

KÖK HÜCRE VE KORDON KANI

Doç Dr. Mehmet Ertem

Yakın zamana kadar doğumdan sonra kullanılmayıp atılan kordon kanını son zamanlarda ilgi çekici kılan temel faktör hematopoetik kök hücre kaynağı olarak transplantasyon amaçlı kullanılabilmesi ve ayrıca içerdiği diğer kök hücreler ile potansiyel olarak değişik amaçlı olarak tedavilerde kullanım olasılığının bulunmasıdır.

Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu (HKHT) günümüzde özellikle lösemi ve lenfoma gibi maliyn hastalıklar ile immün yetmezlikler ve talasemi gibi maliyn olmayan çeşitli hastalıkların tedavisinde sıklıkla ve başarı ile uygulanan bir tedavi yöntemidir (1,2). Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu için hematopoietik kök hücreler sıklıkla “Kemik İliği” veya “Periferik Kan”dan elde edilirken “Kordon Kanı” üçüncü bir kök hücre kaynağını oluşturmaktadır. Allojenik transplantasyonlar için en uygun donör, doku tipi tam uygun olan kardeş veya aile içi birey olmasına karşın tam uygun bir aile içi (related) donör bulunma olasılığı sadece % 25-30’dur. Bu nedenle allojenik HKHT gereken durumların çoğunda aile dışı gönüllü donör adaylarının arasından doku tipi uygun olan bir vericinin bulunması gerekmektedir. Bu amaçla “kemik iliği donör kayıt sistemi” geliştirilmiş ve 28 Mart 2006 verilerine göre bu sisteme dahil olmuş gönüllü sayısı 10 milyonu aşmıştır. Ancak her geçen gün artan bu gönüllü kemik iliği donör sayısına karşın her zaman uygun donör bulma olanağı olmamakta ve ayrıca kayıt sisteminden uygun donör bulunsa bile bu kişinin son yaşadığı yerin bulunması, halen gönüllü olup olmadığının veya sağlık durumunun buna uygun olduğunun teyit edilmesi, uygunsa transplant öncesi gerekli olan incelemelerin tamamlanması ve tüm bunlar sonunda halen uygun bir donör olduğu kabul edilirse donöre uygun olan bir zamanda kemik iliğinin toplanıp hastaya ulaştırılması gerekmektedir. Tüm bu işlemler zaman alıcı, masraflı ve kök hücre toplanması da donör için ağır verici olabilmektedir. Bu nedenlerle allojenik transplantasyonlarda kök hücre kaynağı olarak kemik iliği veya periferik kanın kullanılmasına alternatif olarak kordon kanının kullanılması gündeme gelmiştir. Kordon kanının doğumdan sonra kullanılmayıp atılması yerine hematopoietik kök hücre transplantasyonu amacı ile kullanılabilir olması çok heyecan verici bir kavramdır.

TARİHÇE

Kordon kanının hematopoietik kök hücre açısından zengin olduğu ilk olarak 1970’li yılların başında yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (3,4). Kordon kanının kök hücre transplantasyonu için bir kaynak olarak kullanılabileceği ise ilk olarak 1982 yılında Edward A. Boyse tarafından öne sürülmüştür (5). Aynı araştırmacının bu hipotezi kanıtlayabilmek için 1984-85 yıllarında hayvanlarda yürüttüğü çalışmalar sonucunda ablasyona uğratılmış farelere embriyo kanı verilerek hematopoietik hücrelerin yeniden yapılandırılabilceği gösterilmiştir (5). Yapılan hayvan çalışmalarının sonucunda bu yaklaşımın insanlarda da uygulanıp uygulanamayacağı gündeme gelmiştir. Bu amaçla Broxmeyer ve arkadaşları insan kordon kanının en efektif toplama ve saklama yöntemlerini araştırmaya başlamışlardır. Bu yürütülen araştırmalarda 100’den fazla kordon kanının dondurma işlemi öncesi ve sonrasındaki kök hücre sayıları, bu hücrelerin viabilitesi ve ürünün sterilitesi incelenmiştir (6). Kordon kanının en uygun toplama ve saklama yöntemleri bu araştırmalar sonucunda belirlenmesi ile resmi olmayan ilk kordon kanı bankası da bu laboratuvarın içerisinde kurulmuştur (7). Yine bu laboratuvarında Fanconi aplastik anemili bir çocuğun sağlıklı ve doku tipi uygun olduğu gösterilmiş kardeşinin kordon kanı toplanarak saklanmıştır. Bu saklanan kordon kanı ile ilk transplantasyon Paris’te 6 Ekim 1988’de Gluckman ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (8). İlk olarak uygulanan bu kordon kanı transplantasyonundan (KKT) 12 yıl sonra hastanın tamamen normal hematolojik değerlerle birlikte sağlıklı olduğu belirtilmektedir (9). Daha sonra 1991 yılında, lösemi tanısı ile iki çocuğa daha

kardeşlerinin kordon kanı verilerek HKHT uygulanmıştır (10,11). Bu ilk başarılı klinik deneyimlerin sonucunda kordon kanının daha yaygın olarak aile dışı hastalar için de kullanımı gündeme gelmiştir. Bu amaç doğrultusunda doğum sonrası genellikle kullanılmayıp atılan kordon kanlarının toplanıp, dondurularak saklanması ile ilk “kordon kanı bankacılığı” New York Kan Merkezi bünyesinde resmi olarak 1992 yılında başlatılmıştır. Yine aynı yıl içerisinde kordonkanı transplantasyonunun gerçek fayda ve risklerini en kısa zamanda en doğru olarak saptayabilmek için Uluslararası Kordon Kanı Transplantasyon Kayıt Sistemi oluşturulmuştur (5). Allojenik kordon kanı bankacılığının başlatılması sonucu Kurtzberg ve arkadaşları ilk olarak aile dışı bir bireyin kordon kanını kullanarak, 1993 yılında başarılı bir HKHT gerçekleştirmişlerdir. Bunların sonucunda giderek artan sayıda KKT uygulanmış ve aile içi (related) veya aile dışı (unrelated) bireylerin kordon kanını kullanılarak yapılan ilk allojenik kordon kanı transplantasyonu (KKT) hasta serileri sırasıyla 1995 ve 1996 yıllarında yayınlanmıştır (12,13). İlk deneyimlerden günümüze gelindiğinde, çoğunluğu çocuk ve aile dışından hastalar olmak üzere toplam 5000’den fazla kordon kanı transplantasyonu uygulandığı tahmin edilmektedir ve bunlardan elde edilen klinik deneyimler sonucunda kök hücre kaynağı olarak kemik iliğine alternatif olduğu kanıtlanmıştır (14). Bu süreç içinde, allojenik transplantasyon amacı ile dünyadaki tüm allojenik kordon kanı bankalarında kullanılmaya hazır olarak bekleyen kordon kanı miktarı 28 Mart 2006 itibariyle 178 316 üniteye (www.BMDW.org) ulaşmıştır. “Uluslararası Kemik İliği Transplantasyon Kayıt (IBMTR)” kuruluşunun verilerine göre de 1998 yılından sonra genç hastalarda (20 yaşın altında) yapılan allojenik transplantasyonların yaklaşık %20’sinde kök hücre kaynağı olarak kordon kanı kullanılmıştır (14).

KORDON KANI HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRELERİNİN FARKLILIKLARI

Kordon kanı hücrelerinin erişkin kemik iliği hücrelerine göre daha immatür olmasının hematopoietik kök hücre transplantasyonu açısından bazı teorik avantajları vardır. Bu farklı özelliklerin en önemlisi kordon kanındaki hematopoietik kök hücrelerin erişkin kemik iliğindeki kök hücrelerden kalitatif olarak bazı farklılıklar göstermesidir; kordon kanı, kök hücrelerin daha immatür olan alt grubu (in vivo long-term repopulating stem cells) açısından erişkin kemik iliğine göre daha zengindir. Bu özellikteki kordon kanı kök hücreleri in vitro olarak daha büyük hematopoietik koloniler oluştururlar, büyüme faktörü gereksinimleri daha farklıdır, in vitro kültürlerde daha fazla ekspanse olabilirler ve daha uzun telomeraza sahiptirler (15). Kordon kanı kök hücrelerinin in vitro olarak bu özelliklere sahip olması teorik olarak kemik iliğine göre daha az sayıdaki kök hücre miktarı ile hematopoietik engraftmanın gerçekleştirilmesini desteklemektedir.

KORDON KANININ İMMÜNİTESİ

Yeni doğan bebeklerin immün sistemi erişkinler ile karşılaştırıldığında fonksiyonel olarak daha immatürdür ve bunun nedeni ile de yeni doğan döneminde enfeksiyon riski daha fazladır (17). Kordon kanı lenfositleri naif ve immatürdür; çifte (double)-negatif CD3+ hücreler açısından daha zengindirler ve daha az sitokin üretirler. Kordon kanı lenfositleri interferon- γ , interlekin-4 (IL-4), ve IL-10 için yeterli fakat IL-2 için çok az mRNA transkriptleri ekspres ederler. Ancak poliklonal T-hücre repertuarı tam olarak gelişmiştir ve düşük seviyede CD95 nedeniyle de apoptozisten korunabilirler (17). Sonuç olarak, erken NK ve T-hücre sitotoksitesi yetersizdir fakat sekonder aktivasyon olabilir. Bu prelinik çalışmalar sonucu, teorik olarak kordon kanı transplantasyonu sonrası daha fazla aktive T-lenfosit içeren kemik iliği transplantasyonuna oranla daha az akut ve kronik GVHH gelişmesi fakat GVL etkisinin de korunması beklenebilir (18). Bu teorik avantaj, tam uygun olmayan bireylerin kordon kanının kemik iliğine göre daha az komplikasyonla kullanılabilirliğini düşündürmektedir.

KORDON KANI TRANSPLANTASYONUNDA KLİNİK DENEYİMLER

A. Çocuklarda aile içi bireylerden kordon kanı HKHT deneyimleri

“Avrupa Kordon Kanı Transplantasyon Kayıt Sistemi (Eurocord)” kayıtlarına göre 2000 yılı itibariyle aile içi bireylerden kordon kanı kullanılarak toplam 138 çocuğa KKT uygulanmıştır

(9). Bunların 114'ü doku tipi tam uygun olup 24'ünde 1-3 antijen uygunsuzluğu vardır. Bu hastalarda kullanılan hazırlama rejimleri yaşa ve primer hastalığa bağlı olarak değişim göstermekle birlikte GVHH profilaksisi olarak genellikle sadece siklosporin (CsA) kullanılmıştır. Median yaşı 5 yıl (0-14 yaş aralığı) olan bu hasta grubunun median izlem süresi 41 aydır. İki yıllık yaşam şansı malinitelerde %46, aplastik anemilerde %76, hemoglobinopatilerde %100 (%35'inde talasemik geri dönüş), ve metabolik hastalıklarda %79 olarak bulunmuştur. Transplantasyon sonrası nötrofil engraftmanı %83± 4 olguda median 26 günde (8-60 gün) gelişmiştir. Akut GVHH (≥ grade II) %20 ve kronik GVHH %6 hastada gelişmiştir. Bu hasta grubu içindeki ileri evre lösemi hastalardaki en önemli mortalite nedenini relaps oluşturmaktadır (19,20).

Çocuk hastalara doku tipi tam uygun kardeşlerden uygulanan kordon kanı transplantasyonu (KKT) ile kemik iliği transplantasyonu (KİT) sonuçları GVHH riski, hematopoitik engraftman zamanı ve yaşam şansları açısından karşılaştırmak için "Eurocord kordon kanı transplantasyon kayıt sistemi" ile "uluslararası kemik iliği transplantasyon kayıt sistemi"nin verileri kullanılarak karşılaştırmalı bir çalışma yapılmıştır (19). Bu çalışmada 1990-1997 yılları arasında çocuk hastalara tam uygun kardeşlerden yapılan 113 KKT ile 2052 KİT sonuçları karşılaştırılmıştır. Bu çalışmadaki KKT uygulanan hastaların KİT uygulanan hastalara göre daha küçük yaşta (median 5 ve 8 yıl, p<0.001), daha düşük ağırlıkta (median 17 ve 26 kg, p<0.001), daha yüksek oranda donör ile ABO kan grubu uygunsuzluğu olduğu (%25 ve %15, p<0.001) ve GVHH için daha az sıklıkta MTX kullandıkları (%28 ve %65, p<0.001) izlenmiş. Bu hastalara verilen median çekirdekli hücre miktarı KKT'lerde KİT'e göre çok daha düşüktür ($0.47 \times 10^8/\text{kg}$ ve $3.5 \times 10^8/\text{kg}$, p<0.001). Yapılan multivaryasyon analizine göre KKT uygulanan hastalarda akut GVHH oranının (rölatif risk, 0.41; P = 0.001) ve kronik GVHH oranının (rölatif risk, 0.35; P = 0.02) KİT'e göre daha düşük olduğu gösterilmiş. KKT uygulananlarda ilk 1 ay içindeki nötrofil engraftmanın (rölatif risk, 0.40; p<0.001) ve trombosit engraftmanının (rölatif risk, 0.20; p<0.001) KİT'e göre daha geçikmiş olduğu fakat genel (overall) yaşam oranının her iki grupta benzer olduğu (P = 0.43) görülmüştür. Özet olarak, bu en kapsamlı çalışmada tam uygun kardeşlerden uygulanan KKT'lerinde GVHH riskinin KİT'e göre daha düşük olduğu, nötrofil ve trombosit engraftmanının daha geç olduğu ve yaşam oranlarının çok benzer olduğu gösterilip kordon kanının kemik iliğine alternatif bir kök hücre kaynağı olarak kabul edilebileceği sonucuna varılmıştır.

B. Çocuklarda aile dışı bireylerden kordon kanı HKHT deneyimleri

"Eurocord" kayıtlarına göre 2000 yılı itibariyle aile dışı bireylerden kordon kanı kullanılarak toplam 291 çocuğa KKT uygulanmıştır (9). Bu hastaların çoğunluğunu akut lösemi hastaları (ALL=107 ve AML=50), doğuştan metabolizma hastalıkları (n=61) ve kemik iliği yetmezlikleri (n=28) oluşturmaktadır. Donör ile doku tipi sadece 50 hastada tam uygun, %83 hastada ise 1-4 antijen uygunsuzdur. Median yaşı 5 yıl (0.2-15 yıl arasında) olan bu hastalara verilen median çekirdekli hücre sayısı $4.5 \times 10^7/\text{kg}$ (0.6-36.0) olup hastaların median izlem süresi 21 aydır (1-64 ay). Bu hastaların KKT sonrası hastaliksız yaşam oranı maliyn hastalıklarda %36, kemik iliği yetmezliklerinde %21 ve doğuştan metabolizma hastalıklarında %51'dir. Nötrofil engraftmanı transplant sonrası 60'ncı günde olguların %82'sinde median 29 günde (10-60 gün) gelişmiş ve akut GVHH (≥ grade II) insidansı %39 bulunmuştur.

Akut lösemili çocuk hastalara aile dışı donörlerden (unrelated) uygulanan kordon kanı ve kemik iliği transplantasyon sonuçlarını karşılaştırmak amacı ile çok merkezli, retrospektik bir çalışma yapılmıştır (21). Bu çalışmada akut lösemili toplam 541 çocuğa uygulanan 99 KKT, 180 T-hücre depleksiyonu sonrası kemik iliği transplantasyonu (T-KİT) ve 262 KİT sonuçları hasta, hastalık ve transplantasyona ait değişkenler göz önüne alınarak karşılaştırılmıştır. Bu 3 grup arasında doku uygunluğu belirgin farklılık göstermektedir; doku tipi uygunsuzluğu KKT'ların %92'si, T-KİT'lerin %43'ü ve KİT'lerin ise sadece %18'inde vardır. Risk faktörleri göz önüne alınmadan bu 3 grup karşılaştırıldığında 2-yıllık hastaliksız yaşam KKT, T-KİT ve KİT gruplarında sırası ile %31, %37 ve %43 oranında bulunmuştur. Ancak prognostik değişkenlere göre hesaplandığında 3 grup arasında hastaliksız yaşam açısından belirgin bir fark izlenmemiştir. Tüm değişkenler göz önüne alındığında KKT'da KİT'e göre hematopoitik engraftmanın daha geç

olduğu (HR=0.37; p<0.001), transplanta bağlı mortalitenin daha yüksek olduğu (HR=2.13; p<0.01) ve akut GVHH'nin daha az olduğu (HR=0.50; p<0.001) görülmüştür. T-hücre depleksyonu uygulanmış KİT alıcılarında ise depleksyon uygulanmamış KİT alıcılarına göre akut GVHH'nin daha az (HR=0.25; p<0.0001) ve relaps riskinin ilk 100 gün içinde daha fazla (HR=1.96; p<0.02) olduğu izlenmiştir. Kronik GVH hastalığı T-KİT ve KKT sonrası daha az (p<0.0001 ve p<0.002) olarak gelişmiş ve mortalite genelde T-KİT grubunda daha yüksek oranda izlenmiştir (p<0.07). Özet olarak, prognostik değişkenler göz önüne alındığında bu 3 grubun uzun dönemde birbirlerine hiçbir üstünlüğü yoktur. Kordon kanı transplantasyonu sonrası engraftmandaki geçikme ve transplanta bağlı mortalite oranında artma, KİT sonrası daha yüksek oranda gelişen GVHH ile dengelenmektedir. Sonuç olarak bu kapsamlı çalışma, kordon kanının tam uygun kemik iliği bulunamayan akut lösemili çocuklar için çok uygun bir kök hücre kaynağını oluşturacağını göstermektedir. Bu çalışmanın desteklediği, KKT sonrası GVHH riskinin daha az olmasına karşın lösemi hastaları için artmış bir relaps riskinin olmadığı bulgusu ileride daha fazla transplant sayısı ile yapılacak karşılaştırmalı çalışmalar ile de desteklenirse kordon kanının immün sistemin immatür olmasına karşın içerdiği normal fonksiyona sahip NK hücreleri veya diğer hücreler ile antilösemik etkiyi gösterbildiği kanıtlanmış olacaktır. Yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada da aile dışı bireylerden yapılan tam uygun kemik iliği transplantasyonları ile 0-3 antijen uygunsuz kordon kanı transplantasyonları uygun-çift (matched-pair) analizi yapılarak karşılaştırılmış ve çocuk hastalar için uygun bir seçenek olduğu sonucuna varılmıştır (22).

C. Erişkinlerde aile dışı bireylerden kordon kanı HKHT deneyimleri

“Eurocord” kayıtlarına göre 2000 yılı itibariyle aile dışı bireylerden kordon kanı kullanılarak toplam 108 erişkin hastaya kordon kanı transplantasyonu uygulanmıştır (9). Median yaşı 26 yıl (15-53 yıl) ve median ağırlığı 60 kg (35-110 kg) olan bu hasta grubuna median $1.7 \times 10^7/\text{kg}$ (0.2-6.0) çekirdekli hücre verilmiş ve median 20 ay (0.6-60 ay) takip edilmiştir. Bu hastaların 32'si ALL, 23'ü AML, 37'si KML, 12'si MDS ve 4 'ü non-Hodgkin lenfoma tanısı ile izlenmekte ve KKT'ü öncesi 20'sine otolog KİT uygulanmış fakat başarısız olmuştur. Sadece 6 hastaya doku tipi tam uygun kordon kanı verilmiştir, diğerleri 1-3 antijen uygunsuzdur. Bir yıllık yaşam oranı, tüm hastalar için %27 olup kronik faz KML ve 1-2'nci tam remisyondaki akut lösemi hastaları için %39 ve ileri evredekiler için %17'dir. Nötrofil engraftmanı transplant sonrası ilk 60 günde olguların %81'inde median 32 günde (13-60 gün) gerçekleşmiştir. Verilen çekirdekli hücre sayısının $1.7 \times 10^7/\text{kg}$ 'dan daha fazla olması nötrofil engraftmanını çok olumlu olarak etkilemiştir (p = 0.01). Akut GVHH (\geq grade II) insidansı %38 olarak bulunmuştur ve en sık ölüm nedenlerini enfeksiyon ve GVHH oluşturmuştur. Relaps oranı düşük olmakla birlikte izlem süresi çok kısadır. Sonuç olarak, kordon kanının doku tipi tam uygun kemik iliği donörü olmayan erişkin hastalar için de uygun bir seçenek oluşturduğu kabul edilmektedir. Ancak transplantla bağlı mortaliteyi etkileyen en önemli faktörün (p = 0.004) verilen çekirdekli hücre miktarının ($< 2.0 \times 10^7/\text{kg}$) olması, kordon kanının erişkinler için kullanımı kısıtladığı düşünülmektedir. Bu engeli aşabilmek için kordon kanının ex vivo ekspansiyonu veya birden fazla farklı kordon kanının bir arada verilmesi gündeme gelmiş ve klinik çalışmalar başlamıştır.

BİRDEN FAZLA KORDON KANININ BİRLİKTE KULLANIMI

Kordon kanı transplantasyonunda hematopoietik kök hücre sayısını arttırmanın bir yolu birden fazla kordon kanını bir arada kullanmaktır. Bu yaklaşım ilk olarak 1972 yılında denenmiş ve akut lenfoblastik lösemili bir hastaya 8 farklı kordon kanı bir arada verilmiştir (23). Bu uygulama sonrasında sadece bir kordon kanı ile engraftman sağlanabilmiş fakat kalıcı olmayıp kısa sürede rejeksiyon gelişmiştir. Daha sonra hematolojik malinitesi veya solid tümörü olan 7 hastaya 2 ila 12 kordon kanı bir arada verilmiştir (24). Bu çalışmalar ile eş zamanlı olarak çoklu kordon kanı transplantasyonunda hayvan deneyleri de gerçekleştirilmiş ve sonuç olarak birden fazla kordon kanı ünitesinin bir arada kullanılması ile yapılan transplantasyonlardan sonra farelerde daha yüksek oranda başarı sağlandığı ve koyunlarda ise uzun dönemde sadece bir kordon kanının diğerlerine baskın olarak engraftman sağladığı gösterilmiştir. (24).

Yakın zaman içinde, hematolojik hastalarda birden fazla kordon kanını bir arada kullanarak yapılan transplantasyonlarla ilgili olarak en kapsamlı faz I/II klinik araştırmanın sonuçları Barker ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır (25). Bu çalışmada yaşları 13 ila 53 arasında olan toplam 23 yüksek risk hastaya myeloablative hazırlama rejimi sonrasında doku tipi kısmen uygun olan 2 farklı ünite kordon kanı bir arada verilmiştir. Bu hastaların %25'inde kısa dönemde her iki kordon kanı hücreleri ile engraftman sağlanmış olmasına karşın tüm hastalarda +100. günde sadece bir kordon kanı hücrelerinin engraftmanının devam ettiği gösterilmiştir. Bu hastalarda GVHH oranı daha yüksek olmamakla birlikte engraftman oranının daha yüksek olduğu ve transplanta bağlı mortalitenin de daha düşük olduğu gösterilmiştir. Uzun süreli engraftman sağlayan kordon kanı ünitesindeki CD 34+ hücre sayısının verilen ve kalıcı engraftman sağlayamayan diğer kordon kanı ünitesine göre daha fazla olmasına dayanarak diğer ünitenin engraftmanının kısa süreli olmasının nedeninin GVH reaksiyonu olduğu düşünülmektedir. Şu an için özellikle erişkin hastalarda 2 farklı ünite kordon kanının bir arada kullanılması ile transplantasyonun başarısının daha da arttırılabileceğini söyleyebilmek için daha fazla klinik deneyime gereksinim vardır.

