

Çocuk cerrahisinde yeni düşünceler

Özgür ŞENOL*, Erol MİR**

*Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Bilim Dalı Doktora Öğrencisi, İzmir

**Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı Emekli Öğretim Üyesi, Manisa

Öz

Çocuk Cerrahisi dergisinin bu sayısında kök hücre ile ilgili bazı bilgileri bir küme halinde sunmak istedik. Amaçlanan, genç bilim insanlarını bu konuda stimüle etmektir.

Anahtar kelimeler: çocuk cerrahisi, kök hücre, doku mühendisliği

Çocuk cerrahisinin kurucu hocalarından hocam Prof. Dr. İhsan NUMANOĞLU adına düzenlenen dergimizin bu sayısında, makale yazmak onu anmamıza bir vesile olmuştur. Hocamın birçok özelliği içinden onun araştırmacı ruhunu anmak için kök hücre ile ilgili yürüttüğüm çalışmalarımın elde ettiğim izlenimleri genç araştırmacılara ışık tutması düşüncesi ile aktarmak istedim.

Erol MİR

Çocuk cerrahisi cerrahi tıp dalları içinde en genç anabilim dallarından biridir. Genç olması kadar dinamik yapısı ve coşkulu üyeleri bilim dalının gelişiminde önem taşımaktadır. Çocuk Cerrahisi dergisinin bu sayısında kök hücre ile ilgili bazı bilgileri bir küme halinde sunmak istedik. Amaçlanan, genç bilim insanlarını bu konuda stimüle etmektir.

Kök hücre ve tipleri

Kök hücreler, çeşitli dokulara farklanabilme ve kendini yenileyebilme yeteneğine sahip farklanmamış hücrelerdir. Kök hücreler farklanma potansiyelleri açısından, totipotent, pluripotent, multipotent ve unipotent olarak sınıflandırılır. Totipotent (Omnipotent) kök hücreler, ontogenezin erken evresinde var olurlar ve embriyoyu ve plasentayı oluşturan forma dönüşebilirler.

Alındığı tarih: 04.01.2017

Kabul tarihi: 08.02.2017

Yazışma adresi: Prof. Dr. Erol Mir, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı Emekli Öğretim Üyesi, Manisa

e-mail: josepheros@myynet.com

Abstract

New horizons in pediatric surgery

We aimed to summarize new advancements in stem cell therapies in this issue of our journal, hoping to stimulate our young colleagues.

Keywords: pediatric surgery, stem cell, tissue engineering

Pluripotent hücreler, blastomanın iç tabakasından izole edilebilirler ve ektoderm, endoderm ve mezoderm tabakasından meydana gelen hücreleri üretirler. Multipotent hücreler, bu özellikleriyle tüm dokularda bulunurlar. Uzun süredir multipotent hücrelerin yalnızca bir germ tabakasına farklanabildiği düşünülmekteydi (Sözgelimi, hepatik kök hücrenin yalnız hepatositlere farklanabilmesi) ama yapılan çalışmalarla bazı multipotent hücrelerin pluripotent hücrelerle benzer potansiyellere sahip olduklarını gösterdi. Unipotent kök hücreler, en düşük potansiyelli ve yalnızca bir hücre tipine farklanabilen kök hücrelerdir (Sözgelimi, epidermal kök hücrelerin yalnızca terminal keratinize skuamoz epitel hücrelere farklanması) ^(1,2). Kök hücreler aynı zamanda kendi değişik kökenlerine göre de 4 grupta sınıflandırılır; embriyonik kök hücre (EKH), fetal kök hücre, yetişkin kök hücre ve uyarılmış pluripotent kök hücre (IPSC) ⁽³⁾.

