

Kök Hücre ve Nörolojide Kök Hücre Uygulamaları

M.Fatih ÖZDAĞ

Yrd.Doç. Dr. GATA Nöroloji Ana Bilim Dalı

İletişim:

M.Fatih ÖZDAĞ
GATA Nöroloji A.D.
Etlik-ANKARA 06018

Tel: 0 312 304 4486
Fax: 0 312 304 4475
e-mail:ozdagf@yahoo.com

Kök Hücre ve Nörolojide Kök Hücre Uygulamaları:

ÖZET Bu yazıda, 100 yıldan beri bilinen kök hücrenin özellikle son 10 yılda nörolojideki deneysel ve klinik uygulamaları, genel kök hücre kavramı altında son

literatür verileri ile gözden geçirildi.

Anahtar Kelimeler: Kök hücre, nörolojik hastalıklar

Stem Cell and Stem Cell Applications of the Neurology:

ABSTRACT In this review, experimental and clinical applications of the stem cell which has been known since 100 years, in neurology in the last 10 years

was reviewed with the general stem cell term and latest literature data.

Key Words: Stem cell, neurological disorders

GİRİŞ

Hematopoetik kök hücre 1909 yılından beri bilinmektedir. O tarihte Maximov lenfositlerin genel kök hücreler olarak davrandıklarını ve göç edebildiklerini belirtti (13). Ancak 1961 yılında Till ve McCulloch' in çalışmaları ortaya çıkana dek kök hücrenin yaygın kabul görmüş bir tanımı yapılamadı. Till ve McCulloch kemik iliği öncü hücrelerinin dalakta multilineage hematopoetik koloni hücreleri oluşturduğunu (colony-forming units, spleen CFU-s) ve bu dalak kolonilerinin bir kısmının daha fazla dalak kolonileri oluşturabilme yeteneğinde olduğunu ortaya koydular. Bu hücrelerin halen geçerliliğini koruyan iki temel özelliğini belirttiler:

1.Kendilerini tekrar oluşturabilme (self-renewal)

2.Birden çok soya başkalaşabilme (multilineage differentiation) (30).

Quesenberg kök hücre tanımında "altın ölçüt"ü tek bir hücrenin uzun dönem içinde hemopoezi sağlayabilme yeteneği olarak belirtmiş ve kök hücrenin temel özelliklerini 4 maddede vurgulamıştır:

- 1.Tek hücre kaynağı (clonal)
- 2.Birden çok soya başkalaşabilme
- 3.Aşırı çoğalabilme
- 4.Kendine benzer hücre topluluklarını oluşturabilme (27).

Flow cytometry tekniğinin gelişmesi ve immünohistokimiyadaki yenilikler kök hücre konusunda da yeni belirleyicilerin ortaya konmasını sağlamıştır. Kök hücre ve öncü hücreler taşıdığı membran proteinleri, adhezyon molekülleri ve metabolik belirleyiciler ile birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Kök hücreyi kesin olarak belirleyebilecek kriterler henüz tam anlamı ile ortaya konamamıştır. Weissman ve Uchida insan hematopoetik kök hücre ve öncü hücreleri ile ilgili hücre yüzeyi ve metabolik belirleyicileri sıralarken önemli bir özellik olarak da olgun kan hücrelerine ait belirleyicilerin (T-cell marker, B-cell marker, NK marker, myeloid marker, erythroid marker) bu hücrelerde bulunmamasının altını çizmişlerdir (34).

Organlarda, oluşabilecek hasarları onarmaya yönelik potansiyel kök hücreler vardır. Kemik iliğinde ise kök hücre potansiyeli fazladır. Kemik iliği hem hematopoetik kök hücreleri hem de diğer organlara dönüşebilme yeteneğindeki kök hücreleri barındırmaktadır. Ancak diğer organlara dönüşebilme yeteneğindeki bu hücrelerin kemik iliğindeki oranı 1/109 dur (33). Bu hücreler bugün enfarkte myokardiumun tedavisinden (26), Niemann-Pick hastalığının tedavisine kadar (25) bir çok hastalığın deneysel tedavi alanlarında başarılı sonuçlar vermektedir.

Nöral Kök Hücre:

Nöral kök hücre terimi de hematopoetik kök hücre terimine benzer temel özellikler içermektedir.

1.Nöral doku oluşturabilmesi ve sinir sisteminde elde edilebilmesi

2.Kendini yenileyebilmesi

3.Simetrik olmayan hücre bölünmeleri ile kendinden başka hücreleri oluşturabilmesi (12).

