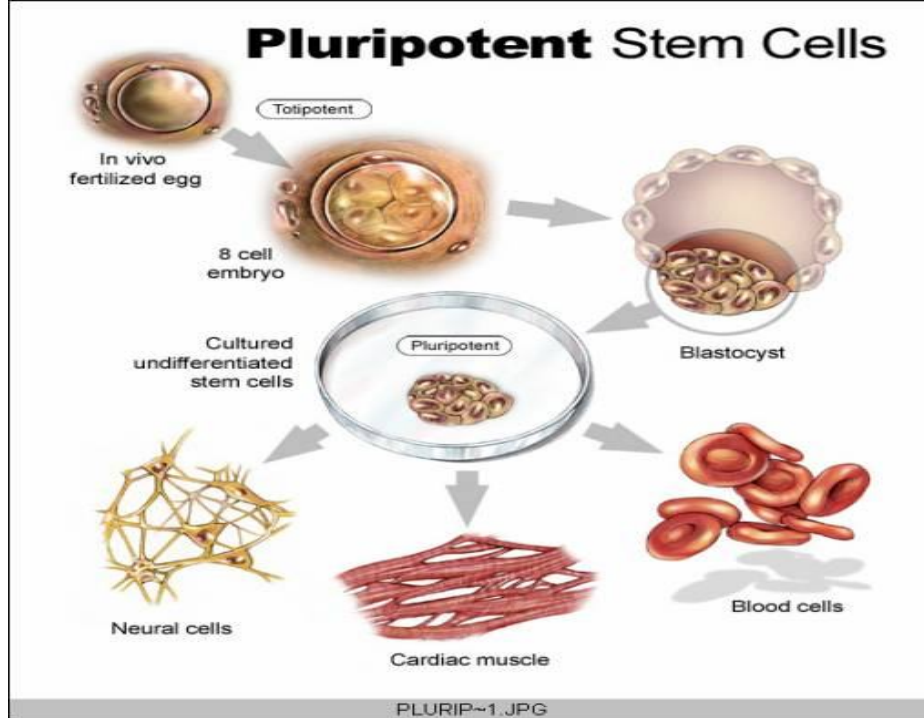
Red edilme riski yok

Erişkin Kök Hücre

Belirli sayıda hücreye farklılaşma yeteneği

Zor ve pahalı

Red edilme riski var



FETUS KÖK HÜCRESİ

- Sınırsız sayıda bölünme ve kendilerini yenileme potansiyeline sahipler.
- Aynı genetik yapıya sahip. (yani çoğalarak kendileri gibi hücre oluşturuyorlar.)
- Embriyolardan elde edilen bu hücreler “pluripotent” yapıdadır. (yani şartlar sağlandığında kas, sinir, karaciğer gibi her hücre türüne değişebiliyorlar.)
- Farklılaşarak kromozon sayılarını yarıya indirip yumurta ve sperm hücresine dönüşebiliyorlar. Ancak tek başlarına yeni bir organizma oluşturamıyorlar.
- Embriyonik kök hücreye alternatifler çünkü kültür ortamında her türlü hücreye dönüşebiliyorlar.(çoğalma potansiyeli biraz daha düşük.)
- Düşüklerden elde edilen fetuslar etik açıdan tartışma konusudur.

Mezankimal Kök (Stromal) Hücreler (MKH) (Fetus/Yetişkin kökenli)

Nomenklatur: Multipotent Mezankimal Stroma Hücresi
(Int. Soc. for Cell Therapy, 2005)

- Erişkinde hazır kök hücre kaynağı
- İşlevsel hücrelere dönüşebilme yeteneği
 - (Mezenkimal seriler, nöron, hepatosit)
- Koloni oluşturma ve kendini yenileme yeteneği
- Heterojen morfoloji
- Sınırlı yaşam süresi (50-100 hücre döngüsü)
- Belli yüzey belirteçleriyle izole edilebilmeleri
 - (CD44, Stro-1, CD29, CD105 vs)
- Bazı hücre tedavilerindeki yeri kanıtlandı
 - Osteogenesis imperfecta (Horwitz et al, 2002)
 - Hematopoetik iyileşme (Koç et al, 2000)
 - Kemik dokusu onarımı (Petite et al, 2000)

Mezenkimal kök hücrelerin karakteristik özellikleri:

- İlk kez 1974'te Friedenstein izole etmiştir.
- Fibroblastoid -çubuk- şeklinde
- Cam, plastik, polistiren gibi yüzeylere tutunabilir(izolasyon)
- MKHlerin toplamının yaklaşık %10 kadarı hücre döngüsünün S, G2, M fazlarında proliferasyon olurken %90'ı G0/G1 fazında bekler.
- Kemik iliğindeki 1 milyon mononükleer hücreden 2-5 tanesi MKHdir.
(HKH miktarının 10 katından daha az.)
- Kemik iliğindeki kök hücreler içinde kardiyomyositlere *in vitro* olarak dönüşebilenler sadece MKHler
- Sitokin sentezi yapabilirler.

YAĞ DOKUSU

KEMİK

TENDON

Wnt sinyali
(Wnt 10b)

LRP-5/Wnt sinyali
Telomerase
Cbfa-1

Mekanik iletim sinyali

MEZANKİMAL KÖK HÜCRE

bHLH

Hücre adezyonu
SMAD'lar
WISP-3/ Wnt sinyali
MAPK
ECM ilişkileri
Sox 9

Sitokinler
(IL-6, IL-11)

