

EMBRİYONEL VE MEZODERMAL KÖK HÜCRELER

Prof. Dr. Ali Uğur URAL
Gülhane Askeri Tıp Akademisi,
Hematoloji Bilim Dalı, Ankara

Kök hücreleri diğer memeli hücreleri ile kıyaslandıklarında onlardan ayıran bazı özellikleri vardır. Bunlardan ilki; uygun sinyallerle karşılaşmadıkları sürece diferansiye olmamış hücrelerdir, spesifik değildirler ve dokuya has özelliklere sahip değildirler. Ayrıca geniş bir kendi kendilerini yenileyebilme kapasiteleri vardır, bu özelliklerini organizmanın yaşamı boyunca sürdürürler. Bu nedenle, *in vitro* koşullarda tedavi amacıyla bol miktarda üretilebilirler. Ayrıca, özel biyolojik sinyallerin etkisiyle fenotipik olarak prekürsöründen farklı özelleşmiş hücreye dönüşebilirler.

Leipzig’de 2001 yılında toplanan “doku kök hücreleri çalışma grubu” kök hücreyi tarif etmiştir. Bu tarife göre, bir dokuya ait kök hücre, fonksiyonel olarak farklılaşmamış ve potansiyel olarak heterojen hücrelerdir. Bu hücreler;

- a. Uygun bir çevreye yerleşme,
- b. Çoğalma,
- c. Çok sayıda farklılaşmış yeni hücreler oluşturma,
- d. Kendini yenileme ve idame ettirme,
- e. Bir hasar oluştuğunda burada yeni bir dokuyu oluşturabilme yeteneğine sahiptir.

Embriyonel Kök Hücreler

Kök hücreler birden fazla hücre tipine farklılaşabilirler. Bunun en iyi örneğini döllenmiş yumurta hücresi ya da zigottan itibaren görebiliyoruz. Vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilecek potansiyele sahip bu ilk embriyonel hücreye “**totipotent**” hücre denmektedir. Bu hücreler sınırsız farklılaşma ve farklı yönlere gidebilme yeteneğine sahip kök hücrelerdir. Erken embriyoner dönemde 4 hücreden 8 hücreye kadar olan tüm blastomerler totipotenttir. Fertilizasyonun yaklaşık 5. gününde bu hücreler “blastokist” denilen içi boşluklu hücre topluluklarına dönüşürler. Blastosistin iç hücre kitlesindeki hücreler (embriyoblastlar), endoderm, ektoderm ve mezodermden köken alan çok farklı hücre çeşidine (yaklaşık 250 çeşit) farklılaşabilirler. Bu özelliğe sahip hücrelere “**pluripotent**” hücreler denir. İnsan embriyonel kök hücreleri blastokistin iç hücre kitlesinden elde edilirler ve pluripotenttirler. Embriyonel kök hücreler yüksek seviyede telomeraz aktivitesi içerirler, hücre replikasyonu ile aktivasyonda azalma gözlenmez, bu nedenle sınırsız proliferasyon kapasitesine sahiptirler. Gelişimin ilerleyen dönemlerinde (fetal hayat), hücreler biraz daha özel görevlere sahip olup ve erişkin tip kök hücrelere dönüşürler. Bu erişkin kök hücreleri tipik olarak yer aldıkları dokunun hücre tiplerini üretirler. Kemik iliği (KI) kök hücreleri en iyi örnektir. Biraz daha özelleşmiş bu hücrelere “**multipotent**” hücreler denir.

Embriyonel kök hücreler sadece tıp doktorlarının değil aynı zamanda biyologlar, media, etik, din, hükümetler ve politikacıların da ilgi alanıdır ve aynı zamanda implantasyondan hemen önceki insan embriyolarından elde edildiği için tartışma konusudur. Bu “süper hücrelerin” doku tamiri, çoğu sakatlık durumunun giderilmesinde, organ fonksiyonlarının yerine konmasında yeri olduğu gözükmektedir. Diabetes mellitus, Parkinson hastalığı, inme, artrit, multiple skleroz, kalp yetmezliği, spinal kord lezyonları, kemik yenilenmesi hedef hastalıkları oluşturmaktadır.