Embriyonik kök hücreler neredeyse sınırsız olarak çoğalabilirler ve kendilerine özel NANOG ve Oct4 transkripsiyon faktörleri ile tanırlar. Zigot, totipotent hücre olarak tanımlanır. Gelişiminden 4 gün sonra blastomaya dönüşür. Blastomanın iç tabakası pluripotent özellikte olan embriyonik kök hücrelerle doludur ⁽⁴⁾. Özel bir kültür ortamı ve büyüme faktörleri ile embriyonik kök hücreler, in vitro kültür ile iskelet kası, endotel hücre, kondrosit, miyokardiyosit ve daha fazla çeşitte hücreye farklanabilir ^(5,6). Birçok etik ve sosyal ikilemlerden dolayı embriyonik ve fetal kök hücre kültürü, deneyleri ve elde edilmesi yasal olarak sınırlandırılmıştır ⁽⁷⁾. Bunların yanında, embriyonik kök hücreler ile yapılan bazı çalışmalarda,

kanser hücrelerinin ve teratom oluşumunun gözleendiği saptanmıştır. Bu da henüz embriyonik kök hücrelerin saf haliyle izole edilemediğinin göstergesidir⁽⁸⁾. Erişkin kök hücreler, canlı organizmalarda doku ve organlarda bulunan kök hücrelerdir. Erişkin kök hücreler kendilerini yenileme özelliğine sahiptirler ve gereklilik halinde farklılaşma göstererek doku ve organların tamirini, yenilenmelerini ve yaşamlarını devam ettirmelerini sağlamaktadırlar. Birçok dokuda erişkin kök hücre bulunmasına en güzel örnek hematopoetik kök hücrelerin varlığıdır⁽⁹⁾.

Bu bilgiler göz önünde bulundurulduğunda, çocukluk çağlarından itibaren var olan ve yetişkin kök hücreler olarak tanımlanan kök hücrelerin kullanımının büyük önem taşıdığı ve elde edilmesinin daha kolay olduğu sonucuna da varılabilir. Yetişkin kök hücreler her organa özgüdür ve küçük miktarlarda her organda bulunurlar.

Kök hücre çalışmalarındaki gelişmeler, cerrahi uygulamaları da geniş oranda etkilemiştir. Bu etki hızlı bir evrimle özgül cerrahi alanlara da yayılmaktadır. Bu alanlar hiçbir sınırlama olmadan doku mühendisliği, hücre ve organ transplantasyonu, solid neoplazma tedavisi, yara iyileştirme ve fetal müdahalelerdir. Bu görüş açısıyla çocuk cerrahisi gibi gelişme perspektifi yüksek düzeyde olan cerrahi bilim dalları bu çalışmanın yapılmasında temel öge olmuştur. Konunun yeni çalışma alanlarına yol açması düşüncesiyle bazı başlıkları vurgulamamız gerekmektedir.

Doku mühendisliği

Doku mühendisliği ve rejeneratif tıp, kök hücre davranışının aydınlatılması ve düzenlenmesi ile belirgin, hızlı ilerleme gösteren alanlardan biri haline gelmiştir. Doku ve organlar ayrıntılı olarak düzenlenmiş, buna karşılık oldukça karışık hücresel yapılardır. Hasarlanma durumunda, organ veya dokuları oluşturan tüm hücre tiplerinin yeniden yapılandırılması gerekmektedir⁽¹⁰⁾. Yapılan son çalışmalarda, hasar sonucu aktive edilmiş endojen kökenli veya uyarılmış eksojen kökenli kök hücrelerin organ veya doku tamirinde kullanıldığı gösterilmiştir⁽¹¹⁾. Bu çalışmalarla tetiklenen çalışmalar doku mühendisliğinde ex vivo organ ve doku üretilmesine, elde edilen verileri klinik uygulamalar düşüncesine yöneltmiştir. Fonksiyonel bir greft yapma ve bu grefti hasarlı bölgeye yerleştirme,