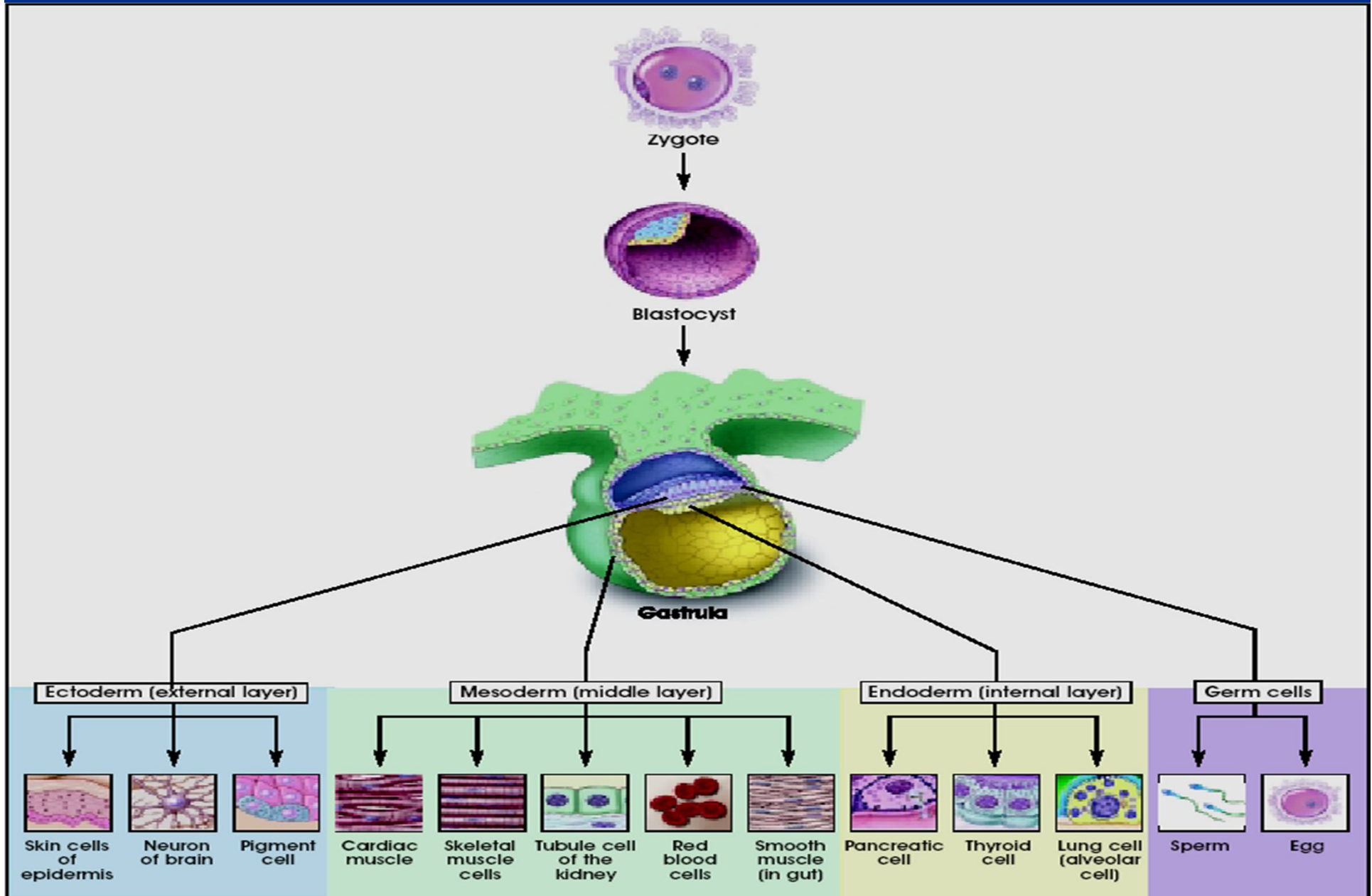
KAS

Kİ STROMASI

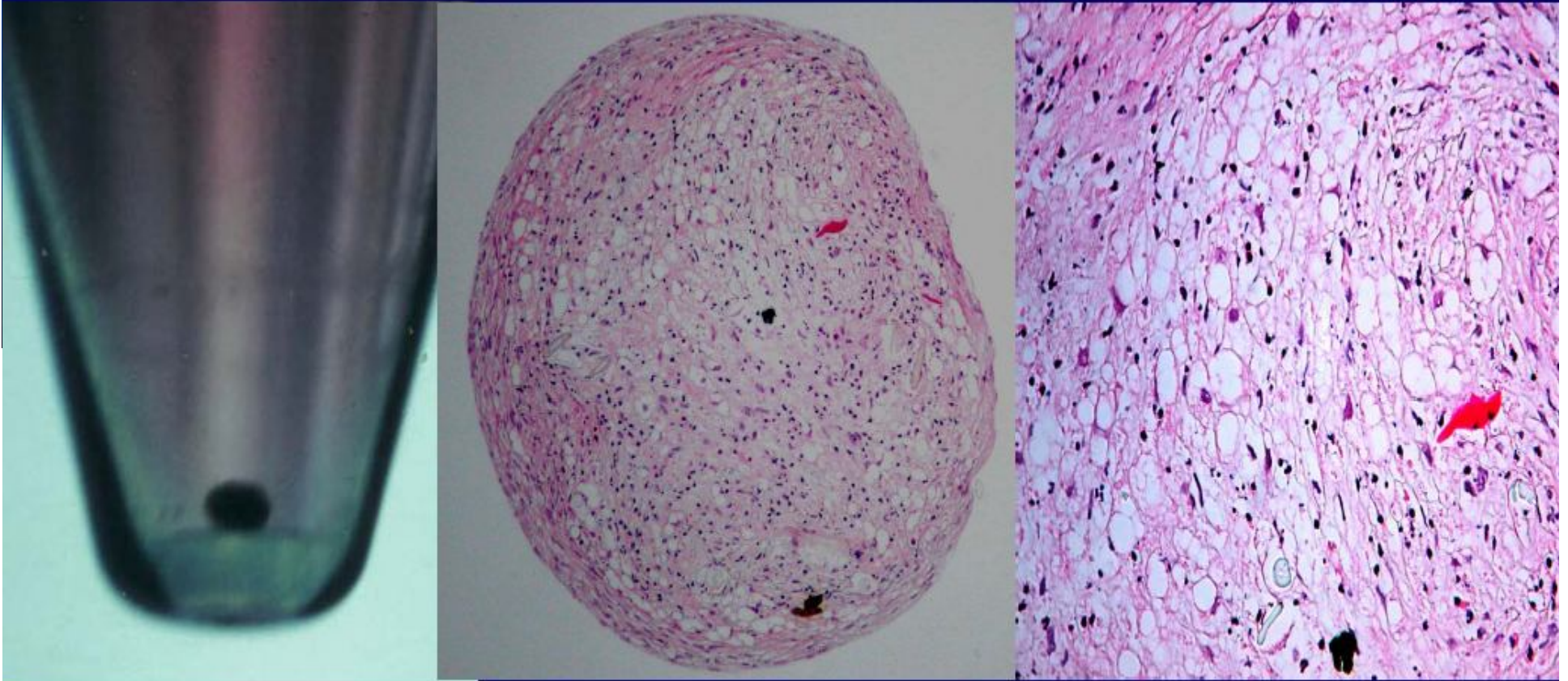
KIKIRDAK



MKHler mesodermal orijinlidir ancak endoderm ve ektoderm orijinli hücrelere transdiferansiye olabilirler.