Embriyonel kök hücreler tüm somatik dokuları oluşturabildiği halde, plasenta ve membranları gibi gelişim için gerekli olan diğer tüm ekstraembriyonik dokuları oluşturamaz, böylece tam yeni kişiyi oluşturması

mümkün değildir. Embriyonel kök hücreler implantasyon öncesi blastokistin iç hücre kitlesinden immunocerrahi (20 dk. anti-insan serum antikoruna ile sonra 30 dk. kobay komplemanı ile muamele) ile alınır. Trofoblast hücrelerinin dış tabakası plasentayı oluştururken, iç hücre kitlesi erişkindeki tüm hücreleri içerir. İzole edilen bu iç hücre kitlesi, mitotik olarak inaktive edilmiş ve “feeder” tabaka olarak kullanılan fare embriyonik fibroblastları üzerinde kültüre edilirler. Bu tabaka, embriyonel kök hücreler için gerekli besin ve büyüme faktörlerini sağlarken, medianın kötü etkilerini ortadan kaldırır ve en önemlisi de hücrelerin diferansiyasyonunu engeller. Ortamda Dulbecco’s modified eagle medium, %20 fetal sığır serumu, L-glutamin, β-merkaptotanol ve esansiyel olmayan aminoasitleri de vardır. Şimdilerde feeder tabaka yerine diferansiyasyonu engellemek üzere lösemi inhibitör faktör (LIF) kullanılmaktadır. Fare embriyonel kök hücrelerinin aksine, insan LIF’ü insan embriyonel kök hücrelerinin diferansiyasyonunu engellemez. Kültür ortamından LIF veya feeder tabaka uzaklaştırıldığı zaman, embriyonel kök hücreler sıvı kültürlerde spontan olarak diferansiye olur ve “embryoid body”leri (EB) oluşturur. Bu küre şeklindeki yapılar, üç germ tabakasının hepsini içerir. Mezodermal ve ektodermal prokürsörler birkaç gün içerisinde oluşurken, endodermal hücre tipleri EB’lerin kaviteye uğradığı, kistik görünüm aldığı 10 günlük sürede oluşurlar. Embriyonel kök hücrelerin pluripotent olduğunu göstermenin en iyi yolu, hücrelerin immün yetersiz bir fareye implante edildiğinde her üç germ tabakasını da oluşturduğunu gösteren teratom oluşmasıdır. Embriyonel kök hücreler, erken gebelik sonlanmasının sebebinin öğrenilmesi, embriyonik yaşlanmanın özellikleri, yeni ilaçların erken embriyonik hücreler üzerine etkilerinin belirlenmesi ve en önemlisi de hücre replasman tedavisinde kullanılabilir. Bu amaçla fare embriyonel kök hücrelerden sıvı kültürde dokuya has markerları ve yapısal proteinleri taşıyan kardiyomyosit, kondrosit, adipozit, endotel hücreleri, nöronal progenitor hücreler ve olgun nöron, astrosit, oligodendrosit, alveolar epitel, hepatosit, pankreatik adacık hücreleri, iskelet kası, osteoblast, hematopoetik-koloni oluşturan hücrelere diferansiyasyonu gösterilmiştir.

Embriyonel kök hücreler, tüm transplantlarda olduğu gibi allojeneik temelde aktarıldığında rejeksiyona uğrarlar. Diferansiye olmamış embriyonel kök hücreler, düşük seviyede MHC-I ekspresyon ederler, spontan diferansiyasyonla 2-3 kat, teratoma diferansiye olduklarında 8-10 kat ekspresyon artar. MHC-I’in aksine, interferon varlığında MHC-II molekülleri diferansiye olmamış ve olmuş embriyonel kök hücrelerde gözlenmez. Ancak, embriyonel kök hücreler hematopoetik diziyeye diferansiye olduklarında kaçınılmaz olarak primer olarak lenfoid hücreler nedeniyle MHC-II ekspresyon ederler. Embriyonel kök hücrelerin immünojenitesini azaltmak amacıyla, Fas ligand gibi immünosuppressif bir molekülün sokulması, B7 antijeni gibi immünaktif proteinlerin uzaklaştırılması, yabancı MHC’lerin delesyonu, alıcı MHC’i kodlayan genlerin aktarılması, MHC-I sunulması için gerekli olan β2-mikroglobulinin uzaklaştırılması, immün özelliği olan yörelere hücre aktarımının yapılması, izogenik embriyonel kök hücre dizilerinin oluşturulması uygulanabilir.

