

Kök Hücre Plastisitesi

Deniz SARGIN

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Hematoloji Bilim Dalı

Kök hücre (stem cell) kendini yinleme yeteneği (self-renewal capacity) olan ve farklılaşarak (differentiation) yeni hücreleri oluşturabilen, yamalanma (engraftment) yapabilen klonal bir hücredir.

Kök hücreler başlıca 2 grupta toplanabilir:

1. Embriyonik kök hücre (EKH)
2. Erişkin tip kök hücre

Embriyonik kök hücre; embriyodan oluşan, sınırsız yaşam süreleri olan ve birçok hücre dizilerini oluşturabilen hücredir. Embriyonik kök hücre erken embriyonun (4-5. gün) "blastosit" aşamasındaki "iç hücre grubunun" hücre kültürlerinden elde edilir. Ancak bu kültüre hücreler embriyonun normal gelişimindeki gibi hareket etmezler. Embriyonik kök hücre sonsuz üreme potansiyeline sahiptir; pluripotent bir hücredir, yani her üç germ tabakasından (mezoderm, endoderm ve elktoderm) hücreleri oluşturabilir.

Kültürden elde edilen EKH lerden aşağıdaki hücrelere değişim saptanmıştır.

- Pankreas adacık hücresine benzer, insülin salgılayan hücreler (fare ve insan çalışmaları)
- Kasılma gösterebilen kalb kası hücreleri (fare ve insan)
- Kan hücreleri (fare ve insan)
- Bazı beyin kimyasallarının salgılayan sinir hücreleri (fare)

1998 yılında EKH lerin in vitro çoğaltılması ve pluripotent potansiyeli kardiovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, kanser gibi birçok alanda kullanımları ile ilgili çalışmaları başlatıldı. Ancak bu çalışmalarla birlikte EKH kullanımı ile ilgili etik sorunlar gündeme geldi. Ayrıca farklılaşmamış EKH ler kültürden alınıp immun sistemi normal bir fareye enjekte edilirse "teratom" geliş-

bilir, bunlardan dolayı transplantasyonda ve tedavide kullanımları pek olası değildir.

Bu nedenlerle araştırmacılar daha az sorun yaşanabilecek diğer kök hücre kaynaklarına yöneldiler.

Bu şekilde "Erişkin Tip Kök Hücreler" in yeni doku ve organ oluşturabilme potansiyelleri hayvan ve insan çalışmalarında hızla araştırılmaya başlandı.

ERİŞKİN TIP KÖK HÜCRE (ETKH)

Erişkin tip kök hücre, erişkinde farklılaşmış bir dokuda (kan gibi) bulunan farklılaşmamış hücre grubudur.

Erişkin tip kök hücreler;

a) Kaynaklandıkları dokuların özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilir.

b) Kendilerini yinleme potansiyeline sahiptir.

c) Kaynaklandığı doku dışında başka dokuların hücrelerine de dönüşebilir. Bu şekilde

kök hücre işlevlerinde yeni bir kavram gündeme gelmiştir;

Kök hücre transdiferansiyasyonu veya kök hücre plastisitesi

Erişkin tip kök hücreler bir çok dokuda bulunmaktadır. Bunlar; kemik iliği, dolaşan kan, kornea ve retina, beyin, çizgili kas, diş pulpası, karaciğer, deri, gastrointestinal sistem mukozası ve pankreasıdır. ETKH ler kaynaklandıkları bu dokuların hücrelerini oluşturabilir. Örnek; kemik iliğinden kaynaklanan hematopoietik kök hücreler (HKH) olgun kan hücrelerini meydana getirirler. HKH ler kemoterapi ve/veya radyoterapi ile miyeloblastasyon ve immunosupresyon sağlanan hastalara verildiğinde bunların kemik iliğinde yamalanarak yeni

kan hücrelerini oluştururlar. Bu özellikleri nedeniyle HKH'ler bir çok habis kan hastalıkları, kemik iliği yetmezliği durumları, doğumsal genetik hastalıklar ve immünyetmezlik durumları, oto-immün hastalıkların tedavisinde yıllardır kullanılmaktadırlar.

Bu şekilde HKH nakli yapılan fare çalışmalarında ve insanlarda donör (kök hücre vericisi) kaynaklı hücrelerin kemik iliği dışında da yerleşebildikleri gösterilmiştir.

Mesela; erkek fareden dişi fareye kemik iliği ablasyonundan sonra kemik iliği hücre nakli yapıldığında, alıcı dişi farenin böbrek incelemelerinde Y-kromozomu bulunduğu gösterilmiş, ayrıca bazı böbrek tubulus epitel hücrelerinin kemik iliği öncül (prekürsör) hücrelerinden oluştuğu belirlenmiştir.

Kemik iliği kök hücreleri, ETKH'ler arasında klinikte en fazla kullanımı olan ve plastisite için en yoğun çalışmaların yapıldığı gruptur.

Kemik iliği kök hücrelerini;

- 1) Hematopoietik kök hücreler (HKH)
- 2) Endotelial hücre progenitörleri
- 3) Stroma hücreleri (mezenkimal kök hücreler) oluşturur.

Hematopoietik kök hücre; Kemik iliği, çevre kanı ve kordon kanından elde edilebilen, diğer kök hücreler gibi kendini yinleme ve farklılaşma yeteneğine sahip hücrelerdir. Buldukları ortamda sayıları azdır. Kemik iliğinde 10.000-15.000 hücreden 1. HKH'dir. Dolaşan kanda bu oran 1:100 000'dir.

HKH lerin tanınması; Senelerce CD34 insan HKH ve bunun daha olgun bazı hücreleri için bir yüzey işaretleyicisi olarak kullanıldı. Ancak son yıllarda hem fare hemde insanda HKH'lerin CD34+ ve CD34- alt gruplar içerdiği gösterildi.

CD34 ün bir kök hücre aktivasyon belirleyicisi olduğu CD34- kök hücrelerin CD34+ olanlardan daha primitif oldukları ileri sürüldü.

CD133 insan HKH'lerinde eksprese eden bir diğer yüzey işaretleyicisidir, CD34 negatif alt gruplarında ve değişen miktarlarda CD34+ hücrelerde bulunur.

Hematopoietik potansiyel taşıyan kök hücrelerin pürifikasyonunda kullanılan diğer önemli belirleyiciler "Vasküler endotelial Growth Factor Receptor-2 (VEGF R-2)" veya "Kinase İnsent domain receptor (KDR)", CD90 (Thy-1), CD-117 (c-Kit), CD164, CxC-Chemokin receptor 4 (CxCR-4), P-glycoprotein, rhodamine 123, Hoechst 33342, "Stem cell antigen (Sca-1)", AA4, CD45, "Bcrp1/ATP binding cassette (ABC)G2" dir.

Mezenkimal kök hücreler (MKH) ve bunların öncül hücreleri olan "Multipotent adult progenitör hücreler" (MAPC) kemik iliği hücrelerinin CD45 negatif fraksiyonunda yer alırlar. Bu hücreler CD133 pozitiflerdir. MKH, MAPC ve HKH dışında endotelial, nöral ve adale kök hücreleri de CD133 eksprese ederler.

Progenitör hücrelerin bir türü akım sitometrisi (Flow cytometry) ile Hoechst 23342 adı verilen ve DNA'e bağlanan fluoressan boya muamelesi sonrası ayrılan "side population" (SP hücreleri) da bulunur. Bu SP hücreleri hem HKH leri hem de diğer progenitör hücreleri (örneğin adale progenitörleri) içerir. SP hücreleri kemik iliğinde, kordon kanında, fetal karaciğerde, adalede bulunur. Bunlar Bcrp1/ABC G2 eksprese ederler.

KÖK HÜCRE PLASTİSİTE KAVRAMI

Bir kök hücrenin veya daha yönlendirilmiş hücrelerin "lineage" değiştirmesi için başlıca 4 alternatif yol mevcuttur (1).

1) "Transdetermination"; Bazı hücre dizilerini (lineage) oluşturmaya programlanmış olan kök hücre bir diğer kök hücreye değişir ve bu prekürsör hücrelerin hücre tiplerini meydana getirir.

2) Transdiferansiyasyon; Bu olayda farklılaşmış bir hücre bir diğer farklılaşmış hücrenin fenotipini kazanır.

3) Dediferansiyasyon; Bir progenitör veya prekürsör hücrenin dediferansiyasyonu; bunu takiben bir diğer hücre dizine farklılaşmasıdır.