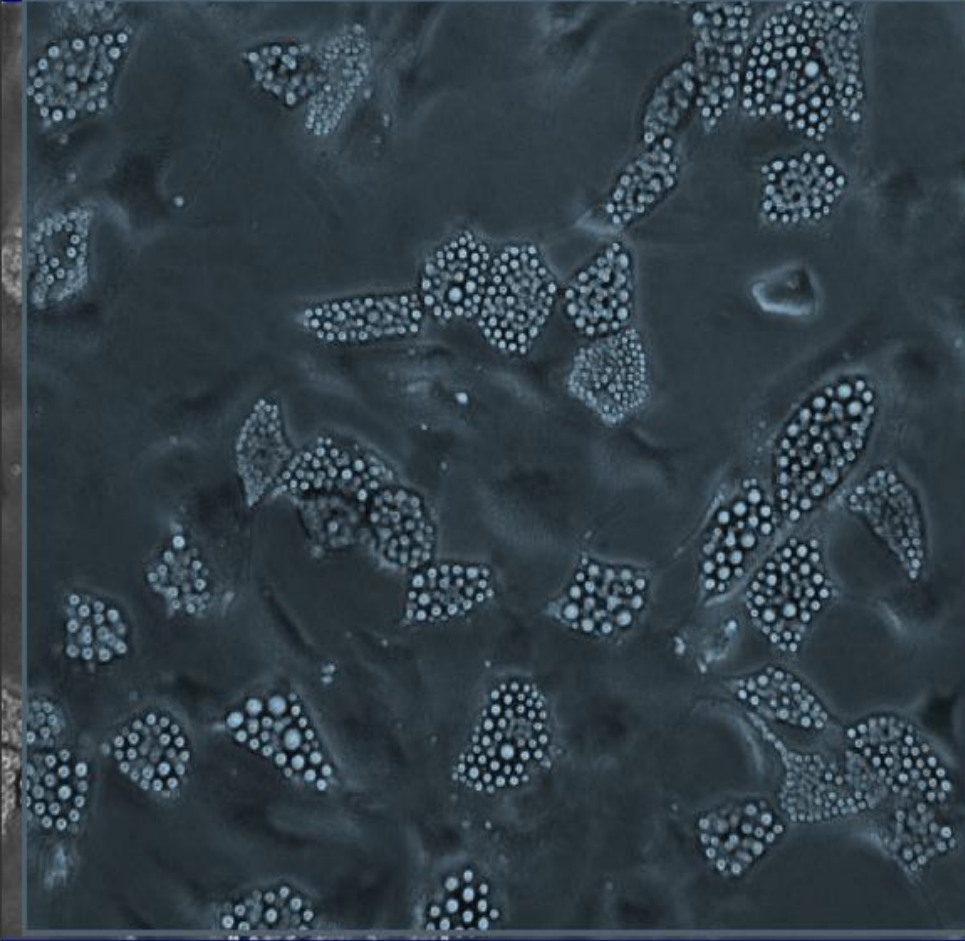


MEZENKİMAL KÖK HÜCRELER

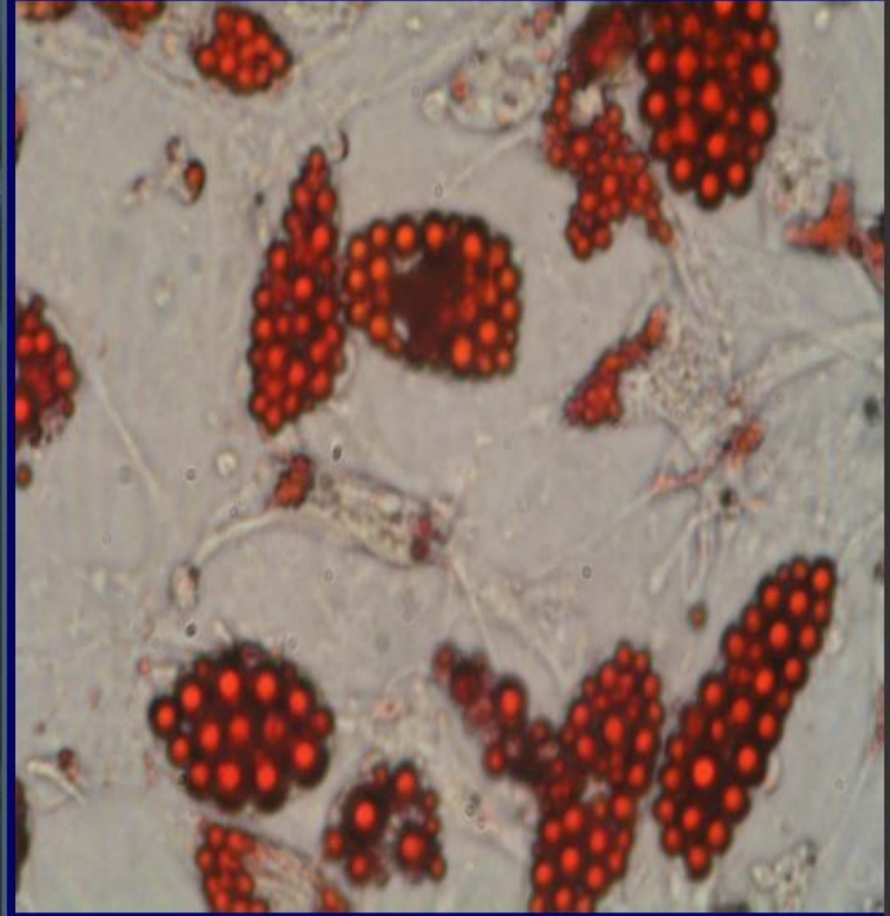


İNSAN MEZENKİMAL HÜCRELERİ İLE KIKIRDAK OLUŞUMU

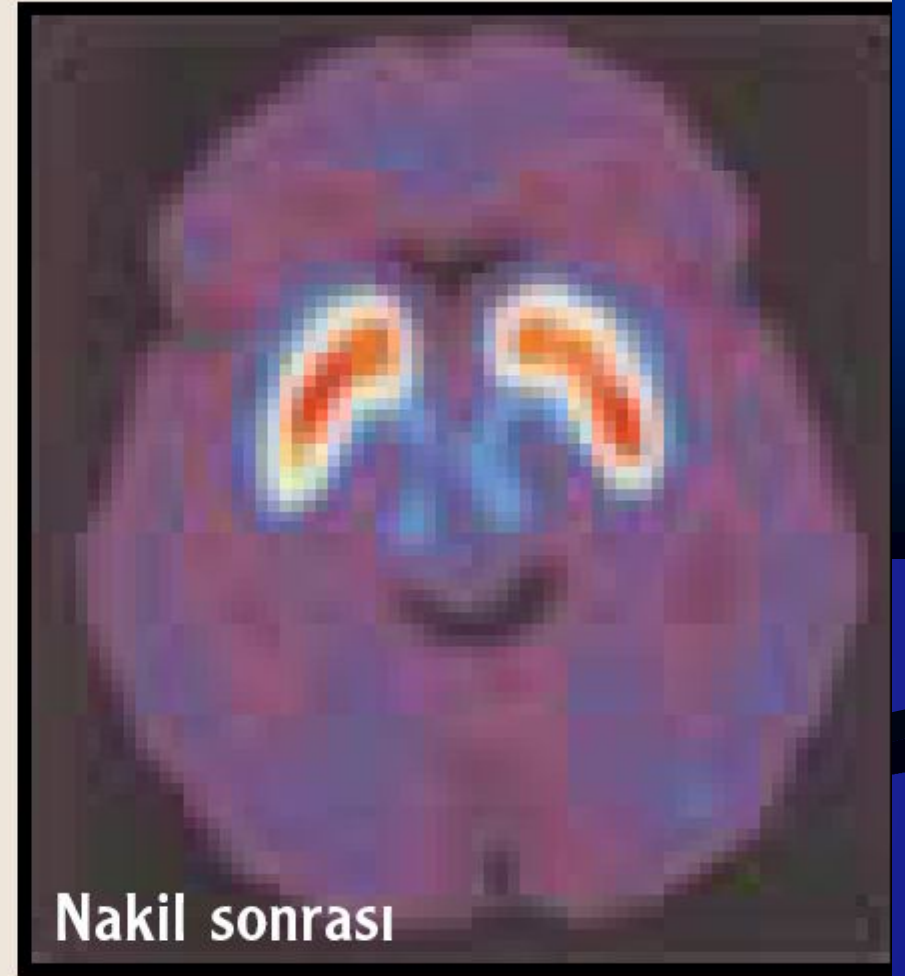
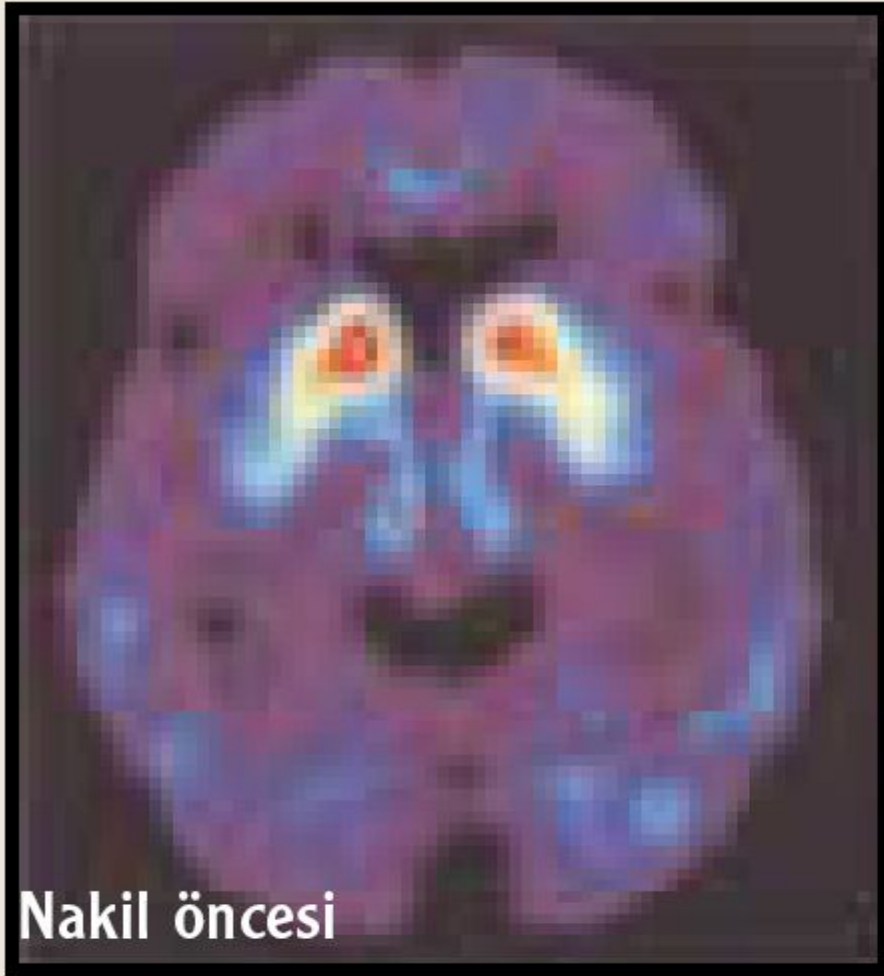
MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN YAĞ HÜCRELERİNE İN-VİTRO FARKLILAŞMASI