Mezodermal Kök Hücreler

Multipotent erişkin progenitor hücreler (MAPC): MAPC’ler, MKH’lerden farklı olarak besin desteği-fakir kültür ortamında ve çok daha yavaş olarak büyürler (izolasyondan 100 gün sonra). KI yanında fare beyin ve kasından da izole edilmişlerdir. Mezankimal kök hücreden farklı olarak MHC-I antijenlerini içermezler. Hematopoetik kök hücreden (HSC) farklı olarak CD45, CD34 ve cKit antijenlerini içermezler, ancak onlar gibi Thy1, AC133 (insan MAPC) ve Sca1 (fare MAPC) içerirler.

Çoğu erişkin kök hücreden farklı olarak yaşlılık işaretleri olmadan proliferasyon olurlar, aktif telomerazlarını korurlar, telomer uzunluğu birçok bölünmeden sonra bile korunur. İnsan, fare ve rat MAPC’ler

osteoblast, kondroblast, adipozit ve iskelet myoblastı gibi mezankimal seriye ve fonksiyonel, morfolojik ve fenotipik olarak endotel hücrelerine ve hepatosite diferansiye olurlar. bFGF varlığında nöroektodermal özellikleri gösteren hücrelere diferansiye olurlar. Diferansiye olmamış fare MAPC'ler, IV olarak NOD-SCID farelere verildiğinde kemik iliği, kan ve dalaktaki hematopoetik hücrelere ve karaciğer, akciğer ve mide epiteline diferansiye olabilirler. ROSA-26 fareden alınan MAPC'ler fare blastosisti içine enjekte edildiklerinde oluşan şimerik farenin beyin, akciğer, myokard, karaciğer, barsak ve böbrek gibi çoğu somatik dokularını oluşturabilirler.

Mezankimal kök hücreler (MSC): KI kökenli mezankimal hücrelerini kemik iliği aspirasyonu ile elde etmek mümkündür ve kemik iliğindeki toplam çekirdekli hücre sayısının küçük bir kısmını oluştururlar (%0,0001). KI haricinde bu hücreler kas, fetal KI, karaciğer, kan ve kordon kanında da bulunurlar. Standart kültür teknikleri ile *in vitro* koşullarda çoğaltılabilirler, morfolojik olarak fibroblastları andırırlar. Kemik iliğindeki bu hücre popülasyonunu gösterebilmek için birçok monoklonal antikor oluşturulmuştur. Stro-1, nonhematopoetik progenitor kemik iliği stroma hücrelerini tanımlamakta kullanılır. SB-10, diferansiye olmamış mezankimal hücrelerde bulunan bir antijenle reaksiyona giren antikordur. Hücre osteojenik hücreye diferansiye oldukça kaybolur ve hücre yüzey alkalin fosfatı ekspresyona başlar. Spesifik SB-10 antijeni CD166 (aktif lökosit adezyon molekülü, ALCAM) olarak tanımlanmıştır ve hücrenin osteojenik diferansiyasyonunda sorumlu olabilir. SH-2 antikoruna da insan mezankimal hücrelerini tanımlamakta kullanılır, TGF- β üzerindeki epitopla (CD105) reaksiyona girer. Bu antikor insan mezankimal hücrelerinin immünomagnetik seleksiyonunda da kullanılmıştır. Ancak, CD105 sıklıkla endotel hücreleri ile birlikte bulunur. SH-3 ve SH-4 antikorları da membrana bağlı ekto-5'-nükleotidazlarındaki (CD73) farklı epitopları tanımlar. SH-2 gibi bunlar da osteosit veya hematopoetik hücrelerle reaksiyona girmezler. Ancak bu belirteçlerin hiçbirisi mezankimal hücreler için spesifik değildir.