bazı cerrahi dallarda çoğu sorunların çözüm yolu olarak görülmektedir⁽¹²⁾. Benzer olarak özellikle çocuk cerrahisinde birçok malformasyonun sonucu ortaya çıkan organ yokluğu veya yetersizliği tablolarında, bu çalışmaların birçok sorunu çözebileceği akla gelmektedir. Bu çağrışımlar doku mühendisliğinin gelişme çizgilerini zorlamakta, hali hazırda elde edilen deri, kırık veya kemik gibi temel dokuların yerine kullanılabilir sınırlı klinik uygulamalara yol açmaktadır. İlerleyen çalışmalarda kalın bağırsak, mide, özofagus, mesane veya vasküler yapılar gibi çoklu (multiple) kompozit dokuların laboratuvarında yapıldığı, ancak fonksiyonel düzeyde sonuçların sınırlı olduğu gözlemlenmektedir⁽¹³⁾. Ancak bu çalışmalar yeni çalışmaları kamçulamaktadır. Fonksiyonel organ veya doku yapma amacına ulaşılması için uygun kök hücre tipleri kullanılarak organ veya dokuların damar ve sinir yapılarının da oluşturulması, hasar onarımı sözü konusu olduğunda ise benzer bir program yapılması gerekmektedir.

Hücre ve organ transplantasyonu

Kök hücre biyolojisindeki gelişmeler, direkt ve indirekt olarak hücre ve organ naklini etkilemektedir. Cerrahi bir perspektiften bakılacak olursa başlıca sorulması gereken soru multipotent kök hücrelerin terapotik popülasyonu nasıl genişletilebilir ve özgül dokuya nasıl uyum sağlayacağıdır⁽¹²⁾. Hücre ve organ nakillerinde en önemli sorun immün yanıtıdır. Uyumlu kök hücre veya doku bulmak özellikle genetik hastalıklarda bu alanın sınırlayıcı unsurlarındandır. Bu nedenle organ ve hücre nakillerinde en önemli amaçlardan biri donöre spesifik tolerans sağlanarak alıcının verici hücrelerini yabancı olarak algılamasına engel olarak devamlı immunsupresif ilaç kullanımını en az düzeye indirmektir⁽¹⁴⁾. Bu nedenlerle son zamanlarda transplantasyon çalışmalarının tolerans üzerine yoğunlaştığı da görülmektedir.

Kök hücreler, T hücre aktivasyonunu ve proliferasyonunu inhibe ederek olgun dendritik hücrelerin TNF- α ve IFN- γ salgılamalarını azaltıp immün düzenleyici sitokinlerden IL-10 ve IL-4 salgılanması ve regülatör T hücre (Treg) düzeyini artırarak immün düzenleyici bir etki yapmaktadırlar⁽¹⁵⁾. Solid organ naklinde özellikle böbrek, karaciğer ve diğer organ nakillerinde kök hücrelerin kullanıldığı oldukça fazla çalışma bulunmaktadır. Allogen ve ark.'nın⁽¹⁶⁾ yaptığı çalış-

mada, böbrek nakli sırasında alıcıya tam HLA uyumu olmayan donörün böbreği nakledilirken alıcı ve donörden de elde edilen mezenkimal kök hücreler de alıcıya enjekte edilmiş, ilerleyen dönemde hastanın immünesupresif kullanımının anlamlı düzeyde düştüğünü bildirmişlerdir.

Buradaki kök hücre tedavisindeki diğer bir önemli konu da tedavinin nasıl uygulanacağıdır. Hücrenin intravenöz yol veya farklı yollarla uygulamaları vardır. Hangisinin daha etkili bir yöntem olduğu konusunda henüz fikir birliği sağlanmamıştır. Bu konuda deneysel çalışmalar devam etmektedir.

Onkoloji

Onkolojide kök hücre transplantasyonunun büyük bir rolü ve etkisi vardır ve gelişen kök hücre çalışmaları ile bu etki artmaktadır. Tümör gelişim kinetiği ve tümör gerilemesine neden olan unsurlar yine kök hücre biyolojisi alanında çeşitli çalışmalara yol açmaktadır. Amaçlanan, tümör gelişim kinetiğini yavaşlatmak ve geriletken unsurları öne çıkarmaktır. Bunlara ek olarak hedef kemoterapi için araç olarak genetiğiyle oynanmış kök hücre kullanımı çalışmaları da bütün hızıyla devam etmektedir ^(16,17).

Yara tedavisi

Yara iyileşmesi hücrel ve humoral süreçlerin oldukça karmaşık bir kombinasyonudur. Farklı endojen ya da dış kaynaklı etkenler yara iyileşme sürecini etkileyebilirler. Kronik iyileşmeyen yara, günlük cerrahi pratiğinde sık karşılaşılan, hastaların yaşam kalitesini etkileyen ciddi ve yaygın bir sağlık sorunudur. İyileşmeyen yarayı tedavi, güncel gelişmeler nedeniyle daha kolay hale gelmiştir. Travmaya, iskemiye, diyabete veya kollajen vaskülarize hasarlara bağlı kompleks yaralar zor sorunlardandır. Fakat çoğu kronik yaralarda bile kemik iliği kökenli kök hücreler ile tedavi edilen olgu çalışmaları yayınlanmıştır ⁽¹⁸⁾. Gelecekte kompleks kompozit yaralarda kemik iliği kökenli kök hücreler kemik iyileşmesinde, yara yataklarının yeniden damar yapısı kazanmasında angiogenik kök hücrelerin kombine bir şekilde kullanılmasıyla tam olarak iyileşme sağlanabilecektir.

Bu temel bilgiler ve yaklaşımlar ışığında çocuk cerrahisinde kök hücrelerin kullanılabilirliği tartışmasız

önem kazanmaktadır. Travma sonucu kronik yaralar ve yanık tedavisi kemik iliği kökenli kök hücrelerin kullanımına örnek olarak verilebilir. Yanık yüzeye kök hücrelerin uygulanması iyileşmenin neoangiogenezi aktivitesinin artması ile olduğu gösterilmiştir. Deneysel çalışmalarda, mezenkimal kök hücre uygulamalarının hücre infiltrasyonunu azalttığı, neoangiogenezi artırdığı ve granülasyon dokusu formasyonunu gelişimini engellediği görülmüştür. Sonuçta, ideal yara iyileşmesi elde edilir ⁽¹⁹⁾.

Fetal tedavi

Kök hücre transplantasyonu ve gen transferinin terapötik uygulamasının en büyük potansiyeli erken gestasyonel fetal çevrede görülür. Normal fetal gelişimin sergilediği benzersiz olanaklardan dolayı fetüs hücrel ve gen transferi için ideal alıcıdır. Fetal hastalıklar, genetik anormalliklerin tanısını koyabilecek teknolojinin gelişmesi ve insan genom projesinin hız kazanması genetik hastalıkları fetal hücrelerden veya maternal kandan izole edilen DNA ile gestasyonun erken evresinde daha hızlı teşhis edilebilecektir. Hücrel tedavi alıcısı olarak fetüs çok sayıda avantaja sahiptir. Bunlar:

1. Erken gestasyon çevresinin kök hücrenin anatomik yapılar oluşturması için migrasyonu ve artması için uygun bir yer olması,
2. Küçük boyuttaki fetüsün doğumdan sonrakine göre kilogram başına daha fazla hücre transplante edilmesine olanak vermesi,
3. Yabancı hücrelere fetal toleransın olmaması veya proteinlerin immünolojik bariyeri geçmesine izin vermesidir ⁽²⁰⁾.

Bu bilgiler gelecekte fetal çocuk cerrahisi araştırmalarının bel kemiğini teşkil edebilecek yeni ufukların anahtarlarıdır.

Rekonstrüktif cerrahi

Yağ dokusu, karmaşık yapıdadır ve matur adiposit, preadiposit, fibroblast, vasküler düz kas hücreleri, endotelial hücreler, yerleşik (resident) makrofajlar ve lenfositler içerir. Adipoz kökenli kök hücreler (adipose-derived stem cells, ADSC) adipoz dokudan izole edilebilir ve çeşitli hücrelere ve mezodermal orijinlere farkedilebilirler. ADSC'lerin nöronlar, endokrin pankreatik hücreler, hepatositler, endotelial

hücreler ve kardiyomiyositler gibi mezodermal orijinli olmayan hücrelere de farkedildiği gösterilen pek çok çalışma vardır ⁽²¹⁾. Mir ve ark. ⁽²²⁾ tarafından yapılan deneysel çalışmada, subkütan adipoz doku kullanılarak yapay mesane oluşturulmuştur. Ancak fonksiyonel olması için sinirsel yapılanma çalışmaları halen yürütülmektedir.

Çocuk cerrahisi dışında çocuk ortopedisinin de kemik dokusu elde etmek için kemik iliği kökenli kök hücre (BM-MSC) ve endotelial progenitor hücre (EPC) kombinasyonu kullanılır. Bu konuda yapılan deneysel çalışmalar artık kliniğe uygulanır hale gelmiştir. Mezenkimal kök hücrelerin canlılıklarını sürdürebilmek için bir iskelet formu (scaffold) üzerine yerleştirilerek eklenebildiği ve burada işlevsel olarak çoğalabildiği bilinmektedir ⁽²³⁾. Çocuk cerrahisinde damak plastiği yapılırken alveolar cleft rekonstrüksiyonun da kemik iliği kökenli kök hücrelerin kullanımının deneysel düzeyden çıktığı ve klinik uygulamalara dönüştüğü bildirilmektedir ⁽²⁴⁾.

Benzer olarak çocuk cerrahisinde karşılaştığımız abdominal duvar yokluklarında AlloDerm (asellüler doku) üzerine kök hücre ekimi ve sonuçta karın duvarı rekonstrüksiyonu yapılabileceği düşünülmektedir. Ancak burada rezorbsiyonu önlemek ve başarılı sonuç almak için AlloDerm'in ADCS tabakası ile kaplanması gerekmektedir ⁽²⁵⁾.

Sonuç olarak, son yıllarda giderek artan bir ivme ile yapılan kök hücre çalışmaları çocuk cerrahisinin birçok sorunu çözecek niteliktedir. Özellikle genç araştırmacılara yeni çalışma alanlarını açmaktadır.

Kök hücre konusu tıbbın keşfedilmeyi bekleyen bir galaksi kümesidir. Her düşünce platformunda aranacak ve bulunacak birçok anahtar elinde tutmaktadır. Buna bir örnek olarak Mir ve ark.'nın ⁽²⁶⁾ genel yoğun bakım hastalarından alınan taze idrar örneklerinden kök hücre izolasyonu verilebilir. Bir gizemli halk deyiminin "yaralı parmağa işemek" bir deneye, bir gözleme dayandığı da düşündürmektedir.