4) Hücre füzyonu; Kök hücre veya daha olgun hücrelerin yönlendirilmiş hücre dizileriyle füzyonu, yeni yönlendirilmiş hücre dizilerinin oluşumuna yol açar. Örneğin; kemik iliği ve karaciğer hücreleri arasındaki füzyon farede hepatositleri oluşturabilir (2,3).

Ancak pankreatik endokrin ve glomerul mezangial hücrelerinde yapılan çalışmalarda hücre füzyonunun öneminin olmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmalarda kemik iliği HKH lerinin füzyon olmadan pankreas endokrin hücrelerine ve glomeruler mezangial hücrelere değiştiği in vivo gösterilmiştir (4,5).

HKH nöral hücrelere farklılaşabilir

Çalışmalarda neonatal ve erişkin fare ve sıçanlara kemik iliği kök hücre transplantasyonu yapıldıktan sonra bu hücrelerin beyine göç ettikleri ve nöral hücrelere farklılaştıkları gösterilmiştir. Bu hücreler korteks, hipokampus, talamus, beyin sapı ve serebellum gibi beyinin birçok bölgesinde bulunmuştur. Aynı zamanda bu hücreler nöronal, mikrogial veya astroglial hücrelere özgül işaretleyicilerle

yticileri de taşırlar (6,7,8,9).

Aynı zamanda insan, fare ve sıçanda kemik iliği mononükleer hücrelerin alt gruplarını oluşturan MKH ve MAPClerin nöronları, oligodendrositleri ve astrositleri oluşturabildiği in vitro gösterilmiştir (10).

Mezey ve ark. ise lösemi veya immün yetmezlik nedeniyle erkek donörden kemik iliği transplantasyonu yapılan kadın hastaların beyinlerinde donör Y-kromozomunun oluştuğunu immüno histokimyasal veya FISH yöntemi ile gösterdiler. Beyindeki bu hücrelerin çoğu nöronal hücreler değildi (örn; endotelial ve dolaşan hematopoietik hücreler)

Ancak donör kaynaklı hücrelerin ufak bir kısmı oligodendrositleri, astrositleri, mikrogliya, meningeal ve ependimal hücreleri içermekte idi (9).

Diğer çalışmalarda da donör HKH lerin beyinde dağılımının tesadüfi olmadığı, bu hücrelerin beyinde hasarlanmış bölgeye gittikleri ileri sürüldü. Bunu kanıtlamak ve kemik iliğinden kaynaklanan hücrelerin nörolojik hastalıklarda (multipl skleroz, Parkinson hastalığı, Spinal kord hasarı gibi) kullanılmasını sağlamak üzere in vivo hayvan çalışmaları devam etmektedir.

HKH'nin kas hücrelerine farklılaşması

Kas liflerini saran satelit hücrelerin normal şartlar altında iskelet kasının gelişimi ve onarımından sorumlu olduğu düşünülmektedir.

İnsan MAPC leri 5-azacytidine ile muamele edildiğinde iskelet kasını oluşturduğu in vitro gösterilmiştir (11).

Erişkin insan MKH lerinin de koyunlara enjeksiyonundan sonra insan myositlerini oluşturduğu kanıtlanmıştır (12).

Farede kemik iliğinden kaynaklanan hücrelerin göç ederek hasar görmüş kas liflerini onardıkları gösterilmiştir (13).

Bu çalışmalara dayanarak kemik iliği kaynaklı progenitör hücrelerin muskuler ditrofilerin tedavisinde alternatif bir tedavi şekli olabileceği ileri sürülmüştür.

Ayrıca Sca-1⁺ CD45⁺ adale orjinli hücreler öldürücü dozda ışınlanmış farelere transplante edildiğinde hematopoietik hücreleri oluşturabildiği gösterilmiştir (14,15).

Bu çalışmaların sonuçları kas oluşturan kök hücrelerin hematopoietik kaynaklı olduğunu göstermektedir.

Halen bugüne kadar HKH lerin ürünlerinin ya da prekürsörlerini myoblastlar veya myositlerle füzyon sonucu adale hücrelerini oluşturup oluşturmadıklarını tam olarak bilinmemektedir.

Hematopoietik dokudan oluşan kök hücrelerle kalb onarımı;

Kardiomyositler kalb hasarından sonra orta derecede rejenere olma kapasitesine sahiptir.

Kardiomyositler hematopoietik organlardaki MKH ve MAPC lerden in vitro oluşturulmuştur.

HKH lerin kardiomyositlere, aynı zamanda endotelial ve düz adale hücrelerine farklılaşma potansiyelleri myokard infarktüsü fare modelinde incelenmiştir.

Dişi farenin infarktüsü myokard alanına "Green fluorescent protein" GFP'le işaretli transgenik erkek donörden alınan kemik iliği kaynaklı hücreler enjekte edildi. Bu deneyin sonunda GFP Lin⁻, c-kit⁺ eksprese eden erkek fare kemik iliği hücrelerinin alıcı dişi fare myokardının infarktüs alanında kolonize ve proliferde olduğu gösterildi. Bu hücreler kalb adalesi, endotelial ve düz adale hücrelerinin tipik yüzey işaretleyicilerini eksprese ediyordu (16).

Fare kemik iliğinden elde edilen SP hücreleri kardiomyosit ve kan damar oluşumuna iştirak ederler. Bununlar beraber yamalanma (engrafman) kapasiteleri çok düşüktür ve fonksiyonel etkileri gösterilmemiştir (17).

Sıçan kemik iliği kaynaklı hücreler hasarlı kalbe transplante edildiğinde hem kalb kanı hem de endotelial hücreleri oluşturabilir. Tomita ve ark. sıçan kemik iliği hücrelerinin hasar oluşturulmuş myokarda enjekte edildiğinde angiogenezin sağlandığını gösterdiler. Bu çalışmada; kalb adale hücrelerine farklılaşmayı uyaran 5-azacytidine'le muamele edilmiş sıçan kemik iliğinden oluşan MKH'ler nedbe dokusuna yerleşti ve myokard fonksiyonunu düzeltti. Bu çalışma harap olmuş dokuda donör hücrelerinin transplantasyonundan sonra kalb fonksiyonunun düzeldiğini gösteren ilk hayvan çalışmasıdır. Hematopoietik dokulardan elde edilen kök hücrelerin kardiovasküler hastalıkların tedavisinde büyük bir ilerleme sağlayacağını düşündürmektedir.

Ayrıca 5-azacytidin ile muamele edilmemiş kemik iliği MKH lerinin de sıçanlarda kardiomyositleri oluşturabileceği gösterildi (18).

Daha sonra insan kemik iliğinden oluşan kök hücrelerin immün yetmezliği olan farelerin sol ventrikülüne enjekte edildiğinde donör hücrelerinin kardiomyositlere farklılaştığı gösterildi. Ancak bu çalışmada enjekte edilen hücrelerin fonksiyonu tayin edilmemiştir (19).

Bir başka çalışmada G-CSF le mobilize ve purifiye edilen CD34⁺ insan kemik iliği prekürsörleri akut myokard infarktüsü farelere enjekte edildi-

ğinde hasarlanmış kalbin revaskülarizasyonuna katkıda bulunduğu gösterildi (20).

Orlic ve ark.ları fare HKH lerinin "Stem cell Factor" SCF, G-CSF veya VEGF ile in vivo mobilizasyonunu sağlayarak kardiomyozit ve kan damarlarının onarıldığını ve kalb fonksiyonunda iyileşme olduğu gösterdiler (21).

Son zamanlarda 3 ayrı çalışma grubu kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin insanda iskemik kalb hastalığında angiogenezin stimülatörleri olarak kullanıldığı çalışmalarını bildirdiler.

İlk grup otolog kemik iliği mononükleer hücrelerini iskemik myokard adalesine enjekte etti (22).

İkinci gruptaki araştırmacılar purifiye kemik iliği hematopoietik prekürsör hücrelerini (CD133⁺) koroner arter cerrahisi esnasında infarktüs bölgesine enjekte etti (23).

Üçüncü grup ise otolog kemik iliği mononükleer hücrelerin veya dolaşıma mobilize edilen progenitor hücrelerin intrakoroner infüzyonu ile hücreleri verdi (24).