ADİPOİTLER



ADİPOİTLER Oil red O +



Fetustan elde edilen sinir hücrelerinin bir Parkinson hastasına nakli öncesi ve sonrasında beynin sintigrafik görüntüsü. Kırmızı alanlar dopamin salgılayan hücreleri gösteriyor.

KULLANIM ALANLARI

- Kök hücreleri kullanılarak organın tamamını değiştirmeden, o organdaki hastalıklı veya ölü hücreleri sağlıklı hücrelerle değiştirmek mümkün olacak.
- Kalp krizi geğirip kalp kaslarının büyük bir kısmını kaybeden hastaya, kök hücrelerden üretilen sağlıklı kalp kası hücreleri nakledilebilecek. Ameliyat yapmadan damardan enjekte yoluyla hasarlı bölge yerini alabilecektir.

- Aynı yöntemler böbrek, karaciğer gibi organların hastalıklarında da kullanılabilir. (organ nakilleri, şeker hastalığı)
- Parkinson, Alzheimer, kazalar sonucu omurilik zedelenmeleri gibi rahatsızlıklarda da tedaviye imkan sağlayacaktır.
- Bu gelişmeler genetik müh. ile paralel gitmekte olup, genetik müh. sayesinde çeşitli hastalıkların ve kanserlerin tedavisi mümkün olabilecektir.

Dokuya Özgü Kök Hücrelerin Avantajları

- EKH'lerin aksine, DÖKH kanseröz yapı oluşturmazlar.
- Hazır kaynak olarak düşünülebilir.
- Bireylerden hızlıca alınabilir.
- Daha az etik probleme neden olur.

Dokuya Özgü Kök Hücrelerin Dezavantajları

- Tanımlanmaları ve saflaştırılmaları zordur.
- Büyük miktarlarda çoğaltılmaları zordur
(sınırlı büyüme kapasitesi)
- Zaman içinde potansiyellerini kaybedebilirler
- Belli hücre tiplerine dönüşmezler
- Alıcıda yüksek oranda bağışıklık yanıtı ortaya çıkarırlar.

Bir hücrenin erişkin tip kök hücre olarak tanımlanabilmesi için, o hücrenin organizmanın yaşamı boyunca kendini yenileyebilmesi gerekir. Buna ilave olarak, bu tip kök hücrelerin klonlanabilmesi gerekir, diğer bir deyişle ihtiyaç olduğunda olgunlaşmış hücrelere dönüşebilecek kendisiyle aynı genetik özelliklere sahip hücreler üretebilmeleridir. Dönüştüğü hücrelerin tamamıyla matür bir hücre fenotipinde olması, bulunduğu dokuya entegre olması, ve o dokuya ait fonksiyonu yerine getirebilmesi gerekir. Fenotip terimi, o hücreye ait gözlenebilen tüm özellikleri içerir, bunlar; hücrenin şekli, diğer hücrelerle olan ilişkileri ve bulunduğu ortam, hücre yüzeyinde bulunan proteinler, ve hücrenin davranışları ile ilgilidir

First, somatic cells are isolated from the patient



Dokuya Özgü Kök Hücrelerin Avantajları

- EKH'lerin aksine, DÖKH kanseröz yapı oluşturmazlar.
- Hazır kaynak olarak düşünülebilir.
- Bireylerden hızlıca alınabilir.
- Daha az etik probleme neden olur.

Dokuya Özgü Kök Hücrelerin Dezavantajları

- Tanımlanmaları ve saflaştırılmaları zordur.
- Büyük miktarlarda çoğaltılmaları zordur (sınırlı büyüme kapasitesi)
- Zaman içinde potansiyellerini kaybedebilirler
- Belli hücre tiplerine dönüşmezler
- Alıcıda yüksek oranda bağışıklık yanıtı ortaya çıkarırlar.

EKH'Yİ BEKLEYEN OLASI TEHLİKELER VE ZORLUKLAR

- Tümör oluşumu
- Tedavi için yeterli sayıda hücre elde edilememesi
- EKH'nin karanlık yüzü: “İnsan mühendisliği ve hayvan-insan melezlerinin tehdidi”
- Homo-superior
- İnsan altı varlıklar

History of Somatic Cell Nuclear Transfer (Cloning)



- 1996 – The first mammal cloned from adult cells was Dolly, the sheep.