Oganizmadaki birçok dokunun tersine santral sinir sisteminin kendini yenileyebilme yeteneği çok sınırlıdır. Erişkin insan beyninde sadece iki bölgede yeni nöron oluşumu (neurogenesis) mümkündür: subventriküler alan ve hipokampus (3, 12). Beynin diğer bölgelerindeki kök hücreler ancak nöronal olmayan yeni hücreler oluştururlar. Hasara cevap olarak oluşan bu glial hücreler (asositler ve oligodendrositler) skar oluşumuna neden olurlar (11, 14).

Tıptaki gelişmeler bir yandan insan ömrünü uzatırken, diğer yandan hem yaşla birlikte ortaya çıkan nörodejeneratif hastalıkların paralel olarak artışına hem de bu hastalıkların daha kolay tanınmalarına neden olmuştur. Beynin kendini yenileyebilme yeteneğinin sınırlı olması ve nörodejeneratif hastalıklardaki yeni tedavi arayışları nörolojideki klinik ve deneysel kök hücre uygulamalarının bu alanda ortaya çıkmasına neden olmuştur. Parkinson hastalığı ve stoke hücre replasman tedavilerindeki öncelikli hedeflerdir.

Genel olarak replase edilen kök hücreden beklenen yaşamını sürdürebilmesi, nörona dönüşebilmesi ve diğer nöronlarla aksonal bağlantılar yapabilmesidir. Deneysel olarak alıcıda oluşturulan hasar replase edilen hücrelerin daha kolay uygun işlevsel bağlantı yapmalarına neden olmaktadır (17, 28). Çünkü normal inputlarını kaybeden hücreler akson büyümesini uyaran faktörler salgılamakta ve böylece greftlenen hücrelerle daha kolay reinnervasyon sağlanmaktadır (7).

Erişkinde var olan kök hücreler başlangıçta işlevsel olarak sadece kaynaklandıkları dokunun rejenerasyonu ile sınırlı olarak biliniyordu. Ancak yapılan çalışmalarda erişkin beyninden elde edilen kök hücrelerin, öldürücü dozda ışınlanan farede tüm hematopoetik sistemi rejenere ettiği yada fare veya civciv blastulasına enjekte edildiğinde birçok dokuya dönüştüğü gösterilmiştir (4, 6).

Kemik iliğinden elde edilen kök hücrelerin ise beyin mikrogliya ve astroglialarına dönüşebildikleri (8), yeni iskelet kası oluşturabildikleri bilinmektedir (9). Bu şekilde bakıldıklarında yetişkinde var olan kök hücrelerin kökeni bilinmemektedir (19).

Parkinson'da Uygulamalar:

Parkinson hastalığı ABD'de 1 milyon kişiyi etkilemektedir. İlaç tedavileri bir süre etkili olabilmekte ancak uzun süre kullanımda yan etkilere neden olmaktadır.

Parkinson'da substantia nigra pars compactanın dejenerasyonu striatal dopaminerjik etkinin kaybolmasına yol açar. Parkinson hastalığında hücre replasman tedavisinin amacı, striatumdaki dopaminerjik norotransmisyonun yeniden yapılandırılarak işlevlerinin düzeltilmesidir. Transplantasyon amacı ile kullanılacak olan hücreler fetal gelişme dönemindeki ventral midbrain'den elde edilir. Bu dönemde nigral dopaminerjik nöronlar terminal differentiation'a gitmektedir. Konak striatumuna greftlenen hücreler, denerve striatal nöronlar ile işlevsel sinaptik temas kurarlar (16). İn vivo veriler greftlenen nöronların kendiliğinden işlevsel olduğunu ve böylece büyüyen aksonları ile ulaşabildikleri bölgelerde dopamin sentezi ve salınımı gerçekleştirebildiklerini göstermiştir. Bu hem rodent hem de maymun modellerinde davranış testlerinde belirgin düzelmeye yol açmıştır (1,5). Greftlenen nöronların işlevselliğindeki en önemli etkiler bu nöronların kendiliğinden işlev görebilme yetenekleri ve dopamin reseptörlerinin artmış duyarlılığıdır (35).

Parkinson'da kök hücre uygulamalarındaki temel sorunlardan en önemlisi kök hücrenin kaynağıdır. Yakın zamana dek kök hücre kaynağı olarak abortus materyali kullanılmaktaydı. Bu etik olarak tartışılan bir konuydu. Ayrıca bir Parkinson hastası için en az 6 adet fetus materyali gerektiğinden ekonomik olmuyor ve yaygın kullanılamıyordu (24).