MSC'ler özellikle hücre bağlanması ve homing özelliklerinden sorumlu olmak üzere integrinlerden yüksek oranda $\alpha 1$, $\alpha 5$, $\beta 1$ ve düşük oranda $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 6$, αV , $\beta 2$ ve $\beta 4$ ekspresyona ederken, $\alpha 4$, αL , $\beta 2$ ekspresyonu yoktur. İnsan mezankimal hücreleri HLA-ABC ekspresyonu gösterirken, HLA-DR ekspresyonu yoktur, HLA-DR ancak γ -interferon tedavisini takiben upregüle olur.

T lenfositlerin allojenik periferik lenfositler, dentritik hücreler ve fithemaglutinin tarafından proliferasyonu mezankimal hücrelerince baskılanır. Bu etki, TGF- $\beta 1$ ve hepatosit büyüme faktörüne karşı antikorlarca tersine çevrilir. İnsan mezankimal hücreleri farklı immünofenotipik özelliklerine bakılmaksızın, HLA-II ekspresyonunun olmaması ve düşük oranda kostimulatuvar moleküllerin olması nedeniyle nonimmünojenik veya hipolimmojeniktir.

MSC'lerin IV infüzyonunu takiben, kemik kırığı, miyokard enfarktüsü ve iskemik serebral hasarlı yörelere özel migrasyon kapasiteleri vardır. Serebral iskemik dokudaki kemokin monosit kemoatraktan protein (MCP-1) verilen mezankimal hücrelerin hasar yöresine migrasyonuna sağlar. Normal beyinde bulunmayan MCP-1, ratlarda orta serebral arter oklüzyonunu takiben süratle upregüle olur ve mezankimal hücreler için kemotaktiktir. Hücrelerin homing özellikleri uzun süreli kültürü takiben azalır, bu nedenle tedavi amacıyla bu hücrelerin hazırlanışı esnasında dikkat edilmesi gerekli bir konudur. MSC'ler doku mühendisliği açısından kemik, kıkırdak, KI stroması, kas, yağ, tendon rejenerasyonunda ve gen tedavisi, vasküler destek, nöronal çevre temininde önemlidir.

İskelet kası kök hücreleri (MuSC): Kök hücrelerin en önemli özellikleri kendi kendilerini yenileyebilmeleri, yüksek derecede proliferasyon kabiliyetleri ve en azından bir tane farklı bir hücre tipine diferansiye olabilmelerindedir. Kan, deri ve SSS dokularından farklı olarak, iskelet kas fiberlerinin ve kas dokusunun belirgin bir hızlı turnover'ı yoktur. Kas dokusu çok özel hücresel bir yapılanmaya sahip olduğundan ve tüm hayat boyunca fizyolojik kullanımla hasara uğrama eğilimi olduğundan, devamı ve fonksiyon görmesi için rejenere olması gerekir. Kas dokusu içerisinde bulunan satellit hücreler MuSC'lerdir, bu hücreler tıpkı HSC'ler gibi izolasyonu takiben kültürde veya fareye seri transfer ile kendi-kendilerini yenileyebilirler, *in vitro* ve *in vivo* myoblast olarak proliferere olabilirler, *in vivo* myofiberlerle füzyona uğrama ve doku kültüründe postmitotik myotüplere diferansiye olabilme kapasitesindedirler. MuSC'ler ayrıca timus, dermis, damar, sinovial membran ve KI'den de izole edilmiştir. Kemik iliği naklini takiben KI hücrelerine kalp, epitel, karaciğer, iskelet kası ve beyinde de rastlanılır. Buna göre ihtimaller;

- a. KI içinde MuSC bulunabilir.
- b. HSC'ler kan'ı ve kas gibi diğer mezankimal hücre tipini oluşturabilir.
- c. Bir prekürsör HSC, MuSC ve diğer mezankimal kök hücreleri oluşturur.