KORDON KANININ “EX VIVO” EKSPANSİYONU

Kordon kanında sınırlı miktarda kök hücrenin bulunması bu önemli kök hücre kaynağının erişkinler için kullanımını sınırlamaktadır (9,26). Ayrıca çocuk hastalarda kullanıldığında bile nötrofil ve trombosit engraftmanı kemik iliği transplantasyonuna göre daha geç olmaktadır (19-22). Kordon kanı kök hücrelerinin ex vivo ekspansiyonu ile bu güçlüklerin üstesinden gelinmesi ve erişkin hastalar için de daha rahat kullanılabilirliği hedeflenmektedir. Teorik olarak hastaya kordon kanı ile verilecek kök hücre ve progenitor hücrelerin sayısının in vitro ortamda arttırılması ile hematopoietik engraftman hızlandırılabilir, enfeksiyon riski azaltılabilir ve erişkin hastalar için daha güvenle kullanılabilir. Bu nedenlerle başlatılmış prelinik çalışmalarda kordon kanındaki kök hücrelerin ex vivo olarak ekspansiyonunun sağlanabildiği gösterilmiş ve bunun klinik açıdan önemi sorgulanmaya başlanmıştır (27). Günümüzde kordon kanı hücrelerinin ex vivo ekspansiyonunun klinik önemini araştırmak için yapılmış olan toplam 3 çalışmanın ön bulguları yayınlanmıştır (28-30). Bu çalışmaların en kapsamlısı olan Kurtzberg ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada toplam 28 hastaya myeloablative tedaviden sonra kordon kanının yarısı herhangi bir işlem uygulanmadan verilirken diğer yarısı PIXY, Flt-3L ve EPO gibi büyüme faktörleri ile toplam 12 gün ex vivo ekspansiyon uygulandıktan sonra verilmiştir. Sonuç olarak ex vivo ekspansiyon uygulanmış kordon kanının iyi tolere edildiği fakat myeloid, eritroid ve trombosit engraftmanı açısından tarihsel kontrollere göre belirgin bir farkın olmadığı bulunmuştur (28). Sadece bir çalışmada ex vivo ekspansiyonun trombosit engraftmanını biraz hızlandırdığını destekler bulgular elde edilmiştir (29). Sonuç olarak günümüzde kordon kanının ex vivo ekspansiyonunun klinik olarak olumlu etkilerinin olduğunu destekler yeterli hiçbir veri olmamasına karşın zaman içinde bazı olumlu gelişmelerin sağlanması umut edilmekte ve çalışmalar sürmektedir (31). Bu nedenlerle kordon kanının toplanması, volüm azaltılması, dondurulup saklanması ve çözülerek verilmesinde kullanılan tekniklerin, kordon kanında en fazla hücre elde etmeyi sağlayacak şekilde geliştirilmesinin pratik anlamda çok önemi vardır.

KORDON KANININ DOKU REJENERASYONUNDA KULLANILMASI

Kemik iliği veya periferik kandan elde edilen hematopoietik kök hücrelerinin sistemik veya lokal olarak uygulanması sonucunda solid organ dokularına spesifik hücrelerin rejenerasyonuna ve dolayısı ile de doku tamirine katkıda bulunduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir (32). Hematopoietik kök hücrelerinin hangi biyolojik mekanizmalar ile non-hematopoietik hücrelerin yeniden oluşumuna katkıda bulunduğu halen tartışmalı olmakla birlikte bu konuda birkaç hipotez öne sürülmüştür (33,34). Bu konudaki en geçerli olan hipotezler şu şekilde özetlenebilir: 1) Dolaşımda solid organ-spesifik dokulara farklılaşmaya programlanmış farklı kök hücrelerin bulunması, 2) Gerçek pluripotent kök hücre özelliğindeki hücrelerin tüm yaşam boyu varlığını sürdürmesi, 3) Hematopoietik dokudan köken alan hücrelerin non-hematopoietik bir ortamda nükleer yeniden programlanma sonucu farklı dokulara farklılaşabilmesi

(transdiferansiyasyon), 4) Hematopoietik kök hücrelerin organ-spesifik doku hücreleri ile füzyonu. Hematopoietik kök hücreler kemik iliği, periferik kan ve kordon kanı olmak üzere üç farklı kaynaktan elde edilebilir. Pek çok araştırmada kemik iliği veya periferik kandan elde edilmiş olan hematopoietik kök hücreler kullanılmıştır. Ancak daha önce belirtilen kordon kanının bazı farklılıklarından dolayı kordon kanından elde edilen hematopoietik kök hücrelerin solid organ-spesifik dokulara farklılaşma veya bu hücreler ile birlikte füzyona uğrama potansiyellerinin daha fazla olması beklenebilir. Bu konudaki deneysel veriler sınırlı olmakla birlikte aşağıda özetlenmeye çalışılmıştır.

A. Karaciğer Doku Hasarı

Karaciğerin intrinsek kök hücre havuzunu hepatik oval hücrelerin oluşturduğu kabul edilmektedir. İlginç olarak da bu oval hücreler yüzeylerinde hematopoietik kök hücrelere benzer şekilde CD34, CD90 ve c-kit gibi antijenler eksprese etmektedirler (35). Bu bulgu kordon kanındaki veya diğer kaynaklardaki hematopoietik kök hücrelerin direkt olarak veya endojen karaciğer kök hücre havuzunu aktive ederek indirekt olarak hepatositleri yeniden oluşturma potansiyeline sahip olduklarını desteklemektedir. Gerçekleştirilmiş olan hayvan deneylerinde kimyasal olarak karaciğer hasarı oluşturulmuş NOD/SCID farelere verilen insan kordon kanı hücreleri ile hasarlı karaciğer dokusunda hepatosit jenerasyonunun sağlandığı ve ölüm oranının azaltıldığı gösterilmiştir (36).