Deneysel alandaki başarılarla karşın klinik alanda aynı düzeyde bir başarı sağlanamamıştır. Kontrollü olmayan bazı çalışmalarda hastalığın bazı semptomlarının düzeldiği bildirilmesine karşılık (2) bu alanda bugüne dek yapılmış tek kontrollü çalışmada, ancak genç yaş (60 yaş altı) grubundaki hastalarda düzelme olduğu gösterilebilmiştir (10). Bu çift kör kontrollü çalışmada

toplam 40 hastaya sham cerrahi ya da sinir hücreleri transplantasyon cerrahisi uygulanmış ve 1 yıl boyunca hastalar Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPRDS) ve Schwab and England scale ile takip edilmişlerdir. Transplantasyonda insan embriyonik mezensefalik dokusu kullanılmış; her frontal sinus üzerine ikişer adet delik açılarak enjeksiyonlar putamenlere yapılmıştır. Hastalığın ileri yaşlarda sık görüldüğü dikkate alındığında başarılı bir tedavi yöntemi olduğu kabul edilemez.

Strokda Uygulamalar:

Global serebral iskemide fetal hipokampal bölge greftlerinin fonksiyonel etkileri 1996 yılında Hodges ve arkadaşları tarafından ratlarda gösterildi (18). Aynı yıl Sorensen ve arkadaşları ratlarda oluşturdukları MCA ligasyonu modeliyle fokal serebral iskemide fetal neokortikal doku blokları ile yapılan kök hücre tedavisinin başarılı sonuçlarını açıkladılar (29). Kemik iliği kökenli kök hücrelerin bromodeoxyuridine(BrdU) ile işaretlenerek MCA oklüzyonlu rata transplantasyonu ve 14 gün sonra bu hücrelerin BrdU reaktif olduklarının gösterilmesi kök hücre kaynağının embriyonel nöral dokular dışından da bulunabileceğini göstermesi açısından önemlidir (22). Strok sonrası endojen kök hücrelerin gösterilmesi ve stimülasyonu da ilgi çeken konular arasındadır (15). Deneysel strok uygulamalarında kök hücre transplantasyonunda kök hücrenin kaynağı kadar, verilmiş yolu da araştırılmaktadır. Intracisternal, intraparakimial, intraarterial ve intravenöz uygulamaların veya transplantasyon zamanlarının (erken yada geç dönem) bir diğerine üstünlüğü olduğunu gösteren çalışmalar henüz yoktur.

Deneysel alandaki başarılı sonuçlara karşılık klinik uygulamalar sınırlıdır. Bu alanda çift kör kontrollü çalışma yapılmamıştır. Kondziolka ve arkadaşları 12 hastalık bir seride infarkt alanına implantasyon yoluyla insan nöronal hücre kültürlerinden elde ettikleri kök hücreleri uygulamışlar ve European Stroke skalası ile 6 hastada 3 ila 10 puanlık artışlar saptamışlardır (21).

Huntington (20), epilepsi (23), ALS (32) ve MS(31) gibi yeni tedavi seçeneklerine açık hastalıklarda da deneysel kök hücre çalışmaları yapılmaktadır.

Sonuç olarak kök hücre uygulamaları son 10

yıllık dönemde nöroloji pratiğinde özellikle deneysel alanda yer bulmuştur ve alternatif bir tedavi seçeneği olarak giderek önemi artmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Annet Le, Functional Neural Transplantation edited by Dunnet SB, Bjorklund A. Raven New York – 1994; 71-102.
2. Bjorklund A, Lindvall O. Cell replacement therapies for central nervous system disorders. Nat. Neuroscience – 2000; 3: 537-544.
3. Bjorklund A, Lindvall O. Neurobiology: Self-repair in the brain. Nature – 2000; 405: 892-895.
4. Bjornson C R, Rietze R L, Reynolds B A, et al. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. Science – 1999; 283: 534-537.
5. Brundin P, Duan W-M, Sauer, H. Functional Neural Transplantation edited by Dunnet SB, Bjorklund A, Raven New York - 1994; 9-46.
6. Clarke D L, Johansson C B, Wilbertz J, et al. Generalized potential of adult neural stem cells. Science – 2000; 288: 1660-1663.
7. Dunnet SB, Bjorklund A. Functional Neural Transplantation, Raven, New York- 1994; 531-567.
8. Eglitis MA, Mezey E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA – 1997; 94: 4080-4085.
9. Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. Science – 1998; 279: 1528-1530.
10. Freed R C, Greene P E, Breeze R E, et al. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. N Engl J Med. – 2001; 344: 710-719.
11. Frisen J, Johansson CB, Torok C. et al. Rapid, widespread, and longlasting induction of nestin contributes to the generation of glial scar tissue after CNS injury. J Cell Biol. – 1995; 131: 453-464.
12. Gage F H. Mammalian neural stem cells. Science – 2000; 287: 1433-1438.
13. Gale RP, Juttner CA, Henon P. Blood Stem Cell Transplants. Cambridge University Press, GB, 1994; Chapter 2: 9.