- 1998 – Mice cloned
- 1998 – Cows cloned
- 2000 – Pigs cloned

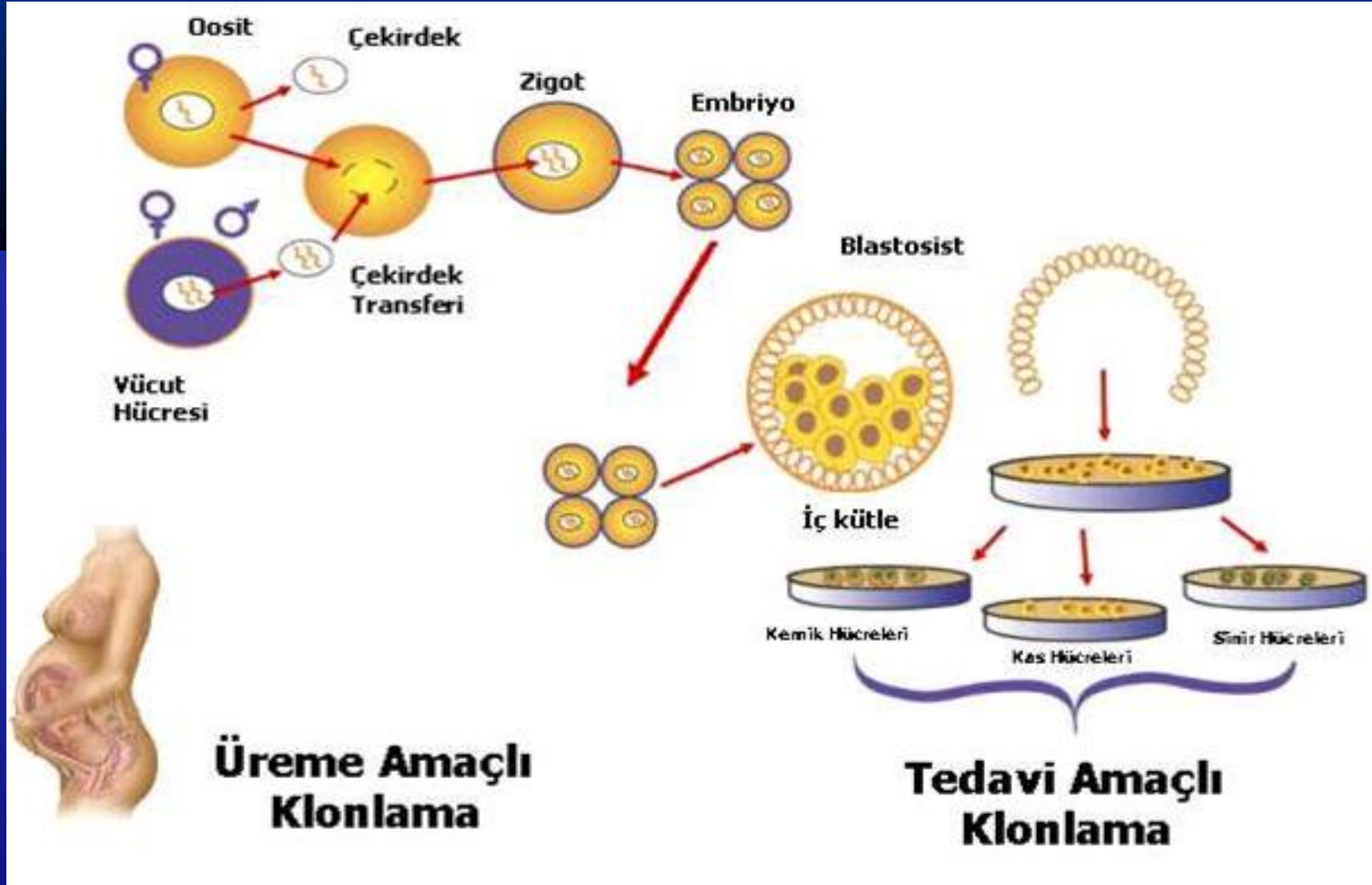


TEDAVİ EDİCİ/AMAÇLI KLONLAMA ve ÜREME AMAÇLI KLONLAMA

İnsan somatik hücre nükleus transferi (SHNT) (klonlama)

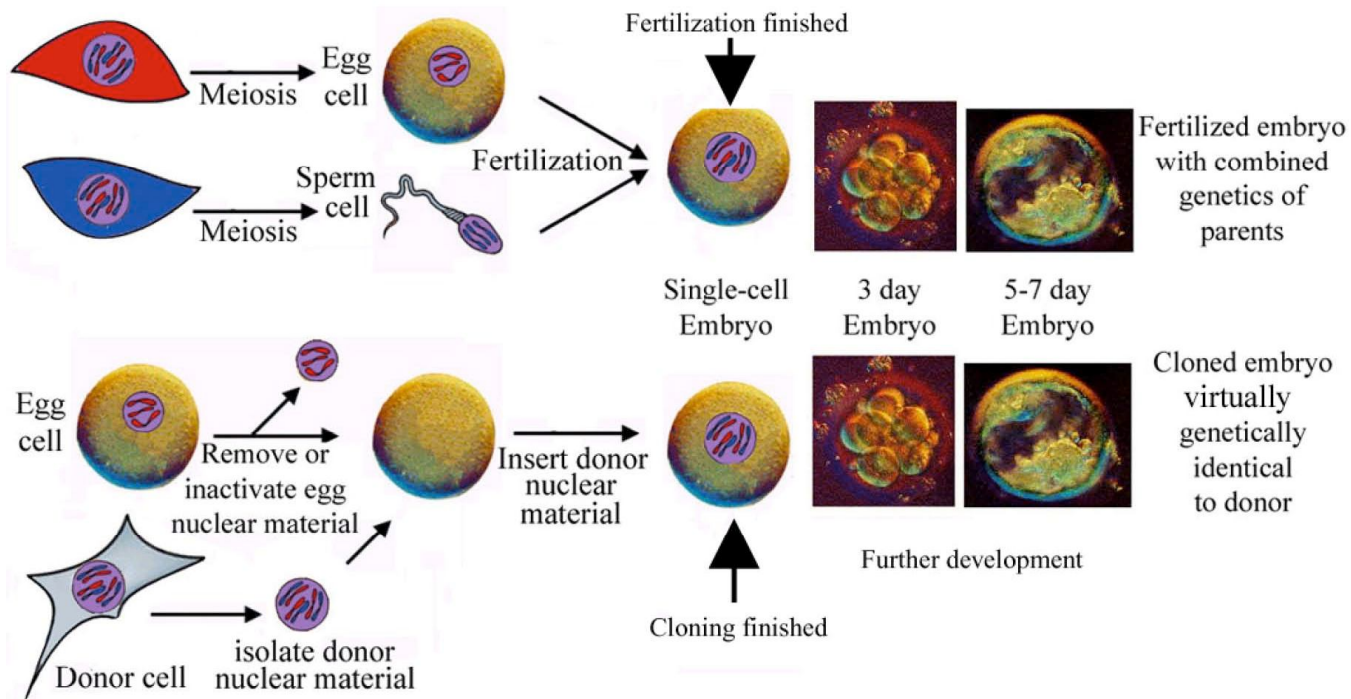
- Klonlanmış embriyoları elde ederken somatik hücre transferi yöntemi uygulanmaktadır. Bu yöntem, bir kadından alınan yumurtanın çekirdeği çıkarılmış üreme hücresiyle, kök hücreden yararlanması düşünülen kişinin somatik hücresinden alınan çekirdeğin nükleer yöntemle döllenip, somatik hücre sahibinin klonu yapay bir embriyo elde etme mantığına dayanmaktadır.

İnsan somatik hücre nükleus transferi (SHNT) (klonlama)



Stem Cell Biology

Fertilization vs. Cloning (somatic cell nuclear transfer, SCNT)



Tedavi edici klonlama sonucu elde edilen embriyonlardan çıkarılan kök hücrelerin statüsü farklıdır.

