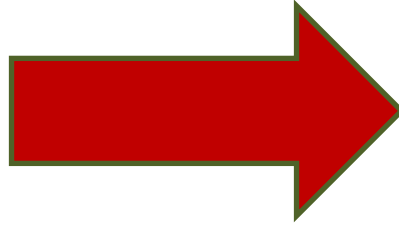
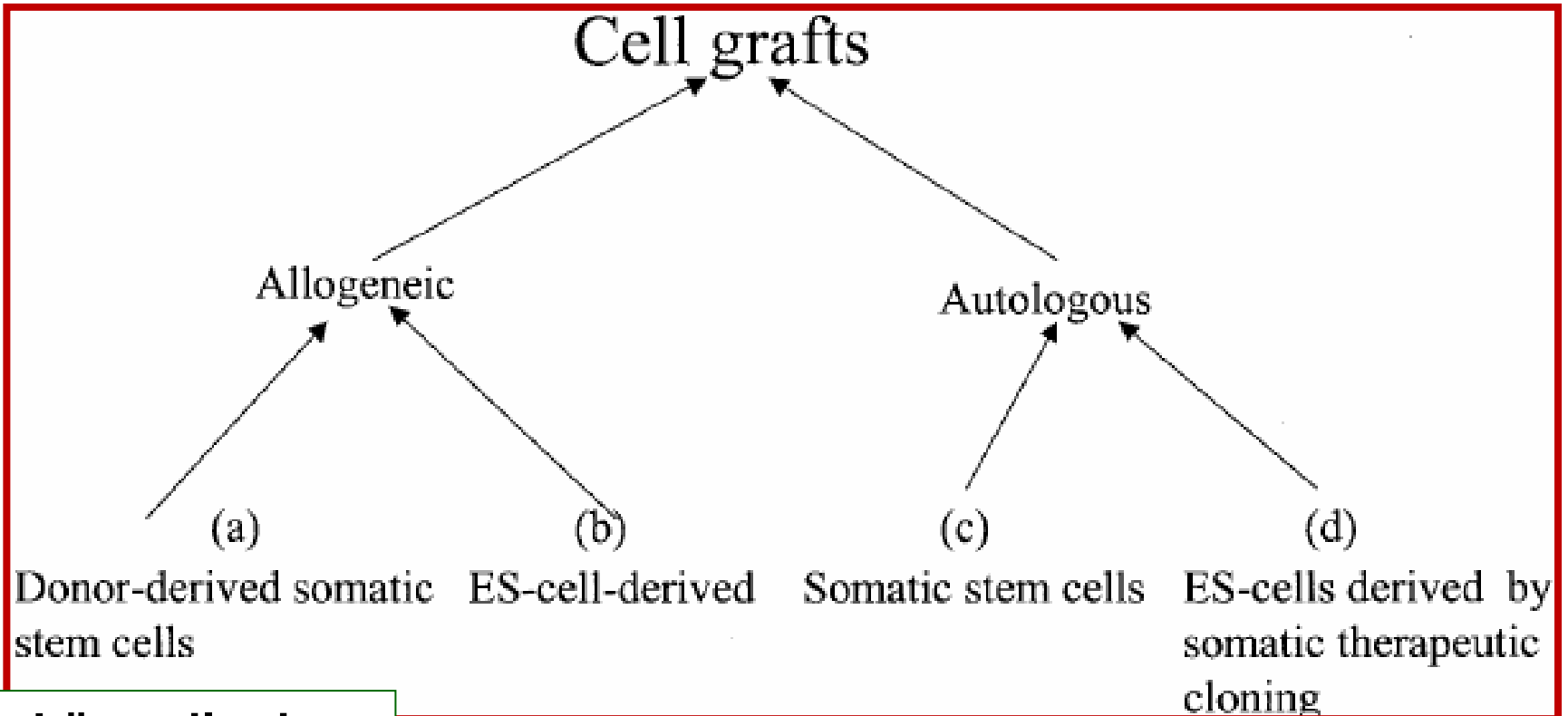


# KOK HÜCRE DEN BOBREK YAPMAK MÜMKÜN OLACAK MI?



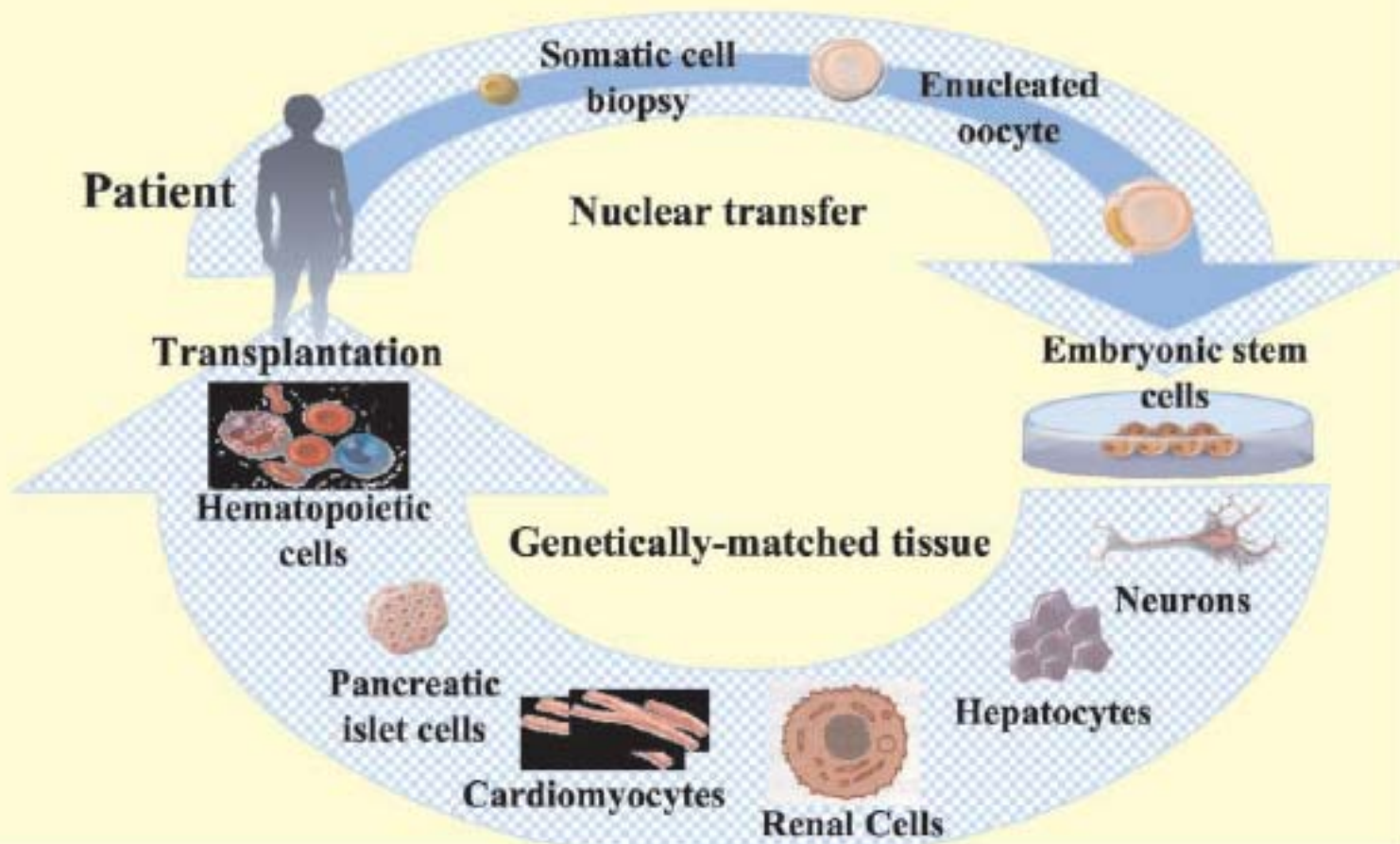
**Doç Dr Serhan Tuğlular**  
**MÜTF Nefroloji Bilim Dalı**