Bu çalışmalarda kemik iliği kaynaklı hücrelerin intra kardiak enjeksiyonunun uygulanabilir ve güvenli bir işlem olduğunu ve ümit veren sonuçlar verdiğini gösterdiler. Ancak, gelecek çalışmalarda çözülmesi gereken birçok sorunlar halen mevcuttur. Henüz yapılan çalışmalardaki hasta sayıları çok azdır. İnjekte edilen hücrelerin yaşam süreleri, engraftman kapasiteleri ve kardiak yada endotelial dizilere farklılaşmaları hakkında bilgiler yetersizdir. İnjekte edilen hücrelerin fenotipleri, hücre tedavisini uygulama zamanı, fonksiyonel etkileri daha ayrıntılı çalışmaları gerektirmektedir.

HKH'in epitelial hücrelere farklılaşması

Kemik iliği kaynaklı hücreler deri, karaciğer, akciğer ve gastrointestinal sistemin epitelinde farklılaşma kapasitesine sahiptir (25,26).

Cinsiyet uyumsuz hayvan transplantasyonlarında Y-kromozomu pozitif ve cytokeratin pozitif donör fare hücrelerinin farklı organ ve dokularda yayıldığı saptandı. Transplante edilen hücreler immünolojik olarak tanımlandı ve bu hücrelerin yamalanma kapasitelerinin organdan organa değiştiği gösterildi. Bu değişikliklerin deney şartlarının farklı olması, rezidüel kök hücre kapasitesinin farklı olması, her bir organda radyasyona bağlı doku hasarı, viral enfeksiyona bağlı doku hasarı veya normal hücre "turnover"ının bulunması ile ilişkili olabileceği ileri sürüldü.

Bu çalışmalarda singeneik erkek fareden alınan HKH ler purifiye edildi ve öldürücü dozda ışınlanmış dişi farelere enjekte edildi. Donör hücreleri ge-

nellikle kemik iliğinde yerleşti. 11 ay sonra buradan alınan hücreler ışınlanmış 30 dişi alıcıya enjekte edildi. Bunların incelenmesi; donör engraftmanın periferik kanda bulunduğu, %20 cytokeratin pozitif donör alveoler tip II pnömositlerin, <%4 donör bronkial epitelial hücrelerin akciğerlerde bulunduğu <%1.8 donör cytokeratin pozitif hücrelerin gastrointestinal sistemde ve %3-4 epidermal hücrelerin deride olduğunu gösterdiler. Donör kaynaklı epitelial hücre böbrekte de bulundu. Gastrointestinal sistemde donör hücrelerinin yamalanması mide, kolon, özofagus ve incebarsağın kolumnar epitelial hücrelerinde gösterildi. Ancak kriptlerin etrafındaki myofibroblast kılıflarında görülmedi.

HKH'lerin hepatositlerin farklılaşması

HKH lerin hepatositlere farklılaşma kapasiteleri hayvan çalışmalarında gösterildi.

Bu şekilde kök hücre plastisitesinin gösterildiği ilk yapılan çalışmalardan birinde öldürücü dozda ışınlanmış dişi sıçanlara singeneik erkek sıçanlardan kemik iliği nakli yapıldı. Erkek donör kemik iliği kaynaklı hücrelerinin dişi farelerin karaciğerinde yamalandığı ve karaciğerin oval hücrelerine, biliyer epitel hücrelere ve hepatositlere farklılaştığı gösterildi (27).

Theise ve ark.ları belirgin karaciğer hasarı olmayan cinsiyet uyumsuz farelerde kemik iliği transplantasyonundan sonra kemik iliği Lin-CD34⁺ hücrelerinin hepatositlerin %1-2 ini oluşturduğunu gösterdiler. Bu matür karaciğer hücrelerinin doğrudan hematopoietik dokulardan oluştuğunu göstermektedir (28,29).

Lagasse ve ark. fumarylacetoacetate hydrolase (FAH) eksikliği gösteren farelerde kök hücre plastisitesini destekleyen çalışmalar yaptılar. FAH eksikliği olan farelerde tip1 tyrosinemiye sebep olan metabolik bir karaciğer hastalığı gelişir. Bu hastalık öldürücü karaciğer yetmezliğine sebep olur. Çalışmada erişkin kemik iliği mononükleer hücreleri intravenöz enjekte edildi. Takiplerde FAH-/- fenotipin ortadan kalktığı ve karaciğer hücre fonksiyonunun iyileştiği gösterildi. Bu araştırmacılar kemik iliğinden oluşan hücrelerin fonksiyonel hepatositlere farklılaştığını bildirdiler (31).

Daha sonraki çalışmalarda kemik iliği kaynaklı hücrelerin FAH-/- farelerin karaciğerinde farklılaşma mekanizmaları araştırıldı. Kök hücre plastisitesinin, transdiferansiyasyon, transdeterminasyon veya dediferansiyasyon ile meydana gelmediğini, ancak donör kan hücreleri ve konağın hepatositleri arasında hücre füzyonunun oluşması ile ortaya

çıktığını ileri sürdüler (31,32).

Wang ve arkadaşlarının yaptıkları yeni bir çalışmada HKH lerin hepatositlere farklılaşması için doku hasarının gerektiği bildirildi (32).

Allison ve ark.ları da hasar görmüş karaciğer dokusunda kemik iliğinden kaynaklanan hücrelerin hepatositlerin rejenerasyonunu sağladığı bildirdiler. Bu çalışmada erkek fare donörlerden kemik iliği transplantasyonu yapılan dişi alıcıların karaciğerinde donör kaynaklı Y-kromozomu pozitif hücreleri gösterildi. Y-kromozomu pozitif hücreler aynı zamanda hepatositlerin oluştuğunu gösteren cytokeratin 8 ekspres ediyordu (33).

Daha sonra yapılan bir çalışmada aynı şekilde yapılan kemik iliği transplantasyonundan sonra alınan karaciğer biyopsi örneklerinin %4-40 nda donör kaynaklı Y-kromozomu pozitif, cytokeratin 8,18 ve 19 pozitif hepatositler gösterildi (28).

KÖK HÜCRE PLASTİSİTESİNİN KLİNİK UYGULAMALARI

Kemik iliği hücrelerinin non-hematopoietik dokuların hücre tiplerine farklılaşması (plastisite) ile ilgili klinik uygulamalar araştırmacıların hayal gücü ve hücrelerin potansiyeli ile sınırlıdır. Pluripotent kemik iliği hücreleri doku hasarı ve/veya non-hematopoietik dokuların çeşitli hastalıklarının tedavisinde başlıca 4 şekilde kullanılabilir: 1) Normal otolog hücrelerin transplantasyonu 2) Kemik iliğinde oluşan hücrelerin mobilizasyonu 3) Genle modifiye edilmiş otolog kemik iliği hücrelerinin transplantasyonu 4) Allogeneik kemik iliği hücrelerinin transplantasyonu.

Bir kısım uygulamalarda kemik iliği hücreleri direkt olarak non-hematopoietik dokulara verilir, bazılarında ise endojen kemik iliğinin replasmanı ile klinik iyileşme sağlanabilir.

Kemik iliği kök hücrelerinin epitelial hücreler olarak yamalanması infarktüs veya bir toksinle meydana gelen akut hasarın onarılmasında fayda sağlar. Hayvan modellerinde kemik iliği kök hücrelerinin verilmesi ile renal iskemi, akut myokard iskemisi ve akut karaciğer hasarında iyileşme sağlandığı gösterilmiştir.

Endojen kemik iliği kök hücrelerinin hafif doku hasarında fayda sağlayabileceği, ağır ve yaygın hasarlarda ise vücudun endojen onarım mekanizmalarının yeterli olmayıp eksojen kemik iliği kök hücreleri ile daha iyi sonuçlar alınabileceği ileri sürülmüştür.

Bu konuda yapılan araştırmalarda kök hücre tipi, verilme şekli, sayısı, verilme zamanı vaka sayıları artırılarak standardize edilmelidir.

Bugüne kadar yapılan kök hücre plastisitesi ile ilgili çalışmalar çoğunlukla hayvan modellerinde uygulanmıştır. Kök hücre tedavisinin her ne kadar güvenli ve yan etkisiz olduğu bildirilse de insan çalışmalarının sayısı henüz yetersizdir.