Kaynaklar

1. Kumar R, Sharma A, Pattnaik AK et al. Stem Cells: An Overview with respect to cardiovascular and renal disease. *J Nat Sci* 2010;1:43-52. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.71674>
2. Clara VA, Montserrat GL, Maria ER et al. Defining stem cell types: understanding the therapeutic potential of ESCs, ASCs, and iPS cells. *J Mol Endocrinol* 2012;49:89-111. <https://doi.org/10.1530/JME-12-0072>
3. Beck B, Blanpain C. Mechanisms regulating epidermal stem cells. *EMBO J* 2012;31:2067-2075. <https://doi.org/10.1038/emboj.2012.67>
4. Wang Z, Oron E, Nelson B et al. Distinct lineage specification roles for NANOG, OCT4, and SOX2 in human embryonic stem cells. *Cell Stem Cell* 2012;10:440-454. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.02.016>
5. Rohwedel J, Maltsev V, Bober E. Muscle cell differentiation of embryonic stem cells reflects myogenesis in vivo: Developmentally regulated expression of myogenic determination genes and functional expression of ionic currents. *Dev Biol* 1994;164:87-101. <https://doi.org/10.1006/dbio.1994.1182>
6. Maltsev VA, Rohwedel J, Hescheler J et al. Embryonic stem cells differentiate in vitro into cardiomyocytes representing sinusnodal, atrial and ventricular cell types. *Mech Dev* 1993;44:41-50. [https://doi.org/10.1016/0925-4773\(93\)90015-P](https://doi.org/10.1016/0925-4773(93)90015-P)
7. Zarzeczny A, Caulfield T. Emerging ethical, legal and social issues associated with stem cell research and the current role of the moral status of the embryo. *Stem Cell Rev and Rep* 2009;5:96-101. <https://doi.org/10.1007/s12015-009-9062-4>
8. Wakitani S, Takaoka K, Hattori T et al. Embryonic stem cells injected into the mouse knee joint form teratomas and subsequently destroy the joint. *Rheumatology (Oxford)* 2003;42:162-165. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keg024>
9. TÜBA Kök Hücre Çalışma Grubu. Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar. 1. Baskı, Ankara, TÜBA, 2009, s:41.
10. Quint C, Niklason L. Tissue Engineering and Regenerative Medicine. Rossi's Principles of Transfusion Medicine, 4th Edition, Wiley-Blackwell, 2009, s:950.
11. Dimitry AC. Endogenous and exogenous stem cells: a role in lung repair and use in airway tissue engineering and transplantation. *Biomed Sci* 2010;17:92. <https://doi.org/10.1186/1423-0127-17-92>
12. Merchant AM, Flake AW. Surgeons and stem cells: A pragmatic perspective on shifting paradigms. *Surgery* 2004;136:5:975-977. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2004.01.005>
13. Karen F, Kim E, Samir M et al. Esophagus and Hypopharyngeal Reconstruction. *Seminars in Plastic Surgery* 2010;24:2.
14. Paulina R, Paula M, Yessia H. Transplant tolerance: new insights and strategies for long-term allograft acceptance. *Clin Dev Immunol* 2013;15:311-325.
15. Imberti B, Monti M, Casiraghi F. Pluripotent stem cells and tolerance induction in organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2015;20:86-93. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000144>
16. Alagesan S, Matthew D. Autologous and allogeneic mesenchymal stem cells in organ transplantation: what do we know about their safety and efficacy? *Curr Opin Organ Transplant* 2014;19:65-72. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000043>
17. Studeny M, Marini FC, Champlin RE et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells as vehicles

- for interferon-beta delivery into tumors. *Cancer Res* 2002;62(13):3603-8.
18. Kozlik M, Wojcicki P. The use of stem cells in plastic and reconstructive surgery. *Adv Clin Exp Med* 2014;23:1011-1017.
<https://doi.org/10.17219/acem/37360>
 19. Ghieh F, Jurjus R, Ibrahim A. The use of stem cells in burn wound healing: A review. *BioMed Research International* 2015;27:521-530.
<https://doi.org/10.1155/2015/684084>
 20. Flake AW, Zanjani ED. In utero hematopoietic stem cell transplantation: Ontogenic opportunities and biologic barriers. *Blood* 1999;94:2179-91.
 21. Utsunomiya T, Shimada M, Imura S, et al. Human adipose-derived stem cells: Potential clinical application in surgery. *Surg Today* 2011;41:18-23.
<https://doi.org/10.1007/s00595-010-4415-9>
 22. Erden S, Urkmez A, Sen B et al. Tissue engineering of the human urinary bladder using mesenchymal stem cells 5. Bioengineering Congress; s:181.
 23. Schultheiss J, Seebach C, Henrich D. Mesenchymal stem cell (MSC) and endothelial progenitor cell (EPC) growth and adhesion in six different bone graft substitutes. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2011;37:635-644.
<https://doi.org/10.1007/s00068-011-0119-0>
 24. Gladysz D, Hozyasz KK. Stem cell regenerative therapy in alveolar cleft reconstruction. *Arch Oral Biol* 2015;17:564-626.
<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.07.003>
 25. Glasberg SB, D'amico RA. Use of regenerative human acellular tissue (AlloDerm) to reconstruct the abdominal wall following pedicle TRAM flap breast reconstruction surgery. *Plast Reconstr Surg* 2006;118:8-14.
<https://doi.org/10.1097/01.prs.0000220470.97776.f5>
 26. Erden S, Keles G, Topcu İ et al. Isolation and in vitro Cultivation of Human Urine Derived Cells. 17th. Internat. Symp. On Biomed. Scien. and Thech 23-25 Nov. 2011 Ankara, Turkey Abstract Book. p:76.