Satellit hücreler, kas hasarına cevaben aktive olurlar ve rejenere olan kas içinde yeni myofiberlerin oluşmasından sorumludurlar. Çoğu muskuler distrofilere takiben erken dönemde satellit hücreler, kası rejenere etme kapasitesindedirler, fakat hastalık ilerledikçe satellit hücreler yaşlanırlar ve rejenerasyonda yer almazlar. IGF-1 ve -2 kas hipertrofisine yardımcı olurlar, her iki sitokin de satellit hücrelerin proliferasyon ve diferansiyasyonunu sağlar. TGF- β ise satellit hücrelerin proliferasyonunu inhibe eder.

Tüm sessiz satellit hücreler tirozin kinaz reseptörü cMet ve CD34 ekspres ederler. Aktive satellit hücreler ise dört kas regülatuar faktörü (MRF) (Myf-5, MyoD, myogenin, MRF4), cMet ve cathedrin'i ekspres ederler.

İskelet kök hücresi: İskelet büyümesinin sonunda postnatal KI'de kalan tek bir hücre, iskelette bulunan diferansiye olmuş dört farklı hücre/doku tipini (kıkırdak, kemik, hematopoezi destekleyen retiküler stromal hücreler ve KI adipozitleri) oluşturabilir. Bu nedenle KI'nin belirgin derecede osteojenik kapasitesinin olduğu bilinir. KI stromasının ektopik olarak transplantasyonu tam olarak bir kemiğin oluşmasını sağlar. KI'nin bu farklı osteojenik potansiyelinin olduğu yöre nonhematopoetik, stromal komponent olarak bilinir, *in vivo* hematopoetik mikroçevreyi oluşturur. Bu klonojenik hücreler HOP-26/CD63, CD166 (ALCAM), CD94a, değişik düzeylerde alkalen fosfataz, ekstrasellüler matriks proteinlerinden osteonektin, osteopontin ve tip I kollajeni taşırlar.

Kemik iki farklı işlem neticesinde oluşur. İskelet kemiklerinin çoğu kıkırdak oluşumunun da aracılık ettiği endokondral ossifikasyonla oluşur. Kırık kemiğin iyileşmesi de endokondral ossifikasyonla oluşur. Kraniofasial kemikler gibi az bir grup kemik ise intramembranöz ossifikasyon denilen işlem ile oluşur, bu işlemde kemikler, kıkırdak aracılığı olmaksızın mezankimal hücrelerin direkt olarak kondensasyonu neticesinde oluşur. Örneğin vertebra iskeletinin ilk gelişimi esnasında mezankim hücreleri, mezankimin şekil, boyut ve sayısını belirleyecek sinyaller alır. Bu şekilde bilgileri sağlayan proteinler FGF ve TGF- β ailesinden polipeptidlerdir. İnamembranöz iskelet elemanlarında, mezankimal kondensasyondaki hücreler osteoblastlara diferansiye olurken, endokondral iskelet elemanlarında kondensasyondaki hücreler kıkırdak hücrelerine diferansiye olur. IL-1-beta mRNA'sı intramembranöz ossifikasyonun farklı yörelerinde aktif osteoblastlarda tespit edilmiştir. Ancak bu ekspresyon sporadiktir ve osteoblast hayat siklusunun özel bir bölümünde ortaya

çıkar. Endokondral ossifikasyonun herhangi bir aşamasında ise IL1-beta mRNA ekspresyonu gösterilememiştir. Böylece gerek endokondral ve gerekse intramembranöz ossifikasyonda kemik oluşumu osteoblast diferansiyasyonuna ve mezankimal hücelere bağlıdır.

İn vitro koşullarda mezankimal hücelerin osteojenik media ile inkübasyonu sonucu, osteoblastlar küboidal morfolojide olup, geçici alkalen fosfataz aktivitesi, kemik matriks mRNA proteini ekspresyonu ve hidroksiapatit mineralize ektramatriks birikimi gösterirler. Bunun yanında osteogenezisin geç safhalarında Tip I kollajen downregüle olur, osteopontin ve kemik sialoprotein geç safhada upregüle olur. Osteonektin tüm safhalarda eksprese olmaktadır.