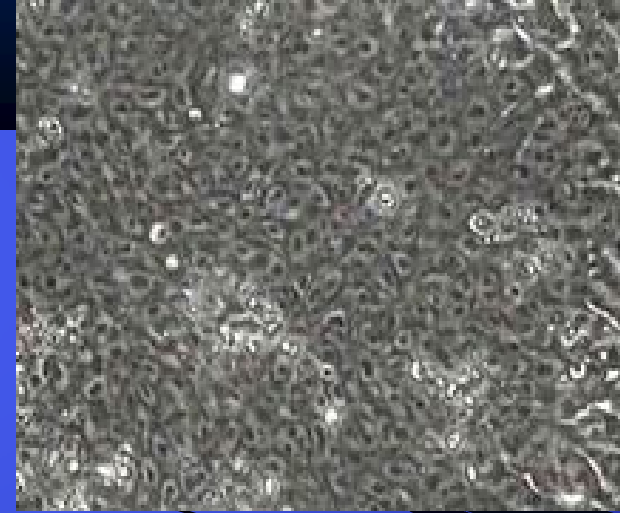
- Burada elde edilen embriyo, embriyo için verilen tanımın dışında kalmaktadır. (üreme hücreleri olan yumurta ve spermin birleşmesi -döllenme- sonucu oluşan ceninin, gelişimin ilk aşamasındaki hücre grubu olduğuna dair olan hukuki tanım)
- Doku reddi olasılığını ortadan kaldırmak için aynı genetik şifreye sahip klonlanmış embriyolardan kök hücre elde etme yöntemi tedavi edici klonlama olarak adlandırılmaktadır.
- Klonlanmış embriyoları elde ederken somatik hücre çekirdeği transferi yöntemi uygulanmaktadır.

Kanser Kök Hücreleri

Kök hücrelerinin kanser hücreleriyle olan benzerlikleri, öteden beri kanser hücrelerinin kök hücrelerinden köken alıp almadığını düşündürmüştür. Kök hücrelerin kendini yenileme ve asimetrik olarak bölünme özellikleri kanser hücrelerinin telomeraz enzimi aktivitesindeki artışla birleşince sonsuz kez bölünebilme durumu ortaya çıkar. Hücrelerin malign fenotip kazanmasıyla birlikte g   etmeleri (metastaz), apoptozisi engellemeleri, hücre zarındaki taşıyıcı mekanizmaları değiştirmeleri ve tutunmadan büyüyebilmeleri gibi nitelikler belirginleşir ki, bunlar kanserdeki tümör hücrelerinin de tipik özelliğidir

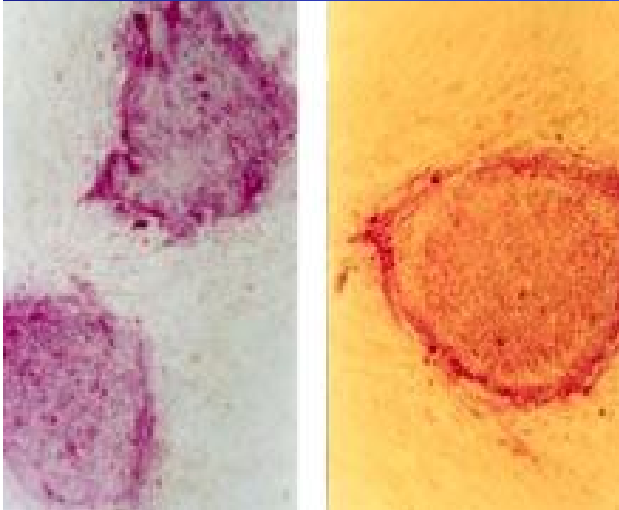
Embriyonik kök hücreleri diğer hücrelerden ayıran morfolojik, genetik, ve immünolojik özellikler

Embriyonik kök hücrelerin, diğer vücut hücrelerine kıyasla son derece yüksek bir çekirdek/sitoplazma volüm oranı mevcuttur ve belirgin pronükleus yapısı içerirler. Bu hücreler, destek hücreleri üzerindeki kültürleri sırasında üç boyutlu koloni oluştururlar. Resim 3'te merkezimizde elde edilen insan embriyonik kök hücre suslarından NS-3'e ait morfoloji yapısı görülmektedir.

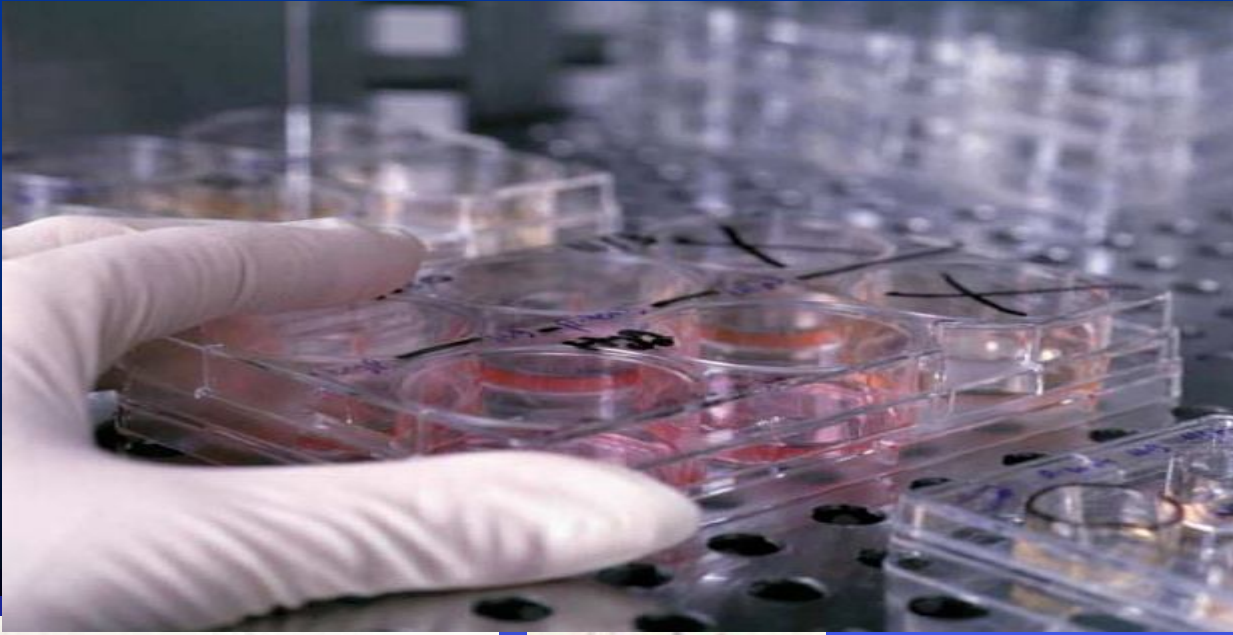


Resim 3. İnsan Embriyonik Kök Hücre kolonisi (NS-3)

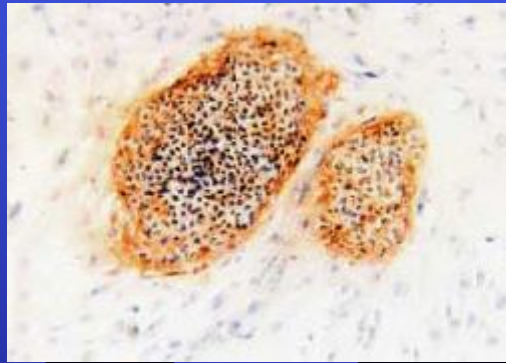
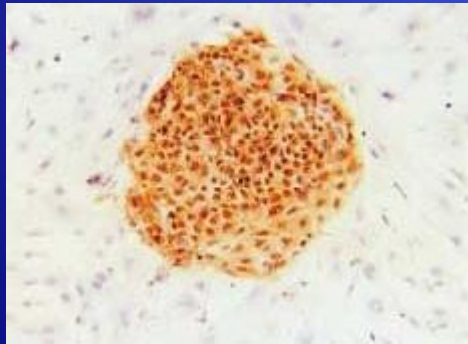
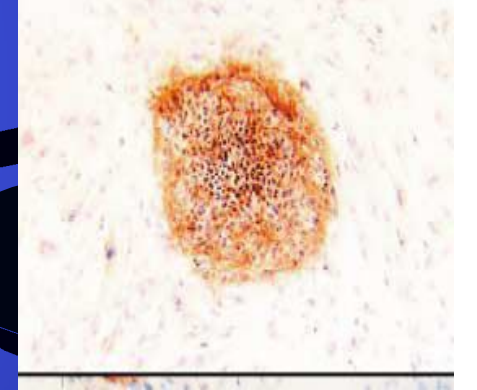
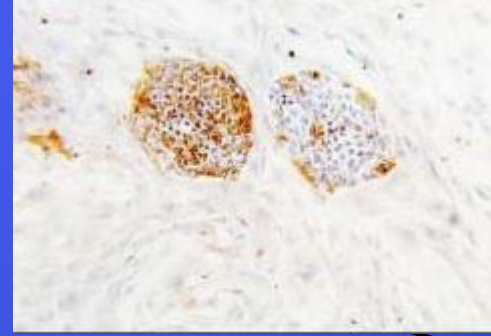
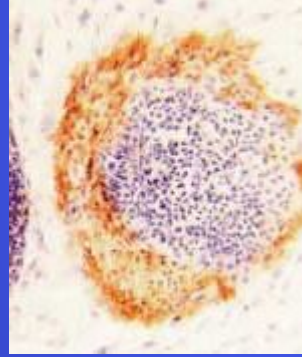
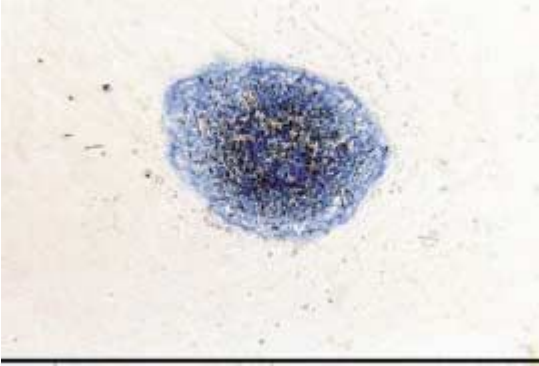
Resim 4. NS-3 ve NS-4 hücre kolonilerinin alkalın fosfataz boyaması sonrası görüntüleri



Embriyonik kök hücrelerin bir diğer önemli özelliği, kanser hücrelerine benzer sürekli bölünebilme özelliğine sahip olmaları ve bu hücrelerden farklı olarak normal bir karyotip yapısına sahip olmalarıdır.



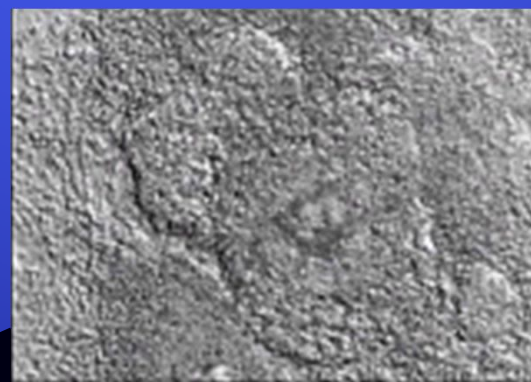
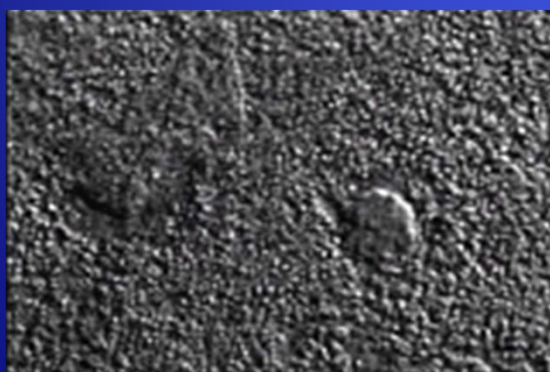
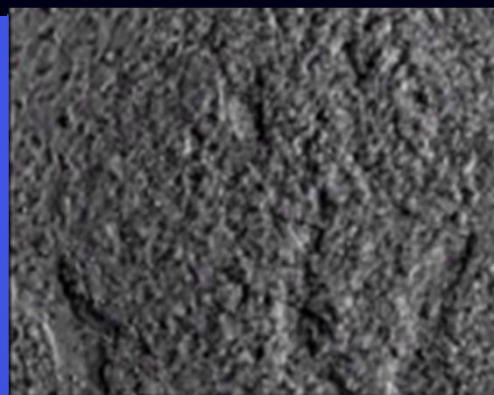
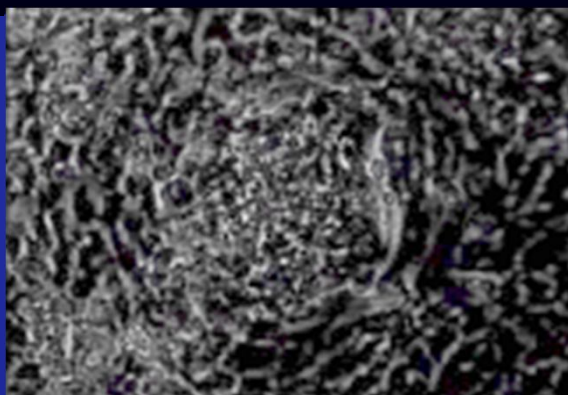
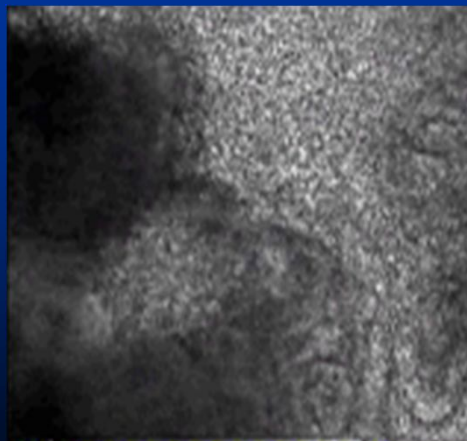
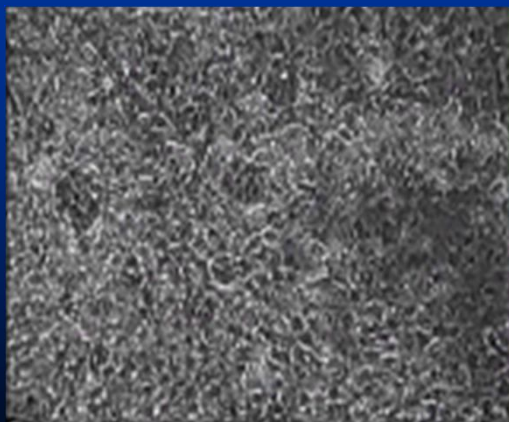
insan embriyonik kök hücrelerinin geliştirildiği kültür kapları uygun sıcaklıkta depolanıyor. Küçük resimlerde kültür içinde gelişmenin Değişik evrelerindeki kök hücre kolonileri görülüyor