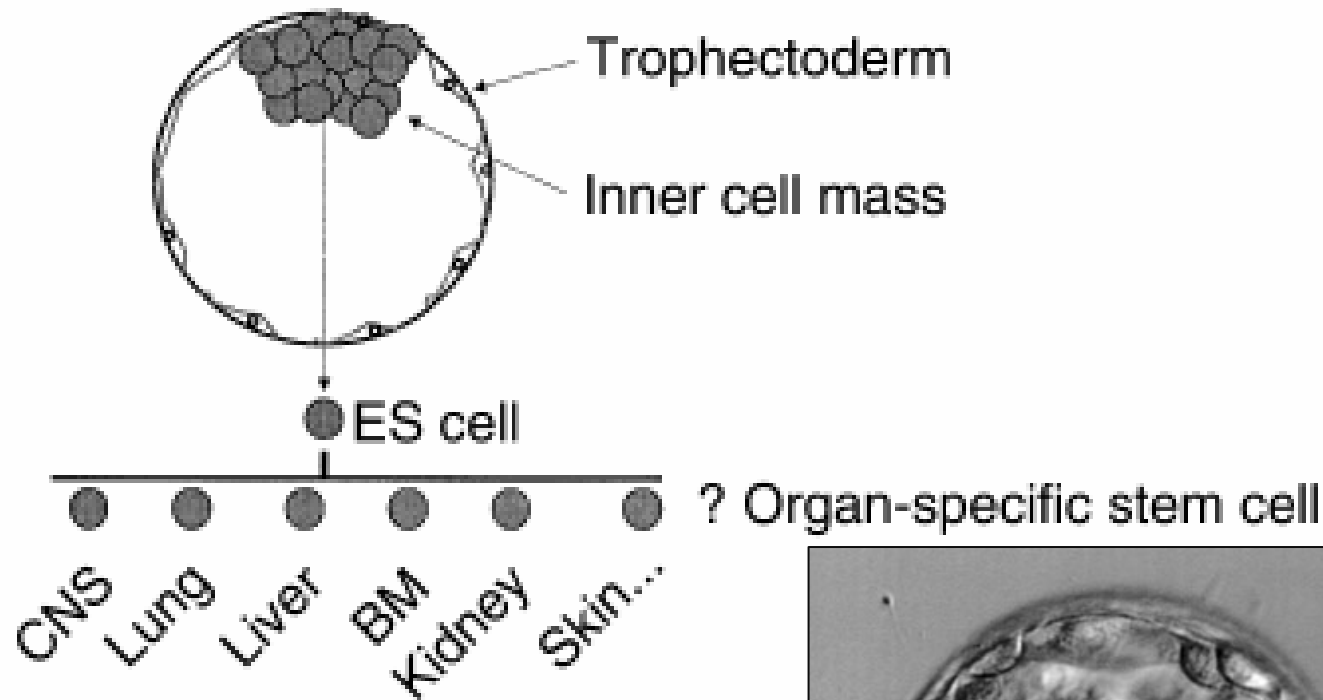
# Kök Hücreler



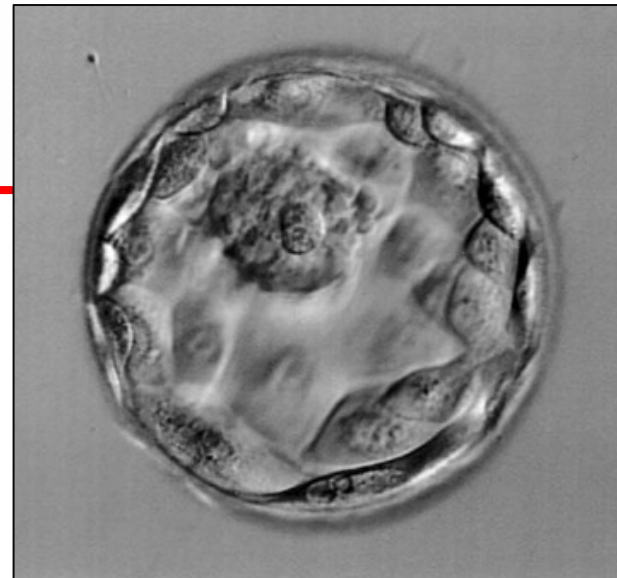
- Lösemilerde kemik iliği nakli
- Kordon kanından Kök hücre nakli

# Therapeutic Cloning Strategies





# BLASTOSİSTTEN EMBRYONİK KÖK HÜCREYE



# Embriyonik Kök Hücre Nedir?

- Farklılaşmadan sonsuz çoğalma  
potansiyeli- **KENDİNİ**  
**YENİLEME**
- Tüm hücre tiplerine farklılaşabilme  
potansiyeli-  
**MULTİPOTANS**
- Kültürlerini yapmak mümkün

Mass  
Prodüksiyon İçin  
Çok Avantajlı

# Erişkin Kök Hücre Nedir?

- Embriyonik KH'den daha az yetenekli
- **Pek çoğu sonsuza dek bölünmez**
- Kültürleri ve farklılaşmadan çoğaltmak çok zor
- **Kendi hücre çizgisinde gelişme eğilimindeler**
- Türe özgü diye bilinenler dahi pek çok hücre tipine farklılaşabiliyorlar - 
- **Transdiferansiyasyon**