İnsanlardan alınan mezankimal hücelerin *in vitro* koşullarda ekspansiyon edilmesinden ve HA/TCP (hidroksiapatit/trikalsiyum fosfat) yüklenmesinden sonra NOD/SCID farelere SC olarak verilmesiyle, insan osteonektin'inin pozitif olduğu yeni kemik oluşumu gözlenmiştir. Benzer şekilde HA/TCP yüklü mezankimal hücelerin köpeklerde de femoral defektleri düzelttiği gösterilmiştir. Son çalışmada verilen hücelere karşı bir antikor oluşumunun gözlenmemesi, bir immün rejeksiyon olayının olmadığını ve otologun haricinde allojenik mezankimal hücelerin de bu amaçla kullanılabilirliğini göstermektedir. Normal farelerden alınan kemik iliğinden oluşturulmuş mezankimal hücelerin, sublethal dozda radyasyon uygulanmış osteogenesis imperfecta'lı transjenik farelere verilmesiyle, infüzyondan 1-2,5 ay sonra hayvanların kemik iliği, kemik, kırık, akciğer ve daha az oranda da dalak, beyin ve deride donör mezankimal hücelere ait DNA tespit edilmiştir. Bu da KI stroma hücelerin, nonhematopoetik dokulardaki hücelerin çoğunun yenilenmesinde bir kaynak olarak kullanılabilirliğini göstermektedir. hBMP-2 içeren mezankimal hücre klonunun BALB/c farelere intraartiküler veya IM olarak verilmesiyle her iki yörede de yeni kemik oluşumu radyolojik olarak gösterilmiştir. Bu çalışmada immün rejeksiyon olmadığı gibi yeni kemik oluşumu da gözlenmektedir. Bunun yanına Tsuchida H ve ark.nın yaptığı bir çalışmada ise, BMP-2 yüklü mezankimal hücelerin otolog verilmesiyle kemik defekti kaybolmuştur. Yine aynı grup, BMP-2 yüklü mezankimal hüceleri kısa süreli FK-506 uygulanmış ratlara vererek benzer şekilde femoral segmental defektin kaybolduğunu göstermişlerdir. FK-506'nın uygulanmadığı allojenik grupta ise 8 hafta içerisinde yeni kemik oluşumu veya tamiri gözlenmemiştir.

Yağ kök hücresi: Yağ dokusu da KI gibi embriyonik mezodermden oluşur ve bir stroma içerir. Lipoaspirattan kısa süreli kollajenaz muamelesi ve santrifüj ile kolay elde edilmesi nedeniyle ilgi çekmektedir, elde edilen ürüne processed lipoaspirate (PLA) denilir. PLA'lar uygun stimuluslarla osteojenik, adipojenik, myojenik ve kondrojenik hücelere diferansiyasyon olur ve o diziye özel gen ve proteinleri içerir, bu da kök hücre fenotipini teyit eder. Bu nedenle bu doku mezodermal doku tamirinde kullanılabilir. Aspiratla elde edilen LPA fraksiyonu fibroblastik, endotelial hücelere, makrofaj ve düz kas hüceleri gibi heterojen bir gruba içerir, seri pasajlarla MSC'lere benzeyen homojen fibroblastik bir popülasyon kalır. Bu geri kalan grubun % 80'inin vimentin ve fibroblastik marker AS02 ekspresyonu göstermesi ile bu grubun MSC olduğu anlaşılır.

Uzun süreli kültürlerle PLA'ların büyüme kinetikleri ve diferansiyasyon kapasiteleri değişmez. Hücre yüzey markerları KI MSC'lara benzer. Her ikisi de Stro-1, SH-3 içerirler, her ikisi de hematopoetik marker olan CD31 ve CD45 içermez. *In vitro* kültürle CD34 gittikçe azalır. CD105/endoglin -TGF- β reseptör tip III- MSC'ların TGF- β bağımlı kondrojenik diferansiyasyonunu gösterir. Böylece PLA ve MSC aynı hücre tipinin varyantları olarak bilinir.