B. Tip I Diabet

Otoimmün tip I diabeti olan NOD fareleri ile yapılan hayvan deneylerinde bu farelere pre-diabetik dönemde insan kordon kanı hücreleri verilmiştir. Sonuç olarak kordon kanı verilen farelerde verilmeyen farelere göre kan şekerinin belirgin olarak daha düşük seyrettiği, insülin bulgularının daha azaldığı ve yaşam sürelerinin daha uzun olduğu gösterilmiştir (37).

C. Santral Sinir Sistemi Hastalıkları

Parkinson ve Huntington hastalıkları gibi nöro-dejeneratif hastalıklarda fetal dokuları kullanarak hücresel tedaviler denenmiştir. Ancak fetal dokuların kullanılmasındaki etik sorunların yanı sıra teknik güçlükler ve özellikle elde edilen klinik açıdan yetersiz sonuçlar nedeni ile araştırmalar son zamanlarda erişkin kök hücre tedavilerine yönelmiştir. Parkinson hastalığı olan deneysel fare modelleri ile gerçekleştirilen araştırmalarda bu farelere immüno-supresyon uygulanmadan intravenöz yolla insan hematopoietik kök hücreleri verilmiştir (38). Hücresel tedavi uygulanan ve uygulanmayan farelerin karşılaştırılmasında kordon kanı hücreleri alan farelerde Parkinson hastalığının bulgularının ortaya çıkışı ve bu hastalığa bağlı ölümlerin süresi geçmiştir. Yine aynı araştırma grubu Alzheimer amyloid prekürsör proteinini (APP) fazla eksprese eden ve santral sinir sistemi hastalığı geliştirerek erken dönemde ölen transjenik farelere insan kordon kanı hücrelerini sistemik olarak vermişlerdir (39). Kordon kanı hücreleri verilen fareler verilmeyenlere göre daha uzun yaşamışlardır. Serebral inmede kordon kanı hücrelerinin etkisini araştırmak üzere düzenlenmiş olan deneysel fare modelinde kordon kanı hücreleri verilen farelerde 4 hafta sonrasında davranışsal performansın daha iyi olduğu ve inme volümünün de daha az olduğu gösterilmiştir (40).

D. Preklinik Deneyimlerden Çıkarım

Kordon kanı, "adult" kök hücreler veya solid organ doku-spesifik hücrelerin rejenerasyonunu sağlayan hücreler için önemli ve oldukça umut verici bir kaynağı oluşturmaktadır. Ancak klinik uygulama açısından halen şu engeller söz konusudur: 1) Kordon kanının içerdiği total hücre sayısı sınırlı olması (özellikle hücre tedavisi için CD34- ve CD133-progenitor hücrelerin seçilip kullanılması planlandığında), 2) Doku tipi uygunsuzluğuna bağlı GVHH riskinin bulunması, 3) Morfolojik olarak solid organ dokusuna entegre olabildiği gösterilen kordon kanı hücrelerinin fonksiyonel etkisinin klinik açıdan gösterilememiş olması.

KAYNAKLAR

1. Urbano-Ispizua A, Schmitz N, de Witte T, et al. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29: 639-646.
2. Çetin M, Ertem M. Çocukluk çağı hastalıklarında kemik iliği transplantasyonu endikasyonları. *Katkı* 2002; 23: 540-550.
3. Knudtson S. In vitro growth of granulocyte colonies from circulating cells in human cord blood. *Blood* 1974; 43:357-61.
4. Gabutti V, Foa R, Mussa F, Aglietta M. Behavior of human hematopoietic stem cells in cord and neonatal blood. *Haematologica* 1975; 4:60-8.
5. Wagner JE, Kurtzberg J. Allogeneic umbilical cord blood transplantation. In: Broxmeyer HE, ed. *Cellular Characteristics of Cord Blood Transplantation*. AABB Press Bethesda, Maryland 1998:113-145.
6. Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc C, et al. Human umbilical cord blood as a source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86:3828-32.
7. Broxmeyer HE. The past, present, and future of cord blood transplantation. In: Broxmeyer HE, ed. *Cellular Characteristics of Cord Blood Transplantation*. AABB Press Bethesda, Maryland 1998:1-9.
8. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord-blood from HLH-identical sibling. *N Eng J Med* 1989; 321: 1174-8.
9. Gluckman E. Current status of umbilical cord-blood hematopoietic stem cell transplantation. *Experiment Hematol* 2000; 28: 1197-1205.
10. Wagner JE, Broxmeyer HE, Byrd RL, et al. Transplantation of umbilical cord-blood after myeloablative therapy: analysis of engraftment. *Blood* 1992; 79: 1874-81.
11. Vilmer E, Sterkers G, Rahimy C, et al. HLA-mismatched cord blood transplantation in a patient with advanced leukemia. *Transplantation* 1992; 53: 1155-7.
12. Wagner JE, Kernan NA, Steinbuch M, et al. Allogeneic sibling umbilical cord-blood transplantation in children with malignant and non-malignant disease. *Lancet* 1995; 346: 214-9.
13. Kurtzberg J, Laughlin M, Graham M, et al. Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *N Eng J Med* 1996; 335: 157-66.
14. Rocha V, Gluckman E. Clinical use of umbilical cord blood hematopoietic stem cells. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12:34-41.
15. Noort WA, Falkenburg JHF. Hematopoietic content of cord blood. In: Cohen SBA, Gluckman E, Madrigal A, et al. (eds) *Cord blood characteristics: role in stem cell transplantation*. 2000; London: Martin Dunitz, pp:13-37.
16. Bradley EB, Cairo MS. Cord blood immunology and stem cell transplantation. *Human Immunology* 2005; 66: 431-446.
17. Garderet L, Dulphy N, Douay C, et al. The umbilical cord-blood $\alpha\beta$ T-cell repertoire: characteristics of a polyclonal and naïve but completely formed repertoire. *Blood* 1998; 91: 340-6.
18. De La Sella V, Gluckman E, Bruley-Rosset M. Graft versus host disease and graft versus leukemia effect in mice grafted with newborn blood. *Blood* 1998; 92: 3968-73.
19. Rocha V, Wagner JE, Sebocinski KA, et al. Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. *N Eng J Med* 2000; 342: 1846-54.
20. Gluckman E, Rocha V, Boyer Chammard A, et al. Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. *N Eng J Med* 1997; 337: 373-9.

