

KAS KÖK HÜCRELERİNİN KLİNİK KULLANIMI

M. Özlem HERGÜNER¹

KAS KÖK HÜCRELERİNİN KLİNİK KULLANIMI

İskelet kasları hareket, postürün korunması ve metabolik aktiviteler gibi pek çok görevi olan yüksek düzeyde özelleşmiş dokulardır. Kas lifleri sarkolemma olarak adlandırılan bir plazma membranı ile iç ve dış retiküler laminadan oluşan bazal membranın oluşturduğu post-mitotik multinükleer hücrelerdir. Kas dokusunun stabilizasyonu yaşamın devamlılığı açısından çok önemlidir. Yapıları gereği kasılma işlevlerini sürdürebilmek için yaşam boyunca pek çok mekanik, metabolik ve fizyolojik stresi tolere edebilirler. Bu yetenek, satellit hücreleri olarak adlandırılan tek çekirdekli öncü hücrelerin varlığından kaynaklanmaktadır. Bu hücreler kas lifinde bazal lamina ile sarkolemma arasında yer alır.¹

Satellit hücreler iskelet kasının erişkin kök hücreleridir. Normalde inaktif olan bu hücreler, herhangi bir kas hasarı olduğunda aktive ve proliferer olur ve yeni multinükleer kas liflerini oluşturur. Kasın bu özelliği özellikle yaşlanma veya musküler distrofiler gibi kas yıkımının olduğu durumlarda organizma için oldukça önemlidir. İlk çalışmalarda elektron mikroskopisi ile tanınan

bu hücreler, günümüzde çeşitli protein belirleyiciler ile tanınabilmekte ve hücre evreleri ayırt edilebilmektedir. Satellit hücreleri aktive olduklarında MyoD gibi miyojenik belirleyicileri salgırlarlar. Çoğalır, nekrotik kas lifleri ile birleşir veya birlikte santral nükleuslu yeni miyotübülleri oluştururlar. Bu hücreler M-adherin, c-Met, miyosit nükleer faktör (MNF), Pax7, adezyon molekül N-CAM, CD34 ve miyojenik regülatuar faktör Myf5 gibi spesifik proteinlerin ve transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu ile tanımlanabilirler.¹⁻³

Musküler Distrofiler

Musküler distrofiler (MD), klinik ve genetik olarak heterojen özellikler gösteren, ilerleyici kas erimesi ve kas güçsüzlüğü ile karakterize 50'den fazla hastalığı içeren bir hastalık grubudur. Bulguların başlangıç yaşı, genetik özellikleri ve öncelikli tutulan kas gruplarına göre çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir.

Musküler distrofilere neden olan genetik mutasyonlar ekstrasellüler matriks (kollojen, laminin), plazma membranı (distrofin, sarkoglikan, distroglikan gibi), sitozol (calpain, desmin gibi), sarkomer (titin) veya nükleusta (emerin, lamin

¹ Prof. Dr., Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nöroloji BD., oherguner@gmail.com, ORCID: iD: 0000-0002-2810-5539

Kök hücre tedavileri Duchenne MD'de miyojenik potansiyele sahip distrofin üreten hücrelerin allojenik transplantasyonu (donör uyumlu hücreler) veya otolog transplantasyonu (hastadan alınan düzenlenmiş hücreler) şeklinde olabilir. Kasların kök hücre havuzundaki distrofinin restorasyonu distrofin üretebilen kas liflerinin oluşumunu sağlayabilir. Ancak hastadaki kas dokusunun fazla olması, histolojik olarak farklı kas yapılarının etkilenebilmesi ve gelişen immünolojik olaylar işlemi kısıtlayabilmektedir.^{1,3,9,17}

Miyoblastlar Duchenne MD'nin hücre transplantasyonu tedavisinde ilk kullanılan hücrelerdir. Çeşitli çalışmalar rodentlere ait miyoblastların ve insan miyoblastlarının kas rejenerasyonunda etkili olabileceğini göstermiştir. Bu çalışmalar Duchenne MD hastalarında yapılacak normal miyoblast transferinin umut verici olduğunu düşündürmüştür. Erken çalışmalar, bu yöntemin önemli yan etkilerinin olmadığını, birkaç hastada kas gücü ve distrofin yapımında kısa süreli iyileşmeler olduğunu göstermiştir. Sonraları kas hücresi transplantasyonu için kullanılan teknikler geliştirilmiştir. 2007 yılında CD133 hücreleri intramusküler yolla denenmiş, 2011 yılında ise araştırmacılar intraarteriyel mezenjioblast injeksiyonunu kullanmaya başlamışlardır.¹ Mutant farelerde gerçekleştirilen deneysel tedaviler umut verici görülse de insanlardaki sonuçlar sınırlı olmuştur. İnsan dışı primatlarda ve mutant köpeklerde yapılan miyoblast transferi çalışmaları, büyük kas yapısına sahip bu organizmalarda kapasitenin test edilmesi, immüsupresyon tipleri ve dozlarına karar verilmesi açısından önemli olabilir.³

Hastalardan elde edilebilen indüklenmiş pluripotent kök hücreler otolog hücre tedavisi için umut vermektedir. Bu hücrelerden elde edilebilecek miyojenik progenitor hücreler, kök hücrelere benzer özelliklere ve miyoblastlara oranla daha iyi rejenerasyon kapasitelerine sahiptir. Gen düzenleme teknikleriyle kombine kullanımları tedavi için umut vermektedir.^{3,6,16,21}

Kas hastalıklarında iskelet kasları yanında kalp kasları da sıklıkla etkilenebilmektedir. Kardiyak tutulum bulgularının düzeltilmesi veya en azından stabilize edilmesi hastaların izleminde önemlidir. Son yıllarda faz 1/2 plasebo kontrollü çalışmalarda, allojenik kardiyosferden üretilen hücrelerin Duchenne MD'li hastalara intrakoronar olarak uygulanması sonrası kardiyak skar boyutunda azalma ve daha az sistolik duvar kalınlaşması saptanmıştır.^{6,25}

Bu çalışmalara ek olarak kas tutulumunun daha sınırlı olduğu ve nispeten daha küçük kasların etkilendiği okülofaringeal veya fasyoskapulo-humeral musküler distrofi gibi hastalıklarda miyoblast transplantasyonu çalışmaları yapılmıştır. Hastaların etkilenmemiş kaslarından elde edilen miyoblastların etkilenen kaslara transferi ile hastalarda bir miktar fonksiyonel düzelme olduğu, ayrıca işlemin güvenli ve iyi tolere edildiği gösterilmiştir. Ancak halen yöntemin geliştirilmesi gerekmektedir. CRISPR-Cas9 gibi genom düzenleme araçlarıyla birlikte kullanılan bu tedaviler büyük bir potansiyele sahip olabilir. Ancak beklenen hedef dışı olaylar insan üzerindeki uygulamalarda büyük sorunlara neden olabileceği için yöntemlerin geliştirilmesi gereklidir.²⁶⁻²⁷

KAYNAKLAR

1. Negroni E, Gidaro T, Bigot A, Butler-Browne GS, Mouly V, Trollet C. Invited review: Stem cells and muscle diseases: advances in cell therapy strategies. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2015 Apr;41(3):270-87.
2. Collins CA, Olsen I, Zammit PS, Heslop L, Petrie A, Partridge TA, Morgan JE. Stem cell function, self-renewal, and behavioral heterogeneity of cells from the adult muscle satellite cell niche. *Cell* 2005;122:289-301.
3. Negroni E, Butler-Browne GS, Mouly V. Myogenic stem cells: regeneration and cell therapy in human skeletal muscle. *Pathol Biol (Paris).* 2006 Mar;54(2):100-8.
4. Mercuri E, Bönnemann CG, Muntoni F. Muscular dystrophies. *Lancet.* 2019 Nov 30;394(10213):2025-2038.
5. Datta N, Ghosh PS. Update on Muscular Dystrophies with Focus on Novel Treatments and Biomarkers. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2020 May 14;20(6):14.
6. Markati T, Oskoui M, Farrar MA, Duong T, Goemans N, Servais L. Emerging therapies for Duchenne muscular dystrophy. *Lancet Neurol.* 2022 Sep;21(9):814-829.

7. Partridge TA, Morgan JE, Coulton GR, Hoffman EP, and Kunkel LM. Conversion of mdx myofibres from dystrophin-negative to -positive by injection of normal myoblasts. *Nature* 1989;337:176–179.
8. Morgan JE, Hoffman EP, and Partridge TA. Normