

Yeni Binyılın Tedavi Araçları Kök Hücreler

Kök hücreler (KH'ler) iki nedenle günümüzün bilim haberleri arasında yer alıyor: İnsan embriyonundan elde edilen KH'lerin hücre kültüründe üretilmesi başarılı ve erişkinlerden elde edilen belli bir dokuya ait KH'lerin bir diğer dokunun KH'lerine dönüştürülmesi mümkün oldu; örneğin sinir KH'leri kan KH'lerine çevrilebiliyor. KH'lerin hangi cins hücelere dönüşeceğini belirleyen iç ve dış sinyallerden bazıları belirlenmiş bulunuyor. KH'lerin içinde yaşadıkları mikroskopik çevreye "yuva" deniliyor. Şurası da anlaşıldı ki farklı dokuların KH yuvaları benzerlikler gösteriyor; bu sayede KH'leri doku naklinde kullanmak mümkün olacak.

Düşük yapmış kadınların düşürdüğü fetüs parçalarından ya da tüp bebek elde edilişi sırasında artan embriyonlardan hücre kültürü yoluyla elde edilen kök hücreler hem coşku, hem de dirençle karşılandı. Bunların gelecekte hastalık tedavisi için doku naklinde kullanılması olasılığı heyecan yarattı; fakat henüz çözümlenmemiş etik sorunlar bu heyecanın hızını kesiyor. Son zamanların en büyük buluşlarından biri, erişkin dokularının sanıldığından çok daha geniş bir farklılaşma gizilgücüne sahip olduğunun anlaşılması. Bugüne kadar bilinmeyen bu çok yönlülük, bu değişebilme gücü, bir canlının kendi dokularını çoğaltarak doku nakli yapmak umudunu doğurdu.

Eğer kök hücrelerin gizilgücünden tam yararlanmak ve bu sayede Parkinson hastalığı (titremeler ve hareket yavaşlaması) ya da kas erimesi (müsküler distrofi) gibi dejeneratif hastalıkları tedavi etmek istiyorsak, bu konulardaki bilgi boşluklarını doldurmamız. Herşeyden önce kök hücrelerin kök hücre olarak kalmasını ve zamanı gelince belli hücre tipleri oluşturmasını sağlayan iç kontrol mekanizmalarını bilmek zorundayız. Bu gibi iç kontrol mekanizmaları, KH'lerin normalde içinde kaldıkları mikroskopik ortamla (mikroçevre ya da yuva) yakından ilgilidir. kök hücrelerin barındığı cennet neresi? Bunlardan doğan hücreler, farklılaşmak ya da ölmek üzere bu cennetten nasıl dışarı çıkıyorlar?

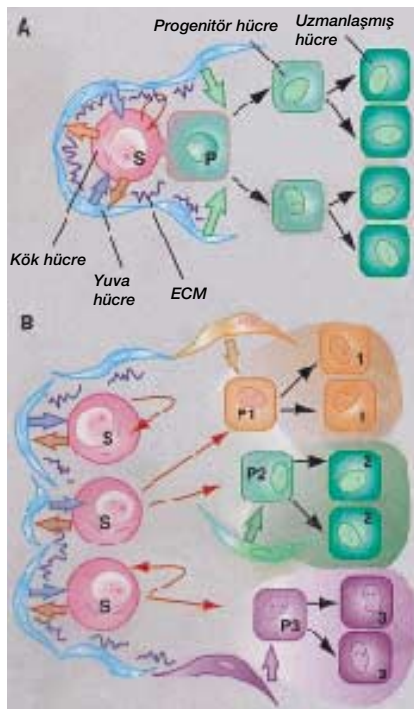
Kök Hücre Nedir?

Kök hücre, bir canlının vücudunda çok uzun bir süre bölünmeye devam ederek kendini yenileyebilen ve bu sayede farklılaşmış hücreler oluşturabilen farklılaşmamış hücelere verilen ad. Kök hücreden doğrudan oluşan hücelere progenitor hücreler (PH), kök hücrelerle farklılaşmış hücreler arasında değişik farklılaşma evrelerinde olan geçiş hücrelerine de "çoğaltıcı transit hücreler" adı veriliyor (şekil 1). Çoğaltıcı transit hücrelerin birincil gö-

revi, kök hücrelerin bölünmelerinden doğan farklılaşmış hücrelerin sayısını çoğaltmak; bu sayede KH'ler sınırsız bölünme yeteneğine sahip olmalarına karşın yapmaları gerekenden daha az bölünme yapabilirler.

Kök hücreler, farklılaşmış hücrelerin artık bölünme yapmadığı ve az yaşadığı, fakat sürekli olarak yeniden oluşturulduğu kan ve üstderi gibi dokularda incelenmiş bulunuyor. Aslında bunlar karaciğer ve beyin gibi kendini yenileme gücü çok sınırlı olan organlarda da bulunurlar; ancak onları oralar da bulmak kolay değildir.

Kök hücreler dokularda diğer hücrelerden nasıl ayırt edilecek? Bazen dış görünüşleriyle ya da bulundukları yerle tanınırlar. Örneğin meyva sineği *Drosophila*'ların eşeysel organlarında, çevresel sinir sistemlerinde kök hücreler ve PH'ler, komşu hücelere göre çok belirli bir yön alırlar (şekil 2). Öte yandan birçok dokuda bunların yeri ancak yaklaşık olarak bellidir ve kök



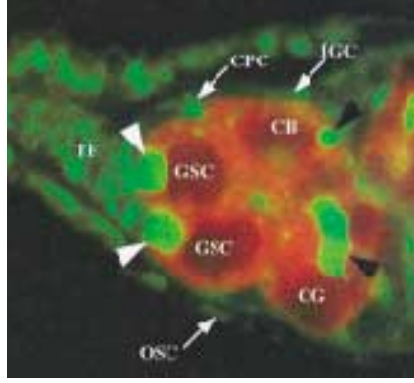
Şekil 1- Kök hücre iki türlü bölünme yapar: A- Kök hücre (S) asimetrik olarak bölünerek bir kök hücre ve bir progenitor hücre (P) oluşturur. P hücrenin çoğalma gizilgücü daha sınırlıdır; P hücre dış sinyallere cevap olarak farklılaşır. Kök hücre, etrafındaki yuva hücreleriyle etkileşim halindedir (renkli kalın oklar) B- Popülasyon asimetrisi. Kök hücreler (S) bölünerek yine kök hücreler ya da progenitor hücreler (P) oluştururlar. P'ler dış sinyallerin etkisi altında çeşitli hücreler (1,2,3) yapacak şekilde farklılaşırlar. ECM: ekstrasellüler matriks.

hücre kompartmanını ya da havuzunu belirlemek üzere, kendilerine moleküller etiketler takılır; bu etiketlere “işaretleyici” (marker) deniliyor. Bedende doğal olarak bulunan bazı işaretleyiciler kök hücrelerin bulunmasında yardımcı olabilir; örneğin üst deri kök hücreleri fazla miktarda β -1-integrin yaparlar ve mikroskop altında bunun boyanmasıyla tanınırlar (şekil 3).

Kök Hücrelerin Bölünme Stratejileri

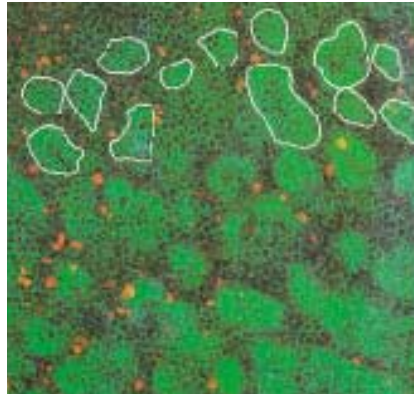
Kök hücreler (KH), farklılaşmış hücreler oluşturmak üzere iki çeşit bölünme yaparlar. 1) Asimetrik bölünme (invariant ya da değişmez bölünme); 2) Simetrik bölünme (düzenleyici bölünme) (şekil 1). Asimetrik bölünmede kök hücre ikiye bölünerek bir KH ve bir de ileride farklılaşacak olan progenitor hücre (PH) verir. Bu bölünmeye bu nedenle simetrik olmayan deniliyor; çünkü simetrik bölünmenin KH→KH+KH şeklinde olması gerekir; asimetrik bölünmedeyse KH→KH+PH durumu vardır. PH’ler ileride bölünerek farklılaşmış hücrelere dönüşeceklerdir. Tek hücreli canlılarda ve omurgasızlarda, örneğin *Drosophila* yumurtalıklarında, asimetrik bölünme örnekleri görülmüştür. Simetrik bölünmedeyse bir kök hücre, KH→KH+KH ya da KH→PH+PH olacak şekilde bölünür. KH+KH mı, PH+PH mı olacağını şans belirler; fakat ortalama alınır, bölünmeler sonucunda eşit sayıda KH ve PH oluştuğu görülür. Buna rağmen bu ikinci tip bölünmelerin sonucunda dokuda KH ve PH sayıları eşit değildir; buna “popülasyon asimetrisi” denir. Ortalama olarak eşit sayıda KH ve PH oluşmuşken dokuda KH ve PH sayılarının farklı oluşunun nedeni, doku gereksinimlerine göre KH ve PH bölünme hızlarının değişebilmesidir. Genellikle dokularda PH’lerin sayısı KH’lerden çok daha fazladır. Memelilerin kendini yenileyebilen dokularının çoğu ikinci tip bölünme yapar ve popülasyon asimetrisi gösterir.

Çok farklı olsalar da, bu iki strateji de geri kontrol (feedback) ve hücrelerarası etkileşim sistemleri içerirler. Hücre nüfusunun simetrik olmayışı çeşitli fizyolojik gereksinimlere yanıtı kolaylaştırır; bir yaralanmadan sonra kan ya da üstderi hücreleri gerektiğinde, bunlar daha çabuk oluşturulabilir.



Kök Hücrelerin İç Kontrolü

Asimetrik hücre bölünmesinden doğan iki hücreden herbiri, ötekinden farklı bir gelişme gizilgücü taşır: bu iki şekilde sağlanır; hücre kaderini belirleyici öğelerin iki hücreye eşit olmayarak dağılımı, ya da çevreden gelen farklılaştırıcı etkiler. Yapısal proteinler ve özellikle hücre iskeleti (sito-skeleton), hücre kaderini belirleyici öğelerin bölüşülmesinde önemli rol oynarlar. *Drosophila* duyu organı öncül hücresinin asimetrik bölünmesi, birçok gen grubunca kontrol edilir; bunlardan biri *Insc* gen grubu. *Insc* proteini asimetrik bölünmenin en az üç evresini kontrol eder: hücre zarına bağlı hücre kaderini belirleyici moleküllerin, asimetrik dağılışı, haberci RNA’nın (mRNA) asimetrik dağılışı ve mitoz iğlerinin yönlendirilmesi. *Insc* proteininin merkez bölgesi, mitoz iğini ve yönlendirmede rol oynar. Bölünen öncül sinir hücrelerinde *Insc*’in asimetrik yerleşmesi hücre iskeletinin incecik liflerine (mikrofilament) sağlanır.



Şekil 3- İnsan üst derisinde popülasyon asimetrisi. Beta 1 integrinler yeşile boyanmış. Beyaz sınır çizilmiş hücreler, fazla integrin içeren epitel kök hücreleri. Aralarında daha az integrin içeren kırmızı çekirdekli “çoğaltıcı transit hücreler” görülüyor.

Şekil 2- Meyva sineği *Drosophila*’nın boyanmış yumurtalığında eşeysel kök hücreleri (GSC) yuvası. Yuvayı saran kılıf hücreleri yeşil (OSC). Kahverengi altalta iki kök hücrenin (GSC) içinde yeşil spektrosom görülüyor (beyaz ok başları). Kök hücreleri, farklılaşmış üç somatik hücre tipi çevreliyor: hepsi yeşil renkte terminal filament (TF), takke hücreler (CPC) ve yuva iç hücreleri (IGC). Üst kök hücrenin arkasında ondan oluşan sistoblast (CB) hücresi var. Sistoblast içinde spektrosom görülüyor (üst siyah ok). Onun da altında sistoblastın kistik şekli (CG) var. Bu kistik hücre dallanmış bir füzom içeriyor (alt siyah ok).

Drosophila yumurtalığında her kök hücre, asimetrik bölünme yaparak bir başka kök hücre ve yuvasından çıkarak sonunda olgun yumurta halini alacak farklılaşmış bir hücre yaratır. Bu iki hücre tipi farklılaşmış komşu hücrelerle etkileşim içindedir (şekil 2). Kök hücrenin asimetrik bölünmesini “spektrosom” denen bir hücre organı sağlar. Spektrosom hücre zarına bağlı hücre iskeleti proteinlerinden “spektrin”leri ve düzenleyici protein “siklin A” yı içerir. Spektrosom, mitoz iğine bağlanarak kök hücre bölünmesini yönlendirir. Spektrosom ayrıca kök hücre’nin kaderini belirlemede önemi olan moleküllerin yerini belirler ve onların PH’lere geçmesini sağlar.

DNA Kopya (transkripsiyon) Faktörleri

Drosophila’da asimetrik kök hücre bölünmesini düzenleyen *Insc* gibi genlerin omurgalılarda türdeşleri bulundusa da bunların kök hücre kaderini belirlemedeki rolleri belirsiz. Fakat DNA kopya faktörlerinin kök hücre kaderini belirlemedeki rollerine dair yeterli kanıt var. Örneğin kan hücreleri yapımında (hematopoez), evrim sırasında korunmuş çok sayıda DNA kopya faktörünün rol oynadığı biliniyor.

Son zamanlarda üst deri ve bağırsak epitelinde Tcf/Lef grubu kopya faktörlerinin önemi anlaşıldı. Her iki Tcf4 geninden yoksun farelerin incebağırsaklarında kök hücreler yoktu; her iki (alel) Lef 1 geni mutasyona uğramış farelerdeyse kıl ve bıyık oluşumu tam değildi. β -katenin, Tcf/Lef aracılı DNA kopyalanmasını etkinleştirir.

β -katenin adlı proteinin fazlalığı kök hücre sayısını artırır. β -katenin, üst derinin boynuzsuz madde içeren hücrelerini (keratinositler) plüripotent yapar. (Plüripotent, çoğul gizilgücü olan demektir; plüripotent bir hücre çok çe-

şitli hücreler oluşturabilir. Kök hücre plüripotent bir hücredir; plüripotent keratinositler kıl kökleri (foliküller) ya da üstderi hücreleri oluşturabilirler; kıl köklerinden bazıları tümörleşebilir.

Saatler

Bir kök hücre yuvasını terkettikten sonra eninde sonunda farklılaşacaktır; acaba tamamen farklılaşmadan önce kaç kez bölüneceğini belirleyen öğeler neler? Bölünmeyi hızlandıran ya da baskılayan maddeler oluşturan hücre-içi saatlerin olabileceği düşünülüyor. Hücre devri hızlandırıcılarına örnek olarak, *Chaenorhabitis elegans*'da cul-1 proteini, hücre devri baskılayıcılarına örnek olarak sıçanlarda p27/Kip1(p27) gösterilebilir; bu son maddenin birikmesi sıçan oligodendrosit (beyin destek hücresi) öncül hücrelerinin çoğalmasını kısıtlar ve farklılaşmasını artırır.

Üçüncü bir saat düzeneğiye, telomer (kromozom uç cismi) uzunluğu. İnsan dokularının çoğunda telomeraz etkinliği az ya da ölçülemez düzeyde. Telomerlerin giderek kısalması bir mitoz saati etkisi yaparak hücre bölünmelerini azaltır. Kök hücreler yaşlanmaz; çünkü telomeraz etkinlikleri yüksek-

tir. Telomeraz geni yokedilmiş birinci kuşak farelerde kan hücreleri yapımı normaldir ve bağırsak, erbezi ve üstderi bozuklukları yoktur. Fakat daha altıncı kuşağa gelmeden kan kök hücrelerinin yapımı azalır: erkek fareler kırsırlar; kıl dökülmesi başlar ve deri yaralarının epitel ile örtülmesi gecikir.

Kök Hücrelerin Dış Kontrolü

Kök hücrelerin çoğalmasını ve kaderini düzenleyen salgılar çok çeşitlidir. Bunlardan ikisi önde gelir: TGFβ'lar ve Wnt'ler. Wnt'ler, β-kateninleri içeren karmaşık bir yolla DNA kopyalanmasını etkinleştiriyor. Embriyondaki sinir kök hücreler farklılaşması TGFβ grubundan en az iki madde ister. Kan yapımı, melanin sentezi ve çocuk yapabilmek için kök hücre faktörü (SCF) ve onun bağlandığı tirozin kinaz c-Kit almaçı gereklidir.

İntegrinler ve Hücrelerarası Madde

Hücrelerin hücrelerarası maddeye yapışması birçok almaçla sağlanır;

bunlardan en önemli integrinlerdir. Keratinositlerin MAP kinaz sinyaliyle farklılaşmaları ve üstderi kök hücrelerinin devamı için β1 integrinler gerekiyor. Integrinler hücreyi dokuda gereken yerde tutarlar (bir gemiyi rıhtıma bağlayan halatlar gibi); integrinler olmazsa ya da değişirlerse kök hücre yuvasından kurtularak ya farklılaşır ya da apoptozla ölür.

İç Ortamın Kontrolü

Yuva modeli şunu söyler: bir kök hücre ikiye bölününce hücrelerden yalnız biri yuvada kalır; diğeri yuvayı terkeder ve başka bir yuva bulamazsa farklılaşmak zorunda kalır. Asimetrik bölünme yapan dokularda oluşan iki hücreden birinin yuvadan nasıl atıldığını anlamak zor değildir; mitotik işi öyle bir yön alır ki hücrelerden biri yuva dışına yönelir ve dışarı fırlamak zorunda kalır (şekil 2). Düzenleme tipi kök hücre popülasyonlarında, kök hücre yuvası için kök hücreleri arasında rekabet olduğunu düşünmek işi aşırı basitleştirmek olur. Örneğin bir fareden diğere kan kök hücreleri nakledilirse, verici kök hücrelerin alıcı kök hücre yuvalarına yerleşmesini,

Kök Hücrelerinin Evrimi ve Gelişmesi

KH'ler embriyonal gelişmenin görece geç bir evresinde ortaya çıkarlar. Görevleri dokuları yenileyerek canlılığın ömrünü uzatmaktır. Son zamanlarda dokuya özgü sanılan erişkin KH'lerinin aslında birçok erişkin dokusu oluşturabilmek gizli gücü taşıdığını anlaşıldı.

KH'lerin kendilerinden direkt olarak oluşan progenitor hücrelerden (PH) iki temel farkı vardır: KH'ler çok uzun bir süre kendilerini yenileyebilirler ve farklılaşmak zorunda değildirler. PH'ler bir süre sonra bölünmeyi durdurur ve farklılaşırlar. Erişkin bir memelide KH'ler incebağırsaklarda görüldüğü gibi hızla bölünebilir ya da beyinde olduğu gibi sessiz olabilirler. KH'ler asimetrik bölünmeyle hem kendilerini yeniler, hem de ilerde başkalaşacak olan PH'leri oluştururlar. Memelilerde KH'lerin bölünmesi rastgeledir; yani şansa bağlı olarak KH ya da PH oluşabilir. Doğru KH bölünmelerinin sonuçlarını değil, hızını düzenler.

KH'lerin evrimi

Acaba evrimde ilk tek hücreli canlı bir KH miydi? Hayır; çünkü bölünerek kendini yenileyebiliyordu ama başkalaşma yapamıyordu. Basit çok hücreli hayvanlarda hücreler KH özellikleri taşırlar; bir polip (hidra) kütlesi %2'ye inse bile kendini yeniler; ayrıca poliplerin her hücresi çok çeşitli görevler yapar (plüropotans). Son araştırmalar memeli ön beyindeki bazı astrositlerin KH özellikleri taşıdığını gösterdi.

Eldeki kanıtlar çok hücreliliğin hayvan ve bitkilerde ayrı ayrı evrimleştiğini gösteriyorsa da benzerlikler vardır. Örneğin *Drosophila*'larda eşeysel

hücre KH'lerini kontrol eden piwi geniyle Aribidopsis bitkisindeki sürgün KH'lerini kontrol eden ZWILLE geni türdeşdir. Bu gözleme göre hayvanlar ve bitkilerdeki KH'ler tek hücreli ya da çok hücreli ortak bir atadan evrimleşmiş olabilirler. Bitkileri epey göz ardı etmiş gibiyiz. Unutmamak gerekir ki gelişmiş havuç ya da tütün bitkisinin tek bir KH'sinden bütün bir bitki elde edilebiliyor. Memelilerin kan, beyin, bağırsak ve deri KH'leriyle bitkilerin yaprak ve çiçek oluşturan meristem (sürgün doku) hücreleri benzerdir. Bunların türdeş (homolog) olup olmadığı araştırılıyor.

Gelişme

Memelilerin embriyonal KH'leri (EKH) denilince embriyondan alınıp hücre kültürlerinde büyütülen hücreleri anlıyoruz. Bunların plüripotent olduğuna kuşku yoktur. Farelerde gen yoketme ve gen değiştirme deneyleri bu EKH'lerle yapılıyor. EKH'ler gerçek KH'leri mi? Memelilerin diğer hayvanlardan büyük farkı, erkeklerin hayat boyu spermatogoni hücrelerinin KH'lerini taşımasıdır. Yumurtalıktaki yumurta hücreleri sayısı doğumda belirlenir ve hayat boyu aynı kalır; yani yumurta KH'leri yoktur. Erkeklerdeki spermatogoni hücreleri sürekli çoğalarak sperm hücreleri yaptıklarından, doğru bunlara KH'ler vermiştir.

Farede döllenmeden 7 gün sonra, embriyon besin kesesinin duvarlarında kan hücreleri yapan adacıklar belirir. 8. ve 10. günler arasında aort damarı yani odaklarda kan hücreleri yapımı başlar. 10. ve 11. günlerde fetal karaciğerin kan hücreleri yapmaya başladığı görülür. 15. günden sonra fetal

dalak ve kemikliği kan hücreleri yapımına katılır; bu odaklar en önemlileridir. Kan hücreleri yapımı artıkça kan KH'leri sayısı da artar. Yine farelerde embriyonal hayatın geç evrelerinde ön beyin KH'leri belirir. Memelilerde ön beyindeki yan karıncıkların ependim zarı altı bölgeleri yeni nöronların yapıldığı yerlerdendir. Burada oluşan yeni nöronlar, kemiricilerde glial yolları izleyerek alın lobundaki koku soğanlarına gelirler. Maymunlardaysa ependim altında yapılan yeni nöronlar bellek alanlarına göç ederler. Daha da ilginç 1999'da yapılan şu deneydir: erişkin ön beyin KH'leri, röntgen ışınları verilerek kemikliği hücreleri öldürülmüş erişkin konakçıların damarına verilmiş ve beyinden kaynaklanan bu KH'lerinin kan hücreleri yapmaya başladığı görülmüştür.

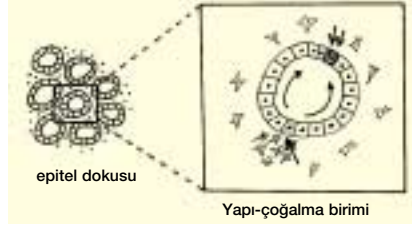
Bu son deneyin tersi bir deney de başarıyla sonuçlandı; kemikliği hem kan KH'leri, hem de destek doku (stroma) KH'leri içerir; destek doku KH'leri mezenkim orijini kemik ve kırık dokularına dönüşebilir. Erişkin farelerin kanına karışık kemikliği kök hücreleri verildiğinde çok çeşitli dokular oluştu: beyinde yeni astrogliya ve mikrogliya denen destek hücreleri, dejenere edilmiş bacak kaslarında kas hücreleri ve karaciğerde yeni oval hücreler (bunlar karaciğer hücrelerine dönüşürler). Daha yeni olarak stroma KH'leri yeni doğmuşların yan karıncıklarına doğrudan enjekte edildiğinde farklılaşmış astrogliya hücreleri oluştu. Kan KH'lerinin kas ve kas KH'lerinin kan hücrelerine dönüşebildiği de gösterilmişti.

alıcı kök hücre sayısının verici kök hücre sayısına oranı belirler. Bunun önemli bir sonucu şudur: Kan PH nakli yapılırken, nakledilen kök hücrelerine yer açmak için alıcının kök hücrelerini yuvalarından çıkarmaya gerek yoktur.

Kök Hücreler Değişicidir

Erişkin insanlardan alınan kök hücrelerin diğer insanlara nakli sırasında bir şey öğrenildi: Bunlar bir doku tipinden bir başka doku tipine dönüşebiliyorlar. Örneğin vericinin A dokusu-na ait kök hücreler nakilden sonra alıcıda B doku tipi kök hücrelere dönüşebilirler. Genellikle A ve B dokuları embriyolojik bakımdan birbirlerine yakındırlar. Fakat bazen A ve B dokuları birbirine hiç benzememeyebilir. Örneğin sinir kök hücreleri, kan kök hücrelerine dönüşebilirler. Kök hücrelerin bu tip çarpıcı değişimleri üzerinde ancak tahminlerde bulunabiliyoruz. Kan hücreleri yapımıyla ilgili iki gözlem konuya biraz ışık tuttu. Birinci gözlem: Kök hücrelerin DNA'sında çok çeşitli dokular oluşturabilecek genler bulundu; yani her kök hücre, kendinde çeşitli dokuların kök hücrelerine dönüşebilme gizilgücünü taşıyor. Demek ki kök hücre plüripotentdir. Kök hücre kendi bünyesinde hangi dokunun genlerini etkinleştirirse o dokunun hücrelerini oluşturur.

İkinci gözlem: B lenfositlerin farklılaşması, Pax5 geni yok edilerek bloke edilirse, B lenfosit kök hücreleri çok çeşitli kan hücreleri yapacak şekilde farklılaşırlar. Demek ki kök hücre naklinden sonra bunlar kendilerine yeni bir yuva bulurlarsa, hedefledikleri farklılaşmadan tamamen farklı bir farklılaşma ya da yeniden programlanma yoluna gidebilirler. Birçok faktör bu olasılığı artırır. Örneğin bir kök hücrenin farklılaşma sinyallerine yanıt verşi, komşusu olan hücrelerin bu sırada farklılaşma yapmakta oluşuyla artar. Ayrıca komşusu olan hücrelerden emredici sinyaller almakta olan kök hücreler bu ortamdan çıkartılırlarsa, değişmelere uğrarlar; şöyle ki gelen sinyallere karşı duyarlılıkları, yüzey almalı ve gen etkinlikleri değişir; böylece çok sayıda yeni sinyale duyarlı hale gelirler ve geldikleri yeni yuvada yeni sinyaller alarak yeni görevler edinirler.



Şekil 4- Yapı çoğalma birimleri. Sol resim: Halka biçimi yapılar tüp biçimi bezlerin kesitleri. Sağ resim: Solda yuvası içinde bir kök hücre (kısa tek ok), sağda karşı kutupta apoptozla ölen bir hücre (kısa iki ok) görülüyor. Uzun oklar kök hücrenin bölünmesiyle oluşan hücrelerin ilerleme yönünü gösteriyor.

Epitel Dokusu Kök Hücreleri

Epitel dokularının çoğu kök hücre içerir. Bu hücreler doku onarımından ve dokunun yeniden yapılmasından sorumludurlar. Memeli dokularının %60'ı epitelidir. Epitel ya salgı yapar (tükrük bezleri, pankreas), ya emicidir (bağırsakların astar hücreleri), ya da yüzeylerin bütünlüğünü sağlar (deri). Deri ve bağırsak epitelindeki hücreler hızla yenilenir; buna karşı karaciğer ve pankreas epitelinde hücre yenilenmesi çok yavaştır, fakat onarım gerekince hücre yapımı hızlanır.

Bütün epiteller normal olarak ya da yaralanmadan sonra kaybolan hücrelerinin yerine yenilerini koyabilirler. Epitel kök hücreleri de, diğer kök hücreler gibi iki özellik taşırlar: Canlının hayatı boyunca kendini yenilemek ve farklılaşmış hücreler yapabilmek.

Epitelyal Kök Hücrenin Görevi

Epitelyal kök hücrelerde daha embriyonal hayatta görev dağılımı yapılmıştır. Her epitelyal kök hücre ancak kendi epitel dokusunu oluşturabilir; diğer epitel dokularını oluşturamaz. Örneğin üstderi kök hücreleri, karaciğer kök hücrelerine dönüşemez. Bir hücreye daha embriyonal hayatta belli bir görev nasıl verilebilir? Bunun yanıtı şudur: Bu hücreye yapacağı göreve uyan DNA kopyalama (transkripsiyon) faktörleri verilmiştir; o artık bu DNA kopyalama faktörlerinin emrindedir; başka tür hücre yapamaz; DNA'ca tek bir hücre tipi yapmak üzere programlanmıştır. Epitelyal kök hücre DNA kopyalama faktörleri bilinmiyor.

Kök hücrelerin bölünmeleri yavaştır ve bu nedenle dokularda sayıları az-

dır. Buna karşı "transit hücreler" hızla bölünür ve sonlu bölünmelerden sonra mutlaka farklılaşırlar. Doğanın (evrimin) bu dahiyane planı sayesinde az sayıda kök hücreden çok sayıda farklılaşmış hücre elde edilir.

Üstderi epitel hücreleri birbirine yapışıktır. (Koruyucu deride böyle olması gerekir). Bu nedenle yüzeylerinde fazla miktarda hücre yapışma molekülleri ve β katenin taşırlar. Kıl kökünde sitokeratin 15 molekülü kök hücre işaretleyicisidir. İncebağırsak epitelinin çoğalması TCF4 kopyalama faktörünü gerektirir; bu faktör Wnt sinyalinin cevap vererek β kateninle birleşir.

Yapı Çoğalma Birimleri

Dokunun mikroskopik yapısıyla kök hücre etkinliği arasında kesin bir ilişki görülüyor. Dokuda kök hücreler bir yerde, farklılaşmış hücreler bir başka yerdedir. Örneğin ince bağırsağın iç yüzünde "villus" denilen 0,5-1,5 mm yükseklikte besin emici çıkıntılar ve bunların arasında kript (bağırsak bezleri, Lieberkühn bezleri) denilen çukurlar görürüz. Bağırsak KH'leri kriptin dibinde bulunurlar. Çoğaltıcı transit hücreler kriptin 1/3 üst bölümünde ve villuslardadır. En dipte en hızlı bölünen, en yüzeyde hemen hiç bölünmeyen -farklılaşmış- hücreler yer alır. Öteki epiteller de daima yapısal birimlerden oluşur. Şekil 4'de tüp biçimi dış salgı bezi epitelinde, kök hücre ile en yaşlı hücrenin bezin karşı kutuplarında olduğu görülüyor. Bez epiteliiyle hücreler arası madde (stroma) arası etkileşimler sonucu, halka biçimli bezin bir ya da birkaç hücresi kök hücre olarak kalır ve çoğalır. Burası yuvadır. Kök hücrenin karşı kutbunda apoptozla (programlanmış hücre ölümü) ölen en yaşlı hücre vardır. Kök hücreyle en yaşlı hücre arasında çoğaltıcı transit hücreler yer alır. Bu hücreler bölündükleri için, kök hücreden karşı kutba doğru ilerlerler. Diğer epitelyal dokularda da yapı-çoğalma birimleri olabilir; yani birkaç kök hücre, organın belli bir yapısının hücrelerini sağlayabilir. Örneğin; mide bezleri, tükrük bezleri, karaciğer lobülleri, böbrek nefronları.

Multipotent ve Unipotent Hücreler

Çok çeşitli epiteller vardır (yassı, silindirik- kübik, kirpikli, bez vb). Bu

epitellerin hepsini yapma gizilgücünü taşıyan bir hücre multipotentdir. Yine ince bağırsağa gelelim. Burada 4 tip hücre vardır: Besin emici hücreler, sümük (mukus) yapıcı kadeh hücreleri, Paneth hücreleri ve serotonin vb yapıcı bağırsak iç salgı hücreleri. Bunların hepsinin multipotent tek bir hücreden kaynaklandığı kanıtlandı.

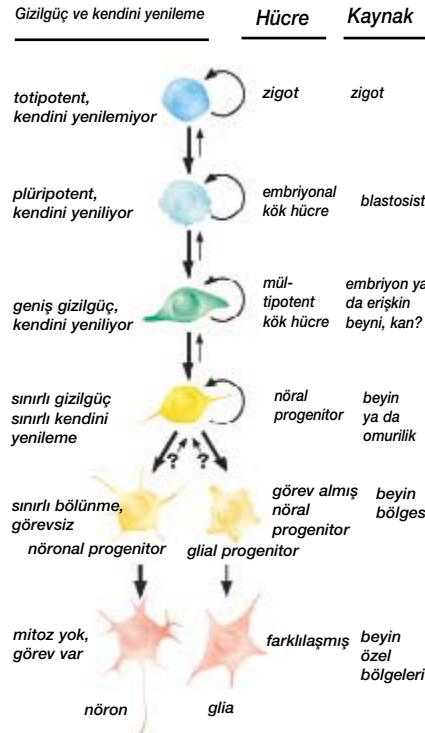
Başka dokularda da multipotent hücreler vardır: embriyonik hücreler hem üstleri, hem kıl kökü; hem karaciğer hücresi, hem safra kanalı hücresi; hem pankreas dış salgı hücresi, hem pankreas iç salgı (insülin) hücresi yapabilirler. Organlarda yaralanmalardan sonra multipotent hücreler belirebilir. Bunlar özel durumlarda safra kanalcıkları, karaciğer hücreleri, pankreas kanalları ve pankreas hücreleri yapabilir.

Doku tahribi yoksa kök hücreler genellikle unipotentdir (tek gizilgüçlü); içinde bulundukları organın dokularından yalnız birini oluştururlar. Son zamanlarda ince bağırsak kök hücrelerinin %80-90'ının unipotent olduğu, emici hücre ya da mukus hücresi yaptığı, ancak %10-20'sinin multipotent olduğu görüldü. (Kök hücre genel anlamda plüripotentdir; fakat bir dokuya yerleşmişse orada unipotent olabilir).

Metaplazi

Kök hücreleri genellikle içinde bulundukları organın dokularını oluştururlar. Yaralanmalardan sonra tuhaf bir olay görülebilir: bir organın kök hücreleri o organın dokuları yerine bir başka organın dokularını yapmaya başlarlar. Adeta yaralanma sonucu kök hücre şaşırmış ve görevini değiştirmiştir. Bir doku içinde normalde orada olmaması gereken bir doku oluşmasına "metaplazi" denir. Bu yabancı doku oluşması bir süre sonra durur; kök hücrenin aklı başına gelmiştir! Genellikle bir organda, embriyonda ona komşu olan bir organın dokuları görülür. Hiç de nadir olmayarak midede ince bağırsak epiteli, mesanede kalınbarsak epiteli, vaginada dölyatağı epiteli ve pankreasta karaciğer hücreleri görülebilir. Bu pratikte önem taşır. Örneğin, mide fitik (hiatus hernisi) yemek borusuna midedeki Hcl'in girmesine neden olur; bu tahriş sonucu yemek borusunda bir ada şeklinde mide epiteli oluşur (metaplazi); bu adada mide ülseri ve mide kanseri oluşabilir.