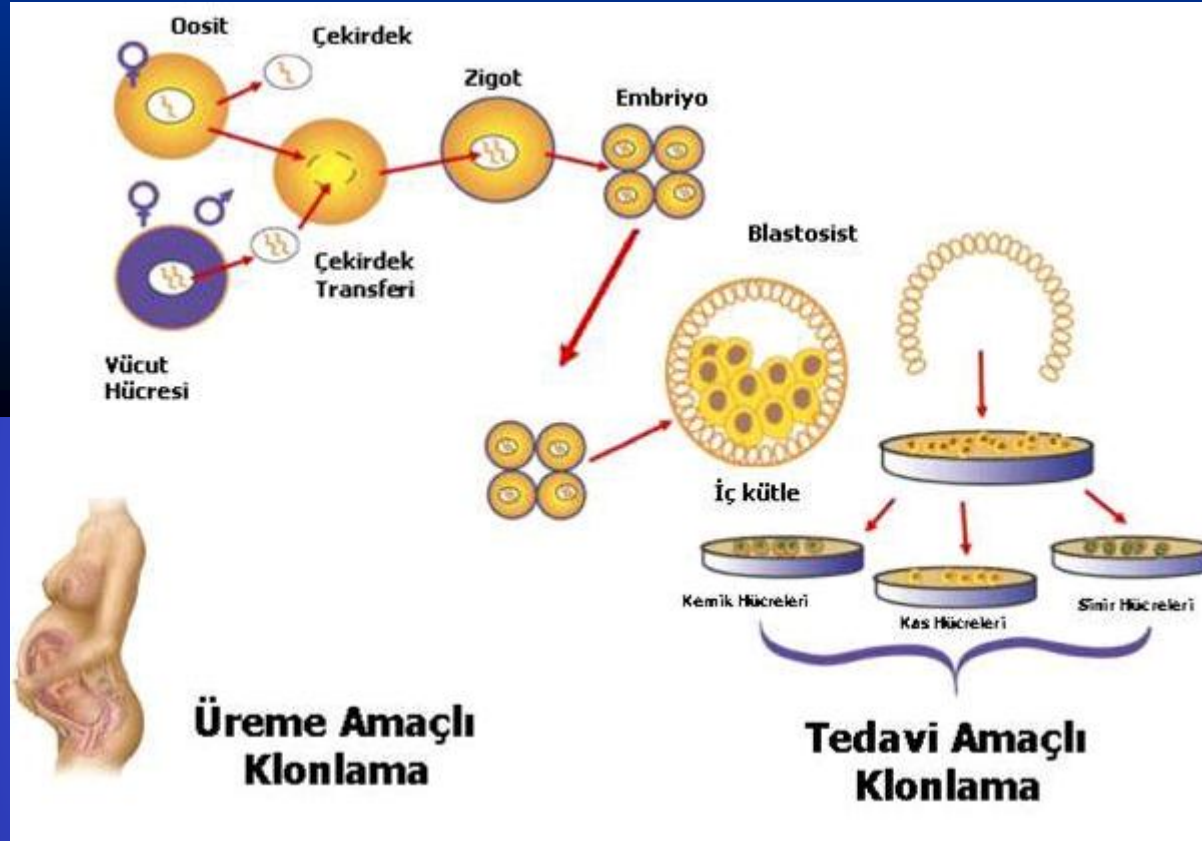


Embriyonik kök hücreler laboratuvar ortamında nasıl büyütülür?
Embriyonik kök hücrelerinin laboratuvar ortamında büyütülebilmesi için değişik kültür yöntemleri üzerine çalışmalar devam etse de, gelişimleri için destek hücrelere ihtiyaçları vardır. Ayrıca başkalaşmamış yapılarının korunması için yetiştirildikleri kültür ortamlarının LIF (Leukemia inhibitory factor), B-FGF gibi ajanlar ile desteklenmesi gerekir. İstanbul Memorial Hastanesi Araştırma ve Geliştirme Laboratuvarında bu amaçla Balb/c inbred farelere ait 12-14 günlük fetuslardan elde edilen embriyonik fibroblast hücreleri destek hücresi olarak kullanılmaktadır



Resim 2. İmmünojik ve mekanik yöntemler kullanılarak izole edilen iç hücre kitlesinden gelişen kök hücre kolonisi.





Resim 9. *Tedavi amaçlı klonlama yöntemi ile kişiye özgü kök hücre elde edilmesi: İşlem için öncelikle kadına ait olgun yumurtalardan genetik yapı içeren çekirdek kısmının uzaklaştırılması gerekmektedir (enükleasyon). Sonrasında kök hücre üretilecek kişiye ait vücut (somatik) hücresi çekirdeği daha önceden çekirdeği çıkartılmış yumurta içerisine yerleştirilmekte, işlem sonrası gelişen embriyodan bebeği oluşturacak iç hücre kütlesi ayrıştırılıp laboratuvar ortamında büyütülmesi sağlanmaktadır.*



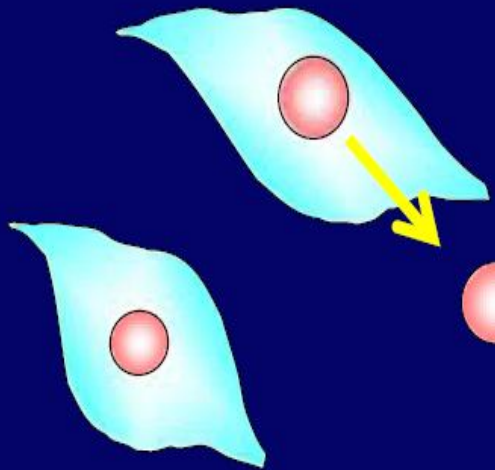
FROM TAIL OF MOUSE



CELLS ARE SEPERATED



**SKIN
FIBROBLASTS ARE OBTAINED**

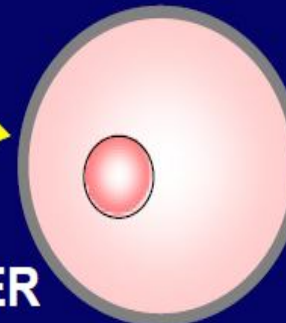
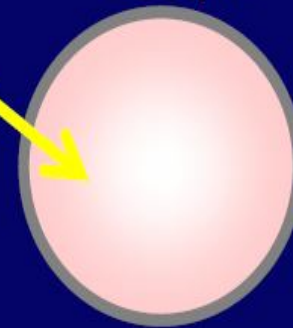


**MOUSE
OOCYTE**



**NUCLEUS IS
REMOVED**

Enucleated
Oocyte



NUCLEAR TRANSFER

Takashi & Yamanaka '2006