**– Kemik iliğinden mezankimal tipte non hematopetik bir Kan Hücresin'den**

# Renal Tedavi Seçenekleri

Organ  
Onarımı

De Novo

In situ

Ex vivo

Erişkin  
Kök  
hücreler

Embriyonik  
Kök hücreler

Kök  
Hücrelerin  
böbreğe  
yerleştirilme  
si

De-  
diferansiyasyon

Biyo-  
mühendislik  
ürünü  
işlenmiş neo-organ

İşlenmemiş  
üstlenecek  
Biyo-  
mühendislik  
ürünü

Gerekli  
faktörle  
r

Farmasötik

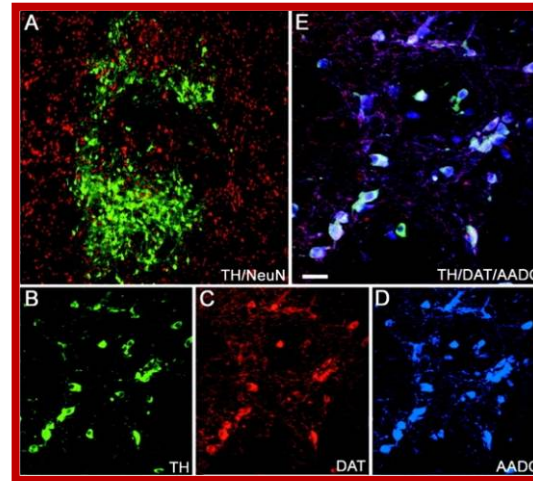
Biyoteknoloji

# Böbrek Doku Mühendisliği

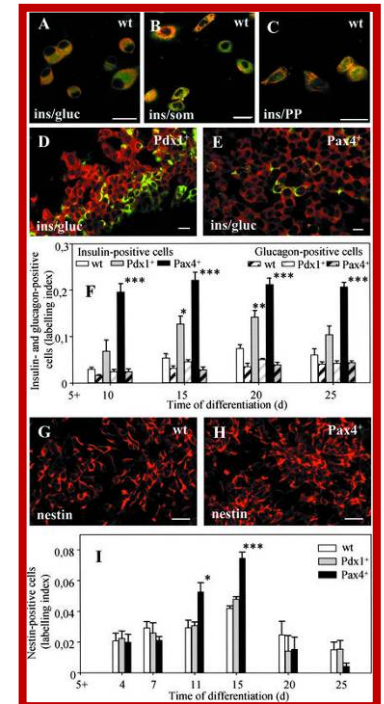
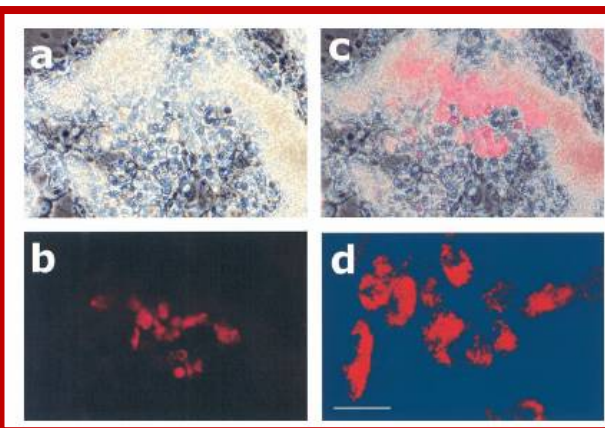
- Böbreğe yeni nefronların integrasyonu
- *In situ* ortamda yeni böbrek yetiştirmek
- Kök hücrelerin kullanımı
- Nükleer transplantasyon ile histokompatibilitesi olan dokular üretmek
- Yapay böbrek yapımı

# DA nöronlar

# Pancreas hücreleri



# Hepatositler



*Proc Natl Acad Sci*  
U S A 99: 2344–2349, 2002;  
*Proc Natl Acad Sci U S A* 100:  
998–  
1003, 2003  
*Hepatology* 36: 22–29, 2002

## **Renal Yenilenmeye Katkısı Olabilecek Kök Hücreler**

- **Embriyonik kök hücreler**
- **Kemik iliği kökenli kök hücreler**
  - Hayvan ABY modellerinde koruyucu etki
- **Böbrekteki erişkin kök hücreler**
  - ABY'den çıkışta etkili ; KBY'e etkili değil
  - İnsan böbrek öncülleri farelere enjekte edildiğinde fonksiyonel nefronlara farklılaşıyorlar
  - Hücrelerin farklılaşması ve fonksiyonları