21. Rocha V, Cornish J, Sievers EL, et al. Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia. *Blood* 2001; 97: 2962-71.
22. Barker JN, Davies SM, DeFor T, et al. Survival after transplantation of unrelated donor umbilical cord blood is comparable to that of human leukocyte antigen-matched unrelated donor bone marrow: result of a matched-pair analysis. *Blood* 2001; 97: 2957-61.
23. Ende M, Ende N. Hematopoietic transplantation by means of fetal (cord) blood: A new method. *Virginia Med J* 1972; 99: 276-280.
24. Broxmeyer HE, editor. *Cord blood: biology, immunology, banking and clinical transplantation*. Bethesda, MD: AABB Press; 2004.
25. Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, et al. Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematological malignancy. *Blood* 2005; 105: 1343-1347.
26. Sanz GF, Saavedra S, Planelles D, et al. Standardized, unrelated donor cord blood transplantation in adults with hematological malignancies. *Blood* 2001; 98: 2332-38.
27. Denning-Kendall PA, Nicol A, Horsley H, et al. Is in vitro expansion of human cord blood cells clinically relevant? *Bone Marrow Transplant* 1998; 21: 225-32.
28. Kurtzberg J, Jaroscak J, Martin pPL, et al. Augmentation of umbilical cord blood transplantation with ex vivo expanded cells, a phase I trial using the replicell system. *Blood* 1999; 94(suppl 1): 571a.
29. Shpall EJ, Quinones R, Jones R, et al. Transplantation of adult and pediatric cancer patients with cord blood progenitors expanded ex vivo. *Blood* 1999; 94 (suppl 1): 712a.
30. Stiff P, Pecora A, Parthasarathy M, et al. Umbilical cord blood transplants in adults using a combination of unexpanded and ex vivo expanded cells: preliminary clinical observations. *Blood* 1998; 92: 646a.
31. Devine SM, Lazarus HM, Emerson SG. Clinical application of hematopoietic progenitor cell expansion: current status and future prospects. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31: 241-52.
32. Körbling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair: a new therapeutic concept? *N Eng J Med* 2003; 349: 570-582.
33. Grove JE, Bruscia E, Krause DS. Plasticity of bone marrow-derived stem cells. *Stem Cells* 2004; 22: 487-500.
34. Daley GQ, Goodell MA, Snyder EY. Realistic prospects for stem cell therapeutics. *Hematol (ASH Educ Program)* 2003: 398-418.
35. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284: 1168-1170.
36. Di Campli C, Piscaglia AC, Pierelli L, et al. A human umbilical cord stem cell rescue therapy in a murine model of toxic liver injury. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 603-613.
37. Ende N, Chen R, Reddi AS. Effect of human umbilical cord blood cells on glycemia and insulinitis in type I diabetic mice. *Biochem Biophys Res Comm* 2004; 325: 665-669.
38. Ende N, Chen R. Parkinson's disease mice and human umbilical cord blood. *J Med* 2002; 33: 173-80.
39. Ende N, Chen R, Ende-Harris D. Human umbilical cord blood cells ameliorate Alzheimer's disease in transgenic mice. *J Med* 2001; 32: 241-247.
40. Vendrame M, Cassady J, Newcomb J, et al. Infusion of human umbilical cord blood cells in a rat model of stroke dose-dependently rescues behavioral deficits and reduces infarct volume. *Stroke* 2004; 35: 2390-2295.