Böbrek: KI kök hücelerin böbrek hücelere transdiferansiyasyon kapasitesi vardır. Bunun yanında, erişkin böbreğinde hücre bölünmesi nadirdir, ancak hasardan sonra böbreğin rejenerasyon kapasitesi vardır ve

hastalıktan iyileşme döneminde hücre proliferasyonu belirgindir. Bu da, çoğu organ gibi böbrekte de multipotent kök hücre varlığını düşündürür. İskemik veya toksik hasar sonrasında, renal tübül hücreleri rejeneratif ve morfojenik tamire gider. Erişkin böbreğinden kök hücreler henüz izole edilememiş olsa da, in vitro koşullarda kök hücre özelliği gösteren hücreler kortikal yöreden izole edilmişlerdir. Bu renal progenitorlar, sıvı reabsorpsiyonu; bikarbonat, sıvı ve glutathion transportu; vitamin D aktivasyonu gibi fizyolojik fonksiyonları da gösterir. 13 günlük rattan izole edilen metanefrik mezanşim hücre dizisi böbrekte kök hücre varlığını destekler. Çünkü bu hücre dizisi in vitro koşullarda epitele, miyofibroblasta, düz kas hücresine ve endotel hücrelerine diferansiye olabilir.

Kaynaklar:

1. Rippon HJ, Bishop AE. Embryonic stem cells. *Cell Prolif.* 2004, 37(1):23-34.
2. Bishop AE, Buttery LD, Polak JM. Embryonic stem cells. *J Pathol.* 2002, 197(4):424-9.
3. de Wert G, Mummery C. Human embryonic stem cells: research, ethics and policy. *Hum Reprod.* 2003, 18(4):672-82
4. Drukker M, Benvenisty N The immunogenicity of human embryonic stem-derived cells. *Trends Biotechnol.* 2004, 22(3):136-41.
5. Laslett AL, Filipczyk AA, Pera MF. Characterization and culture of human embryonic stem cells. *Trends Cardiovasc Med.* 2003, 13(7):295-301.
6. Keller G. Embryonic stem cell differentiation: emergence of a new era in biology and medicine. *Genes Dev.* 2005, 19(10):1129-55.
7. de Kok IJ, Peter SJ, Archambault M, van den Bos C, Kadiyala S, Aukhil I, Cooper LF. Investigation of allogeneic mesenchymal stem cell-based alveolar bone formation: preliminary findings. *Clin Oral Implants Res.* 2003, 14(4):481-9.
8. Bianchi G, Muraglia A, Daga A, Corte G, Cancedda R, Quarto R. Microenvironment and stem properties of bone marrow-derived mesenchymal cells. *Wound Repair Regen.* 2001, 9(6):460-6.
9. Herzog EL, Chai L, Krause DS. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood.* 2003, 102(10):3483-93
10. Meirelles Lda S, Nardi NB. Murine marrow-derived mesenchymal stem cell: isolation, in vitro expansion, and characterization. *Br J Haematol.* 2003, 123(4):702-11.
11. Tsuchida H, Hashimoto J, Crawford E, Manske P, Lou J. Engineered allogeneic mesenchymal stem cells repair femoral segmental defect in rats. *J Orthop Res.* 2003, 21(1):44-53.
12. Nakase T, Takaoka K, Masuhara K, Shimizu K, Yoshikawa H, Ochi T. Interleukin-1 beta enhances and tumor necrosis factor-alpha inhibits bone morphogenetic protein-2-induced alkaline phosphatase activity in MC3T3-E1 osteoblastic cells. *Bone.* 1997, 21(1):17-21.
13. Lanza R, Gearhart J, Hogan B, Melton D, Pedersen R, Thomson J, West M. *Handbook of Stem Cells. Volume 1, Embryonic Stem cells*, 2004, Elsevier Academic Press
14. Lanza R, Blau H, Melton D, Moore M, Thomas ED, Verfaillie C, Weissman ı, West M. *Handbook of Stem Cells. Volume 2, Adult and Fetal Stem cells*, 2004, Elsevier Academic Press