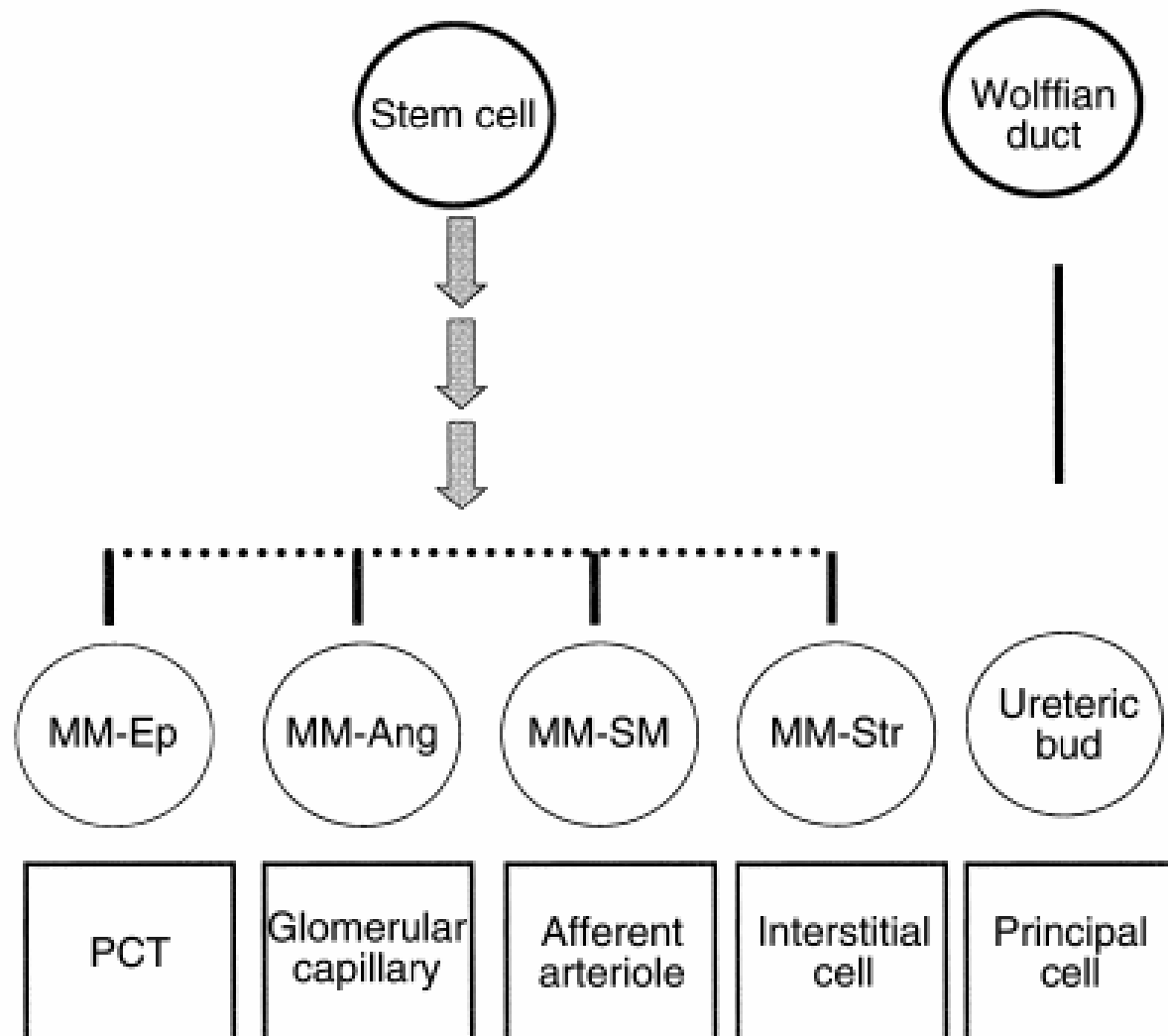
# Böbrek Hücrelerinin Aile Ağacı

*Pluripotent  
stem cell*

*? Intermediate  
stages,  
? Still pluripotent*

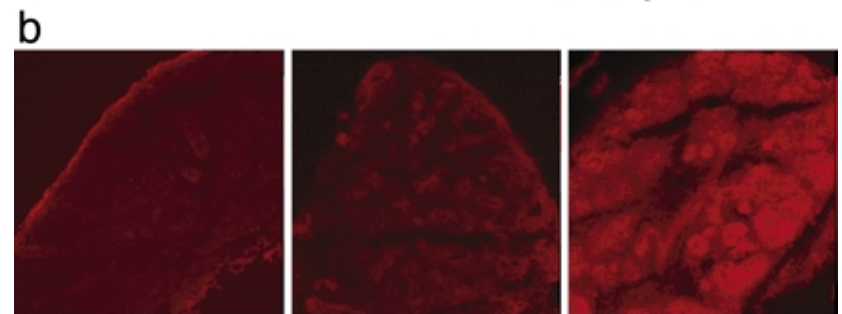
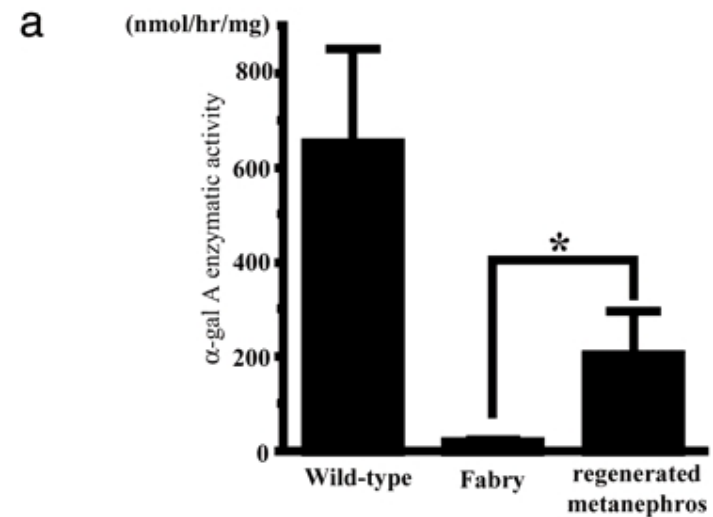
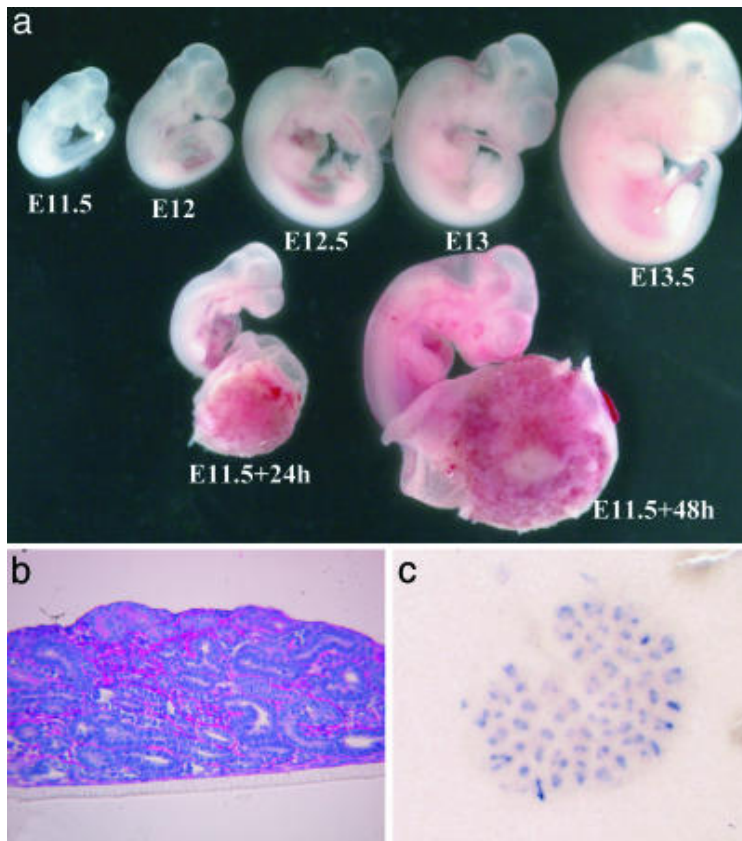
*Precursors  
? multipotent*

*Example of  
terminally  
differentiated  
cell*



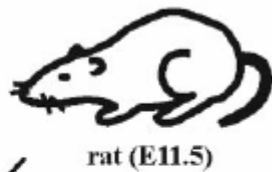
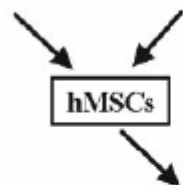
# Kemik İliği Kökenli KH: Mezankimal Kök Hücreler (hMSC)

- Otolog kemik iliğinden izolasyon

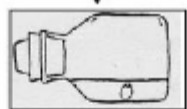


LacZ transfection  
using retrovirus

GDNF transfection  
using adenovirus



embryo



whole embryo culture

48 hours



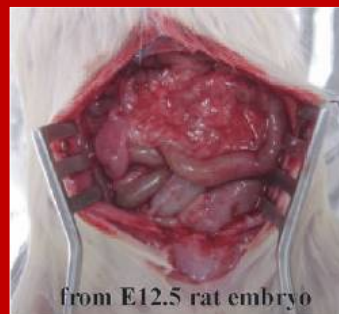
organ culture

24 hours

Transplantation into the omentum of  
recipient rat with or without heminephrectomy

2 - 4 weeks

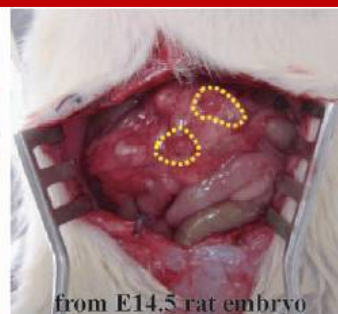
sacrifice



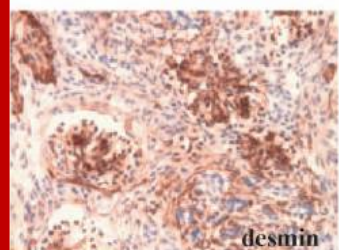
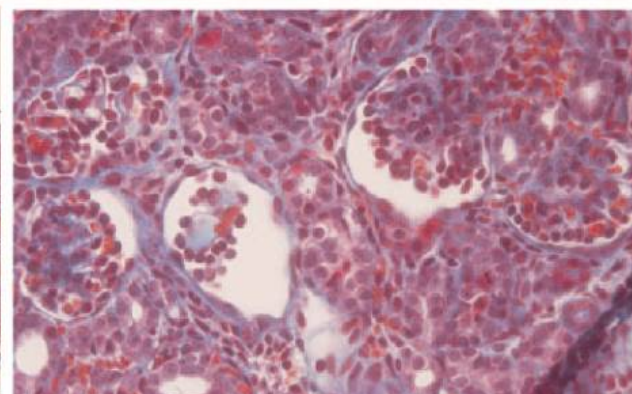
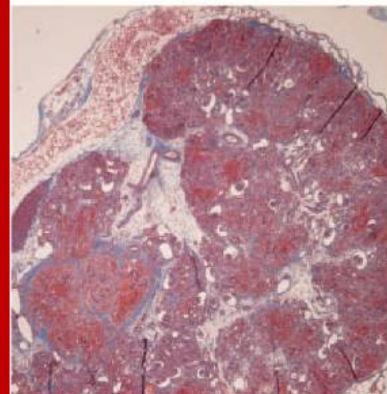
from E12.5 rat embryo