KAYNAKLAR

1. Watt, S.M.: Stem cell plasticity. British Journal of Haemat. 2003; 122:877-891.
2. Vassilopoulos, G., Wang, P.R., Russell, D.W: Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. Nature. 2003; 422. 901-904.
3. Wang, X., Willenbring, H., Akkari, Y., Torimaru, Y., Foster, M: Cell fusion is the principal source of bone-marrow derived hepatocytes. Nature. 2003; 422:897-901.
4. Janus, A., Holz, G.G., Theise, N.D: In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence cell fusion. Journal of Molecular Medicine 2003; 81,288-296.
5. Masuya, M., Drake, C.J., Fleming, P.A: Hematopoietic origin of glomerular mesangial cells. Blood, 2003; 101, 2215-2218.
6. Eglitis, M.A., Mezey, E.: Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brain of adult mice. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 1997; 94:4080-4085.
7. Kopen, G.C., Prockop, D.J., Phinney, D.G: Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA. 1999; 96:10711-10716.
8. Brazelton, T.R., Rossi, F.M., Keshet, G.I: From bone marrow to brain: Expression of neuronal phenotypes in adult mice. Science 2000; 290: 1775-1776.
9. Mezey, E., Keys, S, Vogelsang, G: Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. Proceedings of the National Academy of Science of the USA, 2003; 100: 1364-1369.
10. Jung, Y., Jahagirdar, B.N., Reinhardt R.I: Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature, 2002; 418:41-49.
11. Jieng, Y., Jahargirdar, B.N., Reinhart, R.I: Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature 2002; 418:41-49.
12. Liectety, K.W., MacKenzie, T.C., Shaoban, A.F : Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in vitro transplantation in sheep. Nature Medicine, 2000; 6:1282-1286.
13. Ferrari, F., Cusella-De Angelis, G., Coletta, M: Muscle regeneration by bone marrow derived myogenic progenitors Science, 1998; 279:1528-1530.
14. Kawado, H, Ogawa, M: Bone marrow origin of hematopoietic progenitors and stem cells in murine muscle. Blood 2001; 98:2008-2013.
15. MC-Kinney-Freeman, S.L., Jackson, K.A, Camargo,

- F.D: Muscle-derived hematopoietic stem cells are hematopoietic in origin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 2002; 99: 1341-1346.
16. Orlic, D., Kajstura, J., Chimenti, S., Bodine, D.M., Leri, A., Anversa, P: Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice. *Annals of the New York Academy of Science* 2001; 938: 221-229.
 17. Jackson, K.A., Majka, S.M., Wang, H: Regeneration of Ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *Journal of Clinical Investigation* 2001; 107:1395-1402.
 18. Wang, J.S., Shum-Tim, D., Chedrawy, E: The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: pathophysiologic and therapeutic implications. *Journal of Thoracic and Cardiovascular surgery*. 2001; 122:699-705.
 19. Toma, C., Pittenger, M.F., Cahill, K.S: Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation*. 2002; 105:93-98.
 20. Kochen, A.A., Schuster, M.D., Szabolcs, M.J. ve ark.: Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow derived angioblast prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nature Medicine*, 2001; 7:430-436.
 21. Orlic, D., Kajstura, J., Chimenti, S: Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA*. 2001; 98:10344-10349.
 22. Tse, H.F., Kwong, Y.L., Chan, J.K: Angiogenesis in ischemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet*: 2003; 361:47-49.
 23. Stamm, C., Westphal, B., Kleine, H.D: Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration *Lancet* 2003; 361:45-46.
 24. Assmus, B., Schachinger, V., Teupe, C: Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI) *Circulation*, 2002; 106:3009-3017.
 25. Krause, D.S., Theise, N.D., Collector, M.F: Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow derived stem cell. *Cell* 2001; 105:369-377.
 26. Korblyng, M., Katz, R.I., Khanna, A: Hepatocytes and epithelial cells of donor origin recipients of peripheral blood stem cells. *New Engl. Journ. Of Med.* 2002; 346:738-740.
 27. Petersan, B.E., Bowen, W.C., Patrene, K.D: Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*. 1999; 283:845-848.
 28. Theise, N.D., Badve, S., Saena, R: Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology* 31:235-240, 2000.
 29. Theise, N.D., Nimmakayali, M., Gardner, R: Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 2000; 32:11-16.
 30. Lagasse, E., Connors, H., Al-Dhalimy, M.: Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nature Medicine*, 2000; 6, 1229-1234.
 31. Vassilopoulos, G., Wang, P.R., Russell, D.W: Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature*, 2003; 422:901-904.
 32. Wang, X, Willenbring, H., Akkan, Y: Cell fusion is the principal source of bone marrow derived hepatocytes. *Nature*, 2003; 422:897-901.
 33. Allison, M.R., Poulosom, R., Jeffery, R: Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature*, 2000; 406:257.