Gizilgüçlü Sinir Kök Hücreleri



Şekil 5- Nöron oluşturan memeli kök hücrelerinin sınıflandırılması. En üstte en ilkel, gizilgüç (değişik hücreler yapma gücü) ve bölünerek kendini yenileme yeteneği en yüksek hücre var. Aşağı inildikçe bölünme hızı, gizilgüçü ve kendini yenileme yeteneği azalıyor. Yukarı doğru ince oklar, hücrenin daha ilkel hale dönüşebileceğini gösteriyor.

Sinir Kök Hücreleri

İnsan dahil bütün memelilerin gerek embriyonik, gerekse erişkin sinir dokularında nöral (sinirsel) kök hücreleri (NKH) bulunur.

Bunlar şu özellikleri taşır: 1) Sinir dokusu yapabilir ya da sinir dokusundan elde edilmiştir. 2) Kendi kendini kısmen yenileyebilir. 3) Asimetrik hücre bölünmesi yaparak kendinden farklı hücreler de oluşturabilir. Sinir kök hücreleri, diğer dokuların kök hücrelerinden ya da daha ilkel (embriyonik) hücrelerden elde edilebilir (şekil 5). Totipotent (tam gizilgüçlü) sinir kök hücreleri canlı bir hayvanın dölyatağına konulursa, çevresel ve merkez sinir sistemleri de dahil bütün bir canlı oluşturabilir. Plüripotent (çoğul gizilgüçlü) olanları, plasantanın trofoblast hücreleri hariç, canlının her hücresini oluşturabilirler. Plüripotent kök hücreyle embriyonik kök hücre aynı şeydir; bunlar transgenik (genleri değiştirilmiş) hayvanlar oluşturmakta kullanıldığı gibi tıpta da kullanılabilecek.

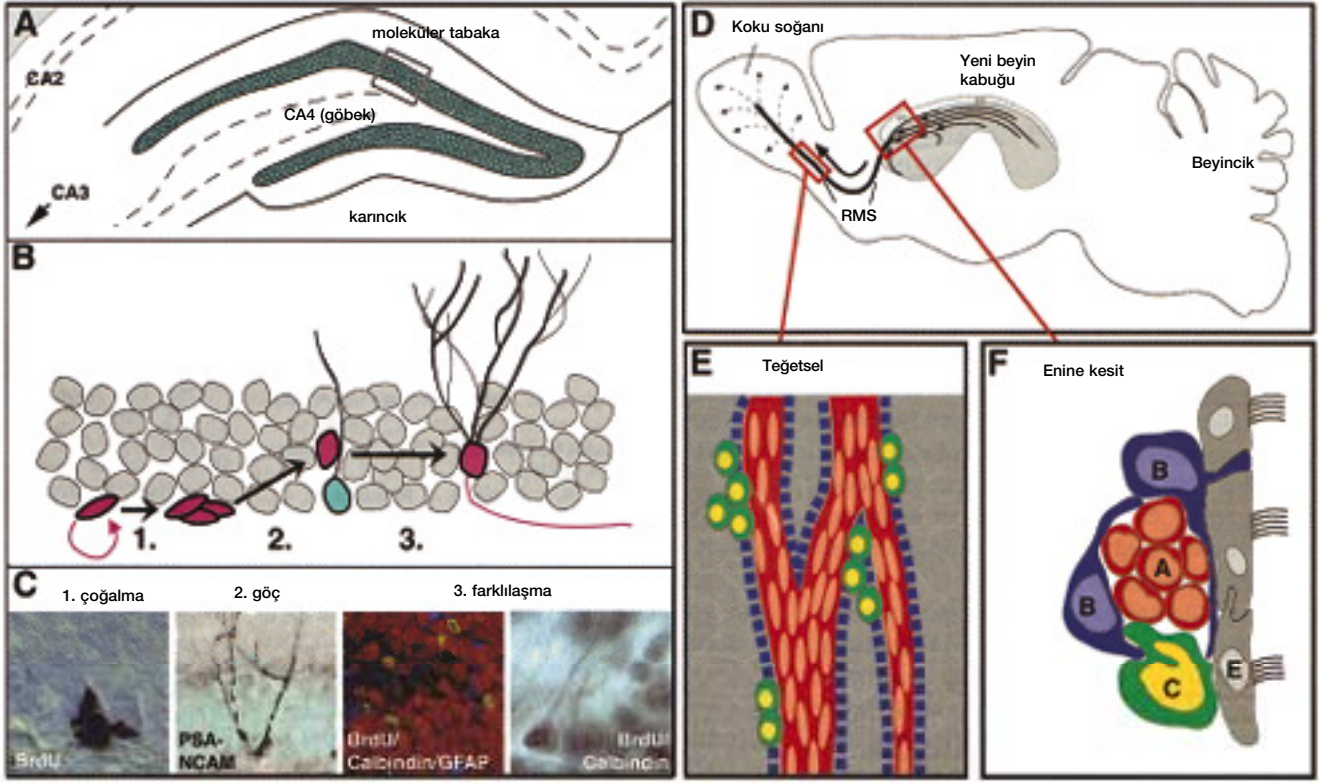
Kök hücreler sıklıkla içinde bulundukları organın adıyla anılırlar. beyin kök hücreleri, kan kök hücreleri vb.

Sinir kök hücrelerinin semender, polip(hidra), planarya yassı solucanları, balık vb gibi daha ilkel canlıların evrimsel artığı olduğunu düşünenler var. Bu ilkel canlılar vücutlarının eksilen bir bölümünü (polip, kuyruk, yüzgeç vb) yeniden yapabilirler. Bir başka görüşe göre de; beynimizin bellek ve öğrenme yükü giderek arttığından, doğa beyne sınırlı olarak kendini büyütme ve onarma yeteneğini vermiştir. Beyin çevreden de etkilenir. Günümüzün egemen görüşüye şu: Beyin davranışları kontrol eder, davranışlar da beynin yapısını değiştirebilirler.

Tüpte sinir kök hücreleri elde etmek için, fetüs ya da erişkin beyninin bu hücreleri içeren bölümü alınır. Sonra beyin epitel büyüme faktörü (EGF) ya da fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2) uygulanır. Bunlar hücre sayısını artırır. Kök hücreler astrosit, oligodendrosit ve nöronlara karşı oluşturulmuş antikorlarla boyanarak tanınır. Bunların kök hücre olduğuna emin olmak gerekir; bunun için hücreler tüpte retrovirüslerle enfekte edilir. Retrovirüsler hücre DNA'sıyla bütünleşerek gelecek hücre nesillerine geçerler. Bu yöntemle tek bir hücreden oluşmuş kök hücre klonları tanınabilir; böyle bir klonun bütün hücrelerinde retrovirüs bulunacaktır. Çalışmaların çoğu kemiricilerde yapılıyorsa da son çalışmalarda insan fetüsü sinir kök hücreleri de kullanılmaya başlandı. Sinir kök hücreleri hücre kültüründe kültür kabının dibine tek tabaka olarak yapışır ya da sinirsel küreler (nörosfer) şeklinde kabın içinde yüzerler.

Canlılara NKH Nakli

Yukarda anlatılan yöntemlerle tüpde elde edilen sinir kök hücreleri, ne olacağını görmek için beyne nakledilebilirler. Fetal kök hücreler, embriyon-da merkezi ve çevresel sinir sisteminin her yanına göç ederler. Bunlar erişkin sıçan beynine nakledilirlerse nöron ve glia olarak farklılaşırlar. Beyni tahrip edilmiş embriyonlara verilen fetal kök hücreler tahribat bölgesine göç ederek oradaki eksik hücrelerin yerini alırlar (gelecek için bir umut!). Bu akıl almaz dönüşebilme yeteneği yalnız embriyonal değil, erişkin sinir kök hücrelerinin



Şekil 6- A, B, C: erişkin dişli kıvrımında kök hücrelerin göçü. D: Aynı göç ependim altı RMS'de. Kırmızı dikdörtgenler E ve F'de büyütülmüş. E ve F: Ependim altı bölgeden kalkan nöronların RMS'de astrosit tünellerinden geçerek göçü. Kırmızı hücreler nöral progenitor hücreler Pembe hücreler astrositler, Yeşil hücreler öncül hücreler, A'daki küçük dikdörtgen B'de gösterilen tanecikli hücre tabakasını gösteriyor. B'deki sayılar C'de gösterilen 3 evreye karşılıktır.

de de görülür. Erişkin beyinlerinin hipokampus kıvrımından alınan sinir kök hücreleri tüpte çoğaltılarak hipokampusu geri verildiklerinde normal nöronlar ve glia oluştururlar. Bu hücreler beyinde uygun bir yere verildiklerinde RMS yolunu izleyerek koku soğanına göçerler (şekil 6). Aynı hücreler beyin nöron oluşturmeyen bir bölgesine (beyincik, çizgili cisim) verildiklerinde yalnız glia oluştururlar. Ama herhalde en ilginç şü: Farenin embriyonik ya da erişkin tip sinir kök hücreleri radyasyonla kemikliği öldürülmüş farelere verilirse, akıyvarlar, lenfositler ve diğer kan hücrelerini yapan kan kök hücrelerine dönüşürler. Demek ki sinir kök hücreleri, beyinde kendi alanlarının sınırlarını aştıkları gibi (hipokampus koku soğanına) beyin sınırlarını da aşarlar. Bu nakillerde şöyle bir güçlük var: Beyinden alınan sinir kök hücrelerinin bir bölümü tüpte çoğaltılırken farklılaşır; böylece yapılan hücre nakli, sinirsel kök hücre nakli olmayabilir. Bu güçlüğü önlemek için peşpeşe işaretlenmiş hücre nakilleri yapılır ve kendini yenileyen işaretli hücreler görülürse naklin başarılı olduğu anlaşılır.

Embriyon kök hücreleri sinir kök

hücrelerine dönüşebilir. Brüstle ve arkadaşları, fare embriyonik KH'lerini biraz farklılaştırarak oligodendrosit (sinirlerin miyelin kılıfını yapan glia hücresi) oluşturucu bir karışım elde ettiler. Bunlar oligodendrositleri yok edilmiş miyelinsiz sıçanların omuriliğine nakledildiğinde her yere göç ederek sinirlere miyelin kılıfı yaptılar. Böylece multipl skleroz gibi felçlerle seyreden kronik ve ağır bir nöral dejeneratif hastalığın tedavisi umudu doğdu; çünkü bu hastalıkta temel patoloji, akson miyelin kılıflarının kaybıdır.

Canlıda Nöral Kök Hücreler

Canlıda sinir kök hücreleri retrovirus bulaştırılarak ya da timidin gibi bazı maddelerle işaretlenerek tanınırlar. Retrovirusler yalnız bölünen hücrelere girerler ve o hücrelerden bölünmeyle oluşan bütün hücrelerde bulunurlar. Altman'ın erişkin sıçan beyinlerini timidinle işaretlediği öncü çalışmasından sonra erişkinlerde yeni sinir hücreleri oluşmasının en iyi örnekleri ötücü kuşların ön beyinde bulundu. Ötüş öğrenilmesini sağlayan alanda (neostriatum) yaygın olarak yeni nöronlar oluşması ve göç etmesi gözlemlendi.

Kök Hücreleri Düzenleyen Faktörler

Bugün memeli beyinde nöron bölünmesinin en sık olduğu iki alan biliniyor: 1) Yan karıncıkları astarlayan ependim zarı altındaki beyin dokuları (subventriküler zon = SVZ); (1999'da H.G. Khun ve C.N. Svendsen, Almanya'da Regensburg Üniversitesinde kök hücrelerin aslında ependim zarı hücreleri olduğunu gösterdiler). 2) Hipokampus alanının dişli kıvrımındaki (girus dentatus) subgranüler bölge (SGZ). SVZ hücrelerinin bir bölümü sinir kök hücreleridir ve bunlar yüzeylerinde astrositlerin işaretleyicisi olan GFAP molekülünü taşırlar. Sinir kök hücreleri astrositlerle akrabadırlar. Beynin 3. karıncığını astarlayan ependim hücrelerinin de sinirsel kök hücre olduğu gösterildi.

SVZ PH'leri yan karıncıklardan koku soğanına kadar uzun bir yol (RMS) boyunca göç ederler. (Şekil 6) PH'ların üzerinden geçebileceği ışınal glia hücreleri olmadığından, "zincir göç" adı verilen yeni bir hücre davranışına rastlanır. Göç eden PH'lar özel astrositlerin oluşturduğu bir "tüneller" in içinden geçerler. PH'lar tüneller

den bir tutkala (PSA NCAM) bulunmuş olarak geçerler.

Sıçan ve farelerde her gün, varolan her 2000 nöron için 1 yeni nöron oluşur. Nöron oluşumu (nörogenez) hızı yaşlanmakla düşer; fakat yaşlı kemirici ve insanlarda, dişli kıvrımda nöron oluşumu devam eder. Ölen nöronlarla yeni oluşan nöronlar arasındaki oran çevreden etkileniyor, hayvanlarda “zenginleştirilmiş bir çevre” nöron yaşamını büyük ölçüde uzatıyor; belli bir şey yapmayı öğrenmek de aynı etkiyi yapıyor. Daha da beklenmedik olan şu: kendi isteğiyle belli egzersizler yapmak dişli kıvrımda nöron hayatını uzatmakla birlikte uzun vadeli belleği de kuvvetlendiriyor.

Böbrek üstü bezinin kabuk hormonlarının (glükokortikoidler) nörogenezi baskılayıcı etkisi çok belirgin: bu bezin çıkartılması nöron çoğalmasını arttırıyor, bu hormonların ilaç olarak verililişyse nöron ölümünü hızlandırıyor. Glutamat beyindeki sinir iletim maddelerinden biri; glutamat almaçlarının örneğin MK-801 verilerek bloke edilmesi, nörogenezi çok arttırıyor. Bazı aminoasitlerle deneysel olarak şakak lobu tipinde sara nöbetleri oluşturulması dişli kıvrımda nörogenezi hızlandırıyor; ancak bu artış sara

nöbetleri pahasına olduğundan arzu edilmiyor.

Vücutta büyüme faktörleri denilen moleküller var; bunlar hücre çoğalmasını hızlandırıyorlar. Örneğin erişkin sıçan ve farelerde beyin yan karıncıklarına epitelyal büyüme faktörü (EGF) verililiş, SGZ’de nöron artışı yapıyor; SGZ’deyse yapmıyor; fakat SGZ’de glia/nöron oranını yükseltiyor; yeni doğmuş hayvanların kanına fibroblast büyüme faktörü (FGF) verililişyse nöron sayısını önemli ölçüde arttırıyor; bunun mekanizması bir giz. Beyinden elde edilen sinir besleyici (nörotrofik) faktörün farelerin yan karıncıklarına verililişyse koku soğanındaki nöronları çoğaltıyor. Bilim, nöronları çoğaltıcı maddeler peşinde; çünkü bugün sinir sistemi hastalıkları için çok az şey yapılabilir.