14. Gensert JM, Goldman JE. Endogenous progenitors remyelinate demyelinated axons in the adult CNS. *Neuron* – 1997; 19: 197-203.
15. Gu W G, Brannstrom T, Jiang W, et al. A photothrombotic ring stroke model in rats with remarkable morphological tissue recovery in the region at risk. *Exp Brain Res* –1999; 125:171-83.
16. Herman J P, Abrous N D. Dopaminergic neural grafts after fifteen years: results and perspectives. *Prog. Neurobiol.* – 1994; 44: 1-35.
17. Hernit-Grant CS, Macklis JD. Embryonic neurons transplanted to regions of targeted photolytic cell death in adult mouse somatosensory cortex re-form specific callosal projections. *Exp Neurol.* – 1996; 139: 131-142
18. Hodges H, Sowinski P, Fleming P, et al. Contrasting effects of fetal CA1 and CA3 hippocampal grafts on deficits in spatial learning and working memory induced by global cerebral ischaemia in rats. *Neuroscience* – 1996; 72: 959-88.
19. Hynes M, Rosenthal A , Embryonic stem cells go dopaminergic. *Neuron* – 2000; 28:11-14.
20. Kendall A L, Rayment F D, Torres E M, et al. .Functional integration of striatal allografts in a primate model of Huntington's disease. *Nat. Med.*-1998; 4: 727-729.
21. Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, et al. Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology* –2000; 22: 565-9.
22. Li Y, Chen J, Chopp M. Adult bone marrow transplantation after stroke in adult rats. *Cell Transplant* – 2001; 10: 31-40.
23. Löscher W, Ebert U, Lehmann H, et al. Seizure suppression in kindling epilepsy by grafts of fetal GABAergic neurons in rat substantia nigra. *J. Neurosci. Res.* –1998; 15: 196-209.
24. Marshall E. The business of stem cells. *Science* – 2000; 287: 1417-1426.
25. Miranda S R P, Erlich S, Visser J W M. et al. Bone marrow transplantation in acid sphingomyelinase-deficient mice: Engraftment and cell migration into the brain as a function of radiation, age and phenotype. *Blood* – 1997; 90: 444-452.
26. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* – 2001; 410: 701-705.
27. Quesenberg K. William's Hematology, Fifth edition, Edited by Beutler, E. Lichtmann, MA. Coller BS, Kips TJ, McGraw-Hill, Inc, 1994; Chapter 22: 211-223.
28. Snyder EY, Yoon C, Flax JD, Macklis JD. Multipotent neural precursors can differentiate toward replacement of neurons undergoing targeted apoptotic degeneration in adult mouse neocortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* –1997; 14: 11663-8.
29. Sorensen J C, Grabowski M, Zimmer J, et al. Fetal neocortical tissue blocks implanted in brain infarcts of adult rats interconnect with the host brain. *Exp Neurol* –1996; 138: 227-35.
30. Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res.*-1961; 14: 1419-1430.
31. van Bekkum DW. Stem cell transplantation in experimental models of autoimmune disease. *J Clin Immunol* –2000; 20:10-6.
32. Vastag B. Stem cells step closer to the clinic: paralysis partially reversed in rats with ALS-like disease. *JAMA* –2001;285:1691-3.
33. Vogel G. Can old cells learn new tricks? *Science* - 2000; 287: 1418-1419.
34. Weissman I.L, Uchida N. *Stem Cell in Clinical Bone Marrow and Blood Stem Cell Transplantation*. Edited by Athkinson K, Cambridge University Press, NY, 2000; Part 1, Chapter 3: 19-42.
35. Winkler C, Bentlage C, Nikkha G, et al. Intranigral transplants of GABA-rich striatal tissue induce behavioral recovery in the rat Parkinson model and promote the effects obtained by intrastriatal dopaminergic transplants. *Exp. Neurol.* – 1999; 155: 165-186.