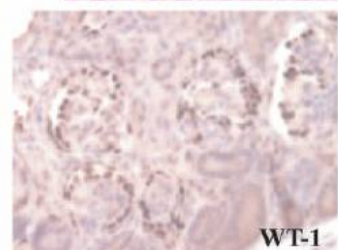
from E13.5 rat embryo



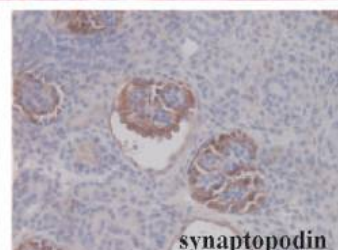
from E14.5 rat embryo



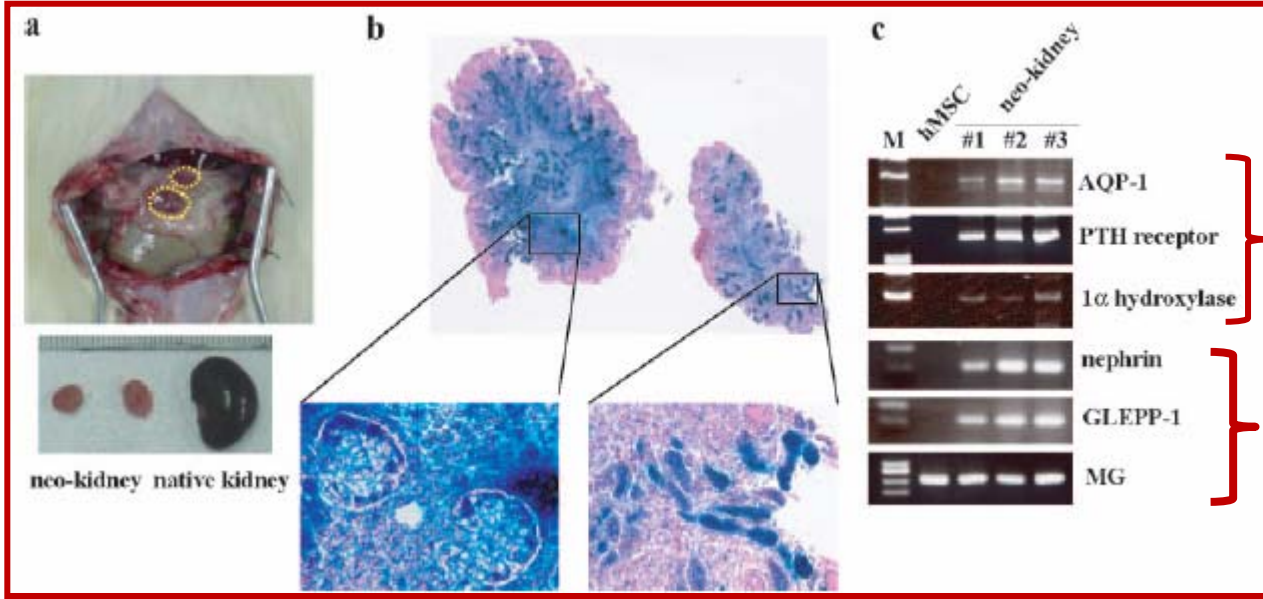
desmin



WT-1



synaptopodin



**Tubuler epitel hücresi  
özgü genler**

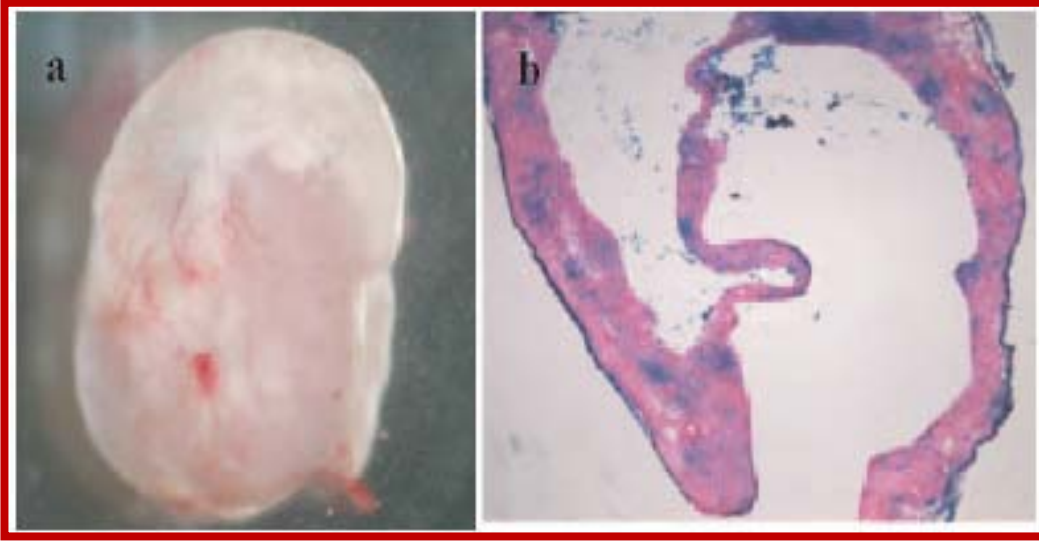
**Podosite özgü genler**

**a: böbrek kalıntısı  $64 \pm 21$  mg'a ulaşıyor**

**b: X-gal-pozitif hücreler :podosit ve tubuler epitel hücrelerini  
aynı**

**c: PCR ile gen ekspresyonu analizi**

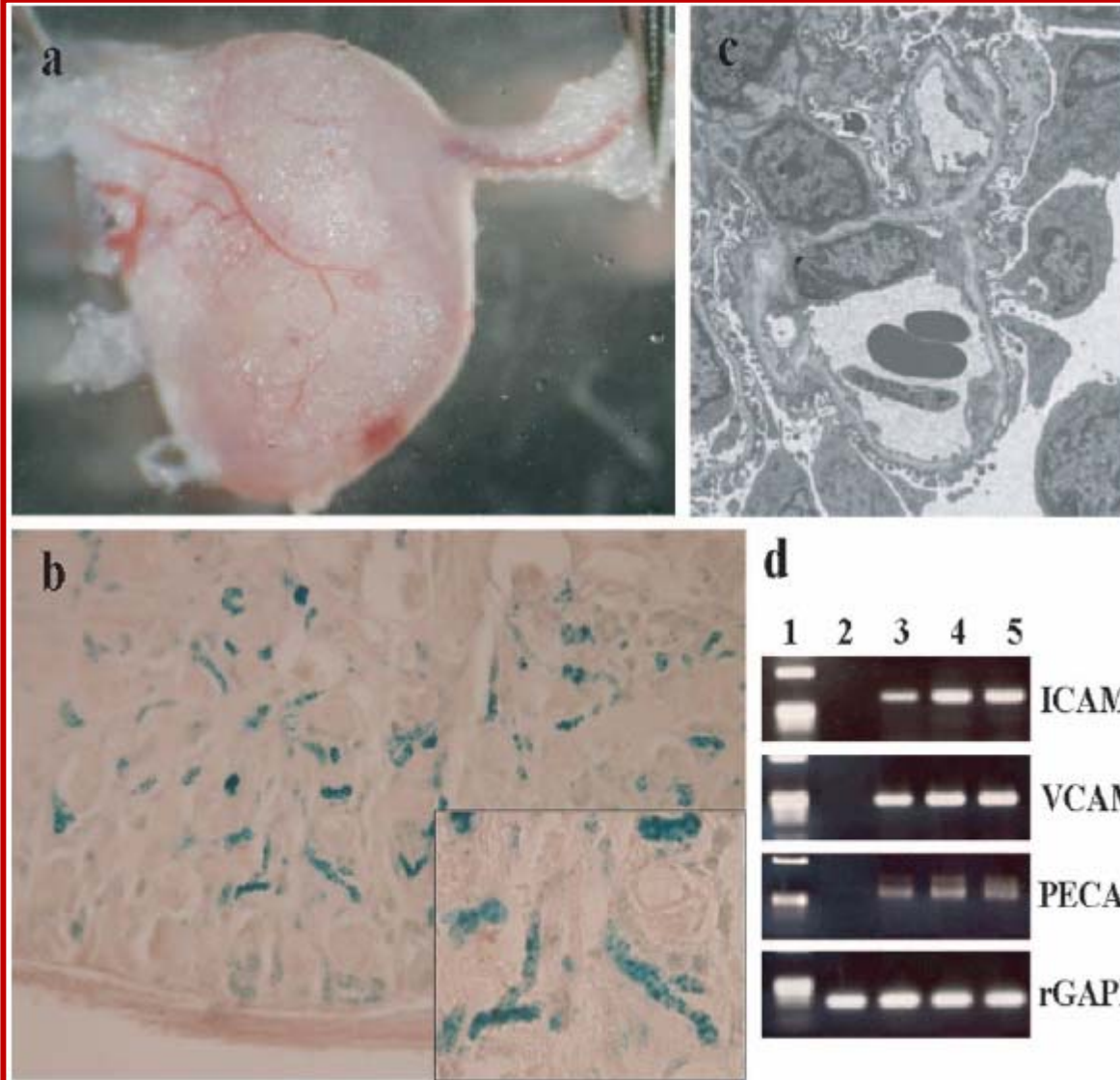
# Neo- Böbrekte İdrar Yapımı



Neo-Böbrekte hidronefro

İçindeki sıvının üre ve kreatinin düzeyleri idrar ile uy

# Neo-Böbrekteki Damar Yapısının Kökeni



a: Neo – böbrekler

b: X-gal analizi

c: Elektron mikroskop

d: Adhezyon  
molekülleri  
RT-PCR

**Kapillerler  
alıcı  
kökenli**

# Fetal Böbrek Nakillerine İmmun Yanıt

- Antijen sunumu

E15



E21



- MHC sunumu

E14



E21



- Sitokinler,  
kemokinler

Th

1



Th

2



**SONUÇ**

Fetal böbrek tx : immün  
yanıt

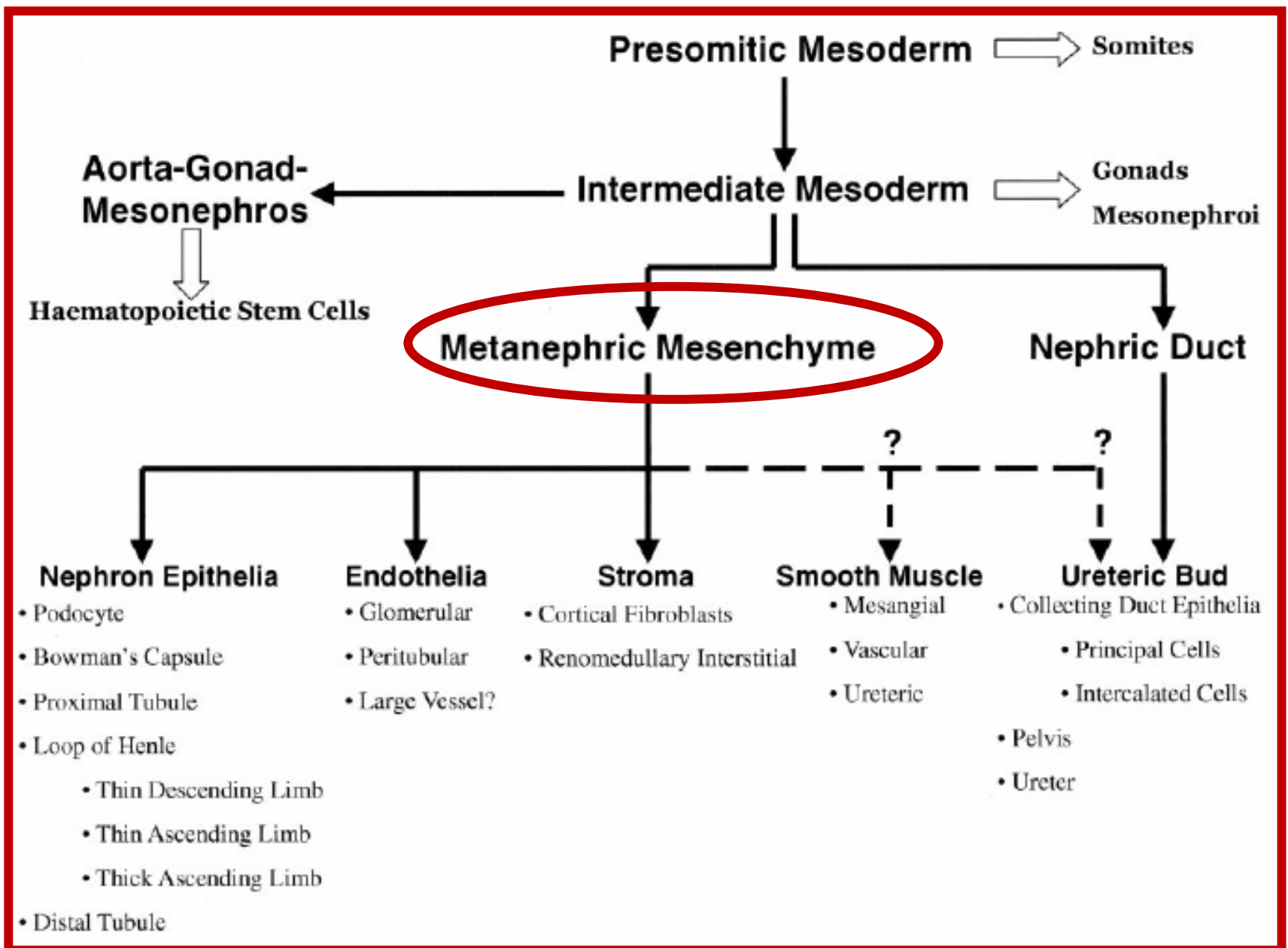


# Allojeneik Hücre Greftlerinin Reddi

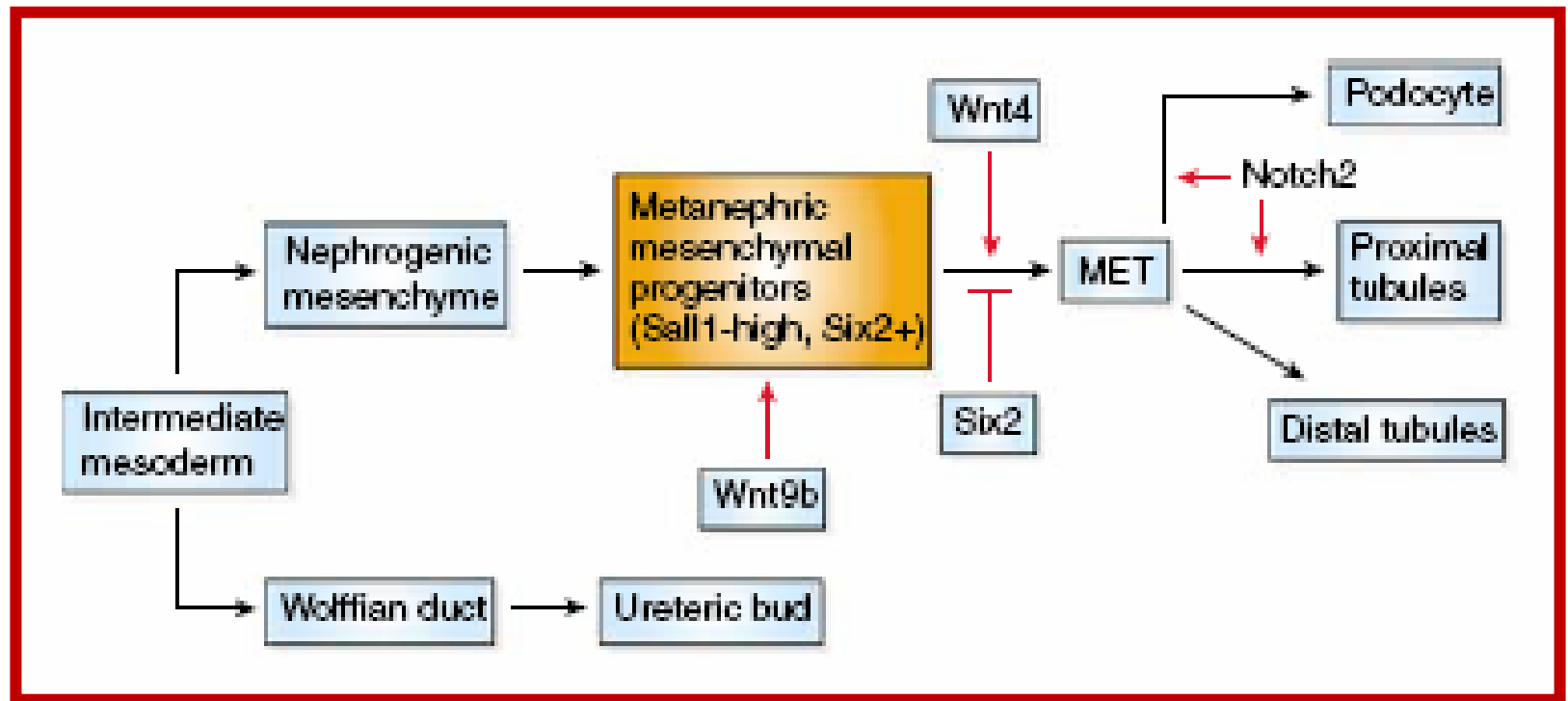
- EKH'de immunogenik olgun denritik hücreler yok
- Sadece MHC Klas I var; MHC Klas II yok
- Yeni immunsupresif tedavi stratejileri
  - IL-15 :
    - Yeni aktive olan ve otoimmün hafıza tipli T hücrelerde mevcut
    - CD 8 T Hücreler için kritik

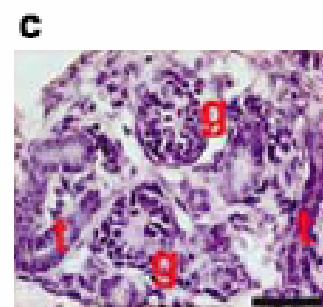
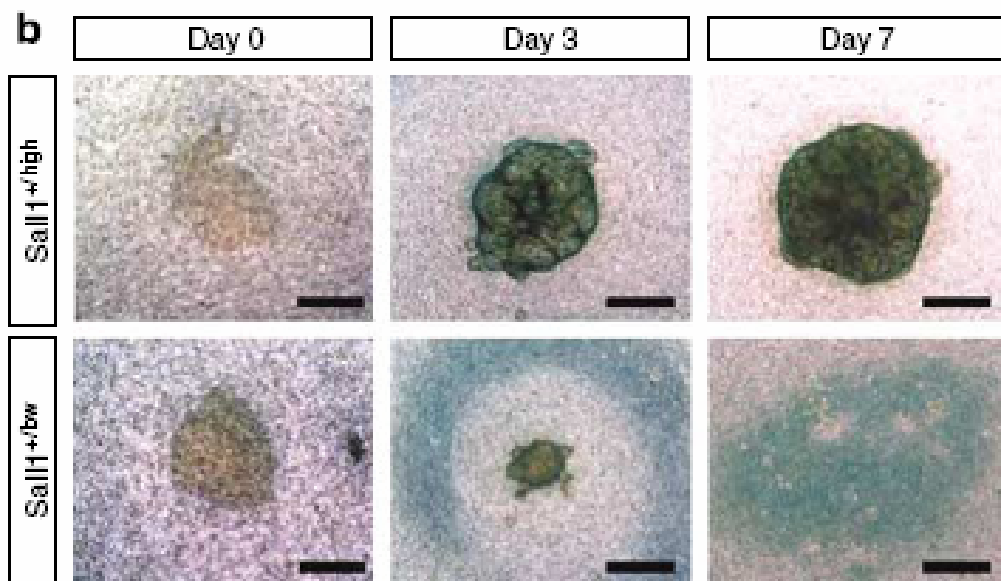
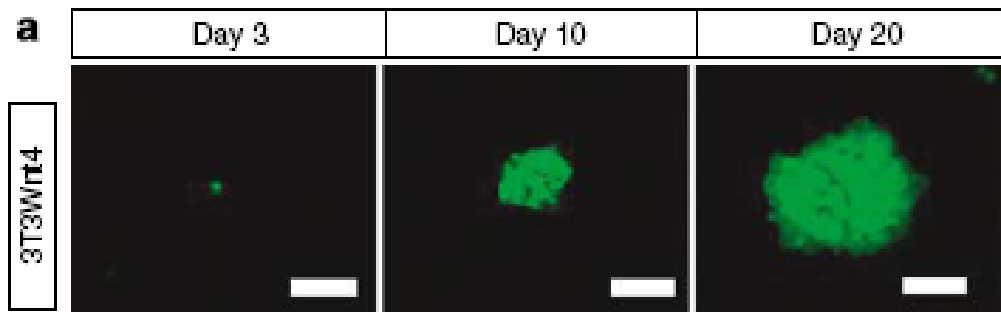
# **Erişkin Kök Hücreler**

- 1. Çok potansiyelli olmaları – Multipotent**
- 2. Kendini yeniden üretme ve asimetrik bölünme**
- 3. Döngü süresi – yavaş**
- 4. İn vitro ortamda kök hücreler**
- 5. Yuvalanma bölgesi – ‘niche’**
- 6. Diferansiye hücreler**
- 7. Transdiferansiyasyon !!**

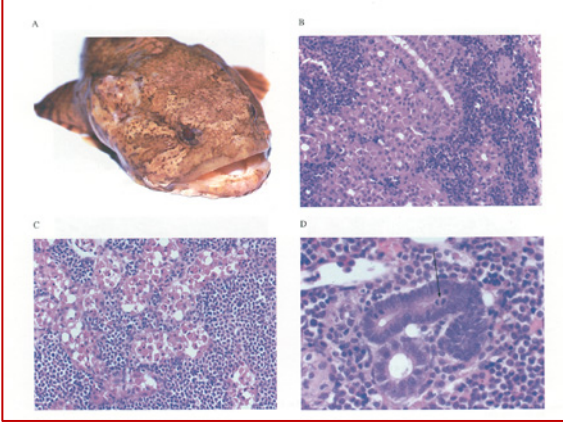


# Metanefrik Mezenkimden Nefrona





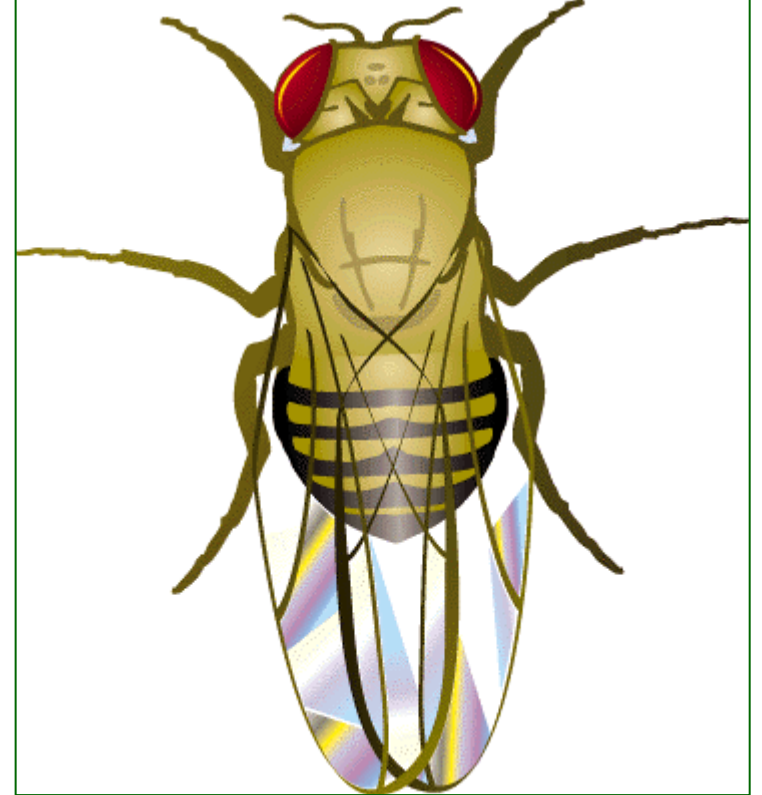
# Evrım ve ‘Aşağı’ Organizmalardan dersler



Tatlı su  
teleostu



skate



drosophila

# Böbrekten Erişkin KH'i İzole Eden Çalışmalar

| Authors               | Species | Stem cell markers        | Location                       | Differentiate into kidney tubules |
|-----------------------|---------|--------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| Oliver et al. [36]    | rat     |                          | papilla                        | yes                               |
| Maeshima et al. [38]  | rat     |                          | proximal tubule                | yes                               |
| Iwatani et al. [39]   | rat     | Sca-1                    | proximal tubule                | no                                |
| Hishikawa et al. [40] | mouse   | Sca-1                    | interstitium                   | not tested                        |
| Challen et al. [41]   | mouse   | Sca-1, CD24              | tubule                         | yes                               |
| Bussolati et al. [42] | human   | CD133                    | interstitium                   | yes                               |
| Sagrinati et al. [43] | human   | Oct-4, CD24, CD133, Bml1 | glomerular parietal epithelium | yes                               |
| Dekel et al. [44]     | mouse   | Sca-1                    | interstitium of papilla        | not tested                        |
| Kitamura et al. [45]  | rat     | Sca-1, Musashi-1         | proximal tubule                | yes                               |
| Gupta et al. [46]     | rat     | Oct-4, Rex-1             | proximal tubule                | yes                               |

# **Kök Hücre Tedavilerine Engeller**

**1. Etik sorunlar**

**2. Hücrelerin Saflığı**

**3. Allojeneik Hücre Greftlerinin  
Reddi**

# **Kök Hücre Tedavilerinin Gelişmesi**

- **Kaynak**
- **Büyük ölçekte çoğaltma  
(Proliferasyon)**
- **Farklılaşmalarının sağlanması  
(Diferansiyasyon)**
- **Saflaştırma**
- **Ürünün farmasötik geliştirilmesi**
- **Antirejeksiyon stratejileri**

# Melez embriyona izin çıktı

21/05/2008

**Britanya'da parlamento bilimsel ve tıbbi araştırma amacıyla insan-hayvan embriyonlarının karıştırılmasını onayladı. Yeni yasayla ülke kök hücre araştırmalarında daha da iddialı olacak**

LONDRA - Avustralya, Fransa, Almanya ve İtalya'nın da aralarında olduğu çok sayıda ülkede kök hücre araştırmaları yasakken, dün yapılan oylamayla, Britanya'da bilim insanlarının insan-hayvan hücrelerinden oluşan embriyonlar üretmesi, bunları 14 gün kadar koruyup içinden kök hücreler alması ve bu hücreleri tedavi geliştirmede kullanması mümkün olabilecek.

İnsan Üremesi ve Embriyon Araştırmaları yasalarında son 20 yılda yapılan en büyük değişiklikle ilgili yasa, 176'ya karşı 336 oyla kabul edildi. Özellikle Katolik üyeler dini inançları nedeniyle başından beri olduğu gibi, değişikliğe şiddetle karşı çıktı. İşçi Partisi lideri ve Başbakan Gordon Brown ile Muhafazakar Parti lideri David Cameron ise kanser, parkinson ve alzheimer çare oluşturabilecek melez (hibrid) embriyonlar üretilmesine imkân veren yasayı desteklemesi için gruplarına çağrıda bulundu ve bu yönde oy kullandı.

Siyasi görüşleri farklı uçlardaki Cameron'la Brown'un hibrid embriyon üretimine izin veren yasayı desteklemelerinde birleştirici neden, iki liderin de ciddi sağlık sorunları yaşayan birer oğlu...

Ayrı bir oylamadaysa parlamento, çocukları ciddi hastalıklarla boğuşan anne-babaların, hasta kardeşleri için donörlük yapmak üzere, tüp bebek yöntemiyle 'kurtarıcı kardeş' sahibi olmalarını onayladı. Başbakan Brown, "Milyonlarca insana yeni tedavi yolu açacak kök hücre araştırmalarını sürdürmek istiyorsak, hibrid embriyonlara ihtiyacımız var" diye konuştu.

## 14 günden fazla yaşatmak yasak

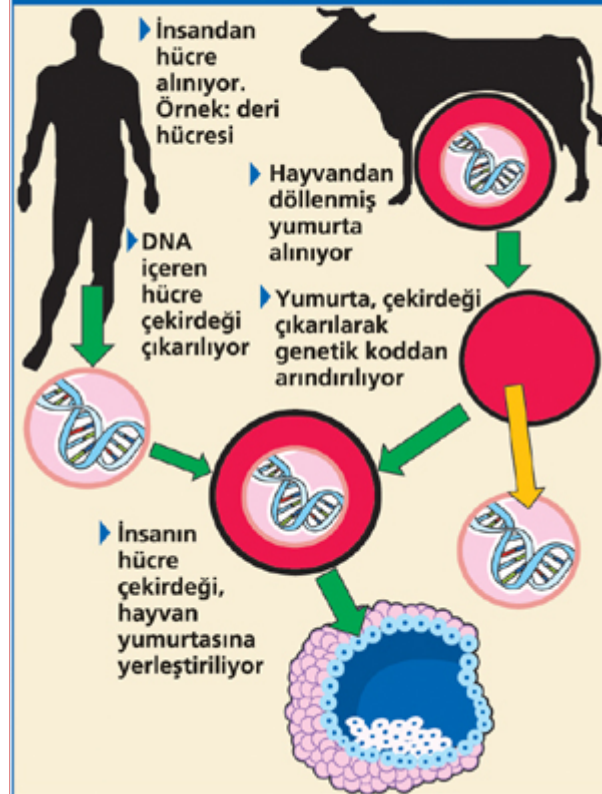
Yasa oluşturulan hibrid embriyonun 14 günden fazla yaşatılmasını yasaklıyor. Şu ana kadar melez embriyon üretimine izin verilmiş iki bilim ekibi var. Son oylamayla bu çalışmalar da yasallık kazanıyor. Bazı araştırmacılar hibrid embriyonların motor sinir hastalıkları tedavisinde yeni yollar açabileceği görüşündeyken diğer bir grup ve dini liderler, insan-hayvan embriyonu yaratmanın etik olmadığından hareketle, uygulamaya şiddetle karşı çıkıyor. Onlar tıbbi araştırmada kullanılmanın da hastalık tedavi etmeyecek kör bir yola girilmesi anlamına geldiği görüşünde. Katolik bir kardinale göre araştırma 'Frankenştayn bilimi' anlamına geliyor.

Reuters, atp)



# Radikal

## İnsan-hayvan embriyonu nasıl oluşturuluyor?



# **SONUÇ**

**KÖK HÜCREDEDEN BÖBREK  
YAPMAK MÜMKÜN  
OLACAK MI?**

**EVET , PEK YAKINDA**