Bu sonuçları şöyle toplayabiliriz: Fare, sıçan ve insanların fetal ya da erişkin dokularından alınan sinir kök hücreleri, embriyon ya da erişkinlerin tahrip olmuş ya da normal beyinlerine nakledilebiliyor ve orada uzun mesafelere göçedebiliyor. Beyne verilen bu yeni nöronların orada yaşayabildiği ve yayıldığı bir gerçekse de görev yapıp yapmadıkları henüz bilinmiyor. Bu hücre nakillerinin tedavide kullanıla-

bilmesi için bu sorunun yanıtlanması gerek. Kök hücrelerin istenilen doku ya yönlendirilmesi için gen mühendisliği tezgâhlarından geçmesi gerekebilir. Bir de “komşu” faktörü var; verilen hücrelerin komşuları olan hücrelerce eğitilmesi gerekiyor; bu sağlanmadan yapılan nakil başarısız olabilir. “Fesleğen ektim, gül bitti” hesabı, bazen kan kök hücreleri beyin hücrelerine ve beyin kök hücreleri kan hücrelerine dönüşebiliyor. Bu gerçek tedavide kullanılabilir.

Belki “ne çok şey bulunmuş” diyorsunuz. Ama henüz yanıt bekleyen şu sorulara bir bakın: Sinir kök hücreleri neredeler; beyinde mi, kanda mı yoksa her ikisinde mi? Bir sinir kök hücrelerini diğer kök hücrelerden nasıl ayırtedebiliriz? Mitoz yaptırıcı etkenler (mitogenler), kanser yaptırıcı genler (onkogenler) ya da tüpde izole edilmek, kök hücrelerin gizli güçlerini değiştiriyor mu? Beyinde ve omurilikte nörogenezin ne zaman ve nerede olacağına bir kısıtlama var mı? Bir sinir kök hücrelerinin simetrik ya da asimetrik bölünmesini, nörona ya da gliaya dönüşmesini, etkisizleşmesini ya da ölmesini sağlayan etkenler nelerdir? Erişkin beyine verilen yeni nöronların görevleri nelerdir? Bir gün gelecek, ölümsüzleştirilmiş kök hücreleriyle dokular, organlar ve dolayısıyla canlılar çok daha uzun süre yaşatılabilir mi? Bu buluşlar kötüye kullanılabilir mi? Örneğin geri zekâlıların nöronlarını ileri zekâlı olanlara naklederek toplumları aptallaştıracak savaş yöntemleri bulunacak mı; ya da bunun aksi yapılarak dahiler toplumu elde edilecek mi? Bu gibi çalışmalar ulusal ve uluslararası çok sıkı etik kontroller altında. Yine de kuşku yok ki kök hücrelerin insanlığa getireceği yararlar, zararlarından çok fazla olacaktır. Şimdilik şöyle teselli bulalım: kök hücreler varken insanlığın kökünü kazımak kolay olmayacak ve kök hücreler tıp tarihine altın harflerle yazılacak.

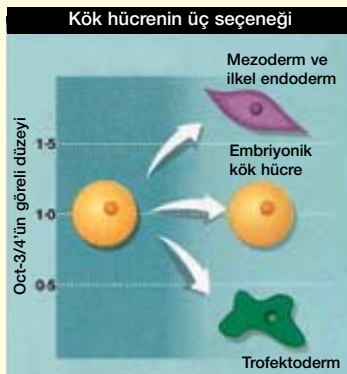
Selçuk Alsan

Kök Hücreler İçin Kılavuz Protein

İki yıl önce insan embriyon kök hücrelerinin (EKH) üretimi için geliştirilen bir teknik, uzmanlaşmış hücreler, hatta nakledilebilecek organlar için sınırsız bir kaynağa kavuşma yolunda umutlar doğurmuştu. Ancak araştırmacılar, bu kök hücrelere yön veren biyokimyasal komutları tam olarak belirleyebilmiş değillerdi. Şimdi bu amacın gerçekleşmesi yolunda önemli bir adım atılmış gibi görünüyor. ABD’li araştırmacılar, fare embriyon kök hücreleriyle yürüttükleri deneylerde Oct-3/4 adlı bir “kapıcı” proteinin farklı miktarlarının, bir kök hücreyi plasenta, beden dokuları ya da yeni kuşak bir EKH oluşturmaya yönlettiğini keşfettiler.

EKH’leri uzman hücrelere dönüştüren protein sinyaller, büyük çeşitlilik ve karmaşıklık gösteriyor.

Üstelik her nakilde gerekli milyonlarca hücreyi elde edebilmek için araştırmacılar insan EKH’lerini üretmenin daha kolay bir yolunu bulmak zorundalar. Günümüzde insan EKH’leri, yapay ortamda ancak fare hücreleriyle karıştırıldıkları zaman çoğalırlar. Ayrıca gelişmelerinin bir noktasında, geriye dönerek “trofektoderm” denen ve plasenta oluşturan hücrelere dönüşme eğilimi taşıyorlar.



Edinburgh Üniversitesi’nden Austin Smith ile Osaka Üniversitesi araştırmacılarından Hitoshi Niwa, gen etkinliklerini düzenleyen bir kopyalama faktörü proteinini olan Oct-3/4’ün, bu süreçte rol oynadığını düşünmüşler. Genetik mühendisliği yöntemleri kullanarak fare EKH’lerini değişik düzeylerde Oct-3/4 üretecek biçimde programlamışlar. Sonunda bu proteinin kritik düzeydeki bir miktarının, EKH’leri, uzmanlaşmadan çoğalacak bir durumda tuttuğu ortaya çıkmış. Bu düzeyin üzerindeki protein, EKH’leri mezoderm ve ilkel endoderm denen, beden hücreleriyle embriyonun hücre kesesini oluşturan dokular oluşturmuş. Daha alt düzeylerde aynı protein, EKH’leri trofektoderm haline getirmiş.

Avustralya’nın Monash Üniversitesi’yle, Singapur Üniversitesi araştırmacılarından kurulu aynı bir ekipse, insan EKH’leriyle yaptığı deneylerde, bunların da Oct-3/4 ürettiğini belirlemiş. İki araştırmanın, insan EKH’lerinin kültürde üretilmesinde karşılaşılan sorunların, özellikle de trophektoderm’e dönüşme eğiliminin aydınlatılmasına yardımcı olacağı düşünüyor.

Kaynaklar

- Int J Biochem Cell Biol 1999 Oct; 31 (10): 1037-51
- 10- Bioessays 1999 Aug; 21 (8): 625-30
- “Kök Hücreler Özel Sayısı” *Science*, 25 Şubat 2000
- New Scientist*, 8 Nisan 2000
- Robbins Pathologic Basis of Disease. Cotran-Kumar-Collins, Saunders Co., 6th ed. 1999
- Wintrob’s Clinical Hematology, G. Richard Lee ve ark. Williams-Wilkins, 1999. 10th ed. I. ve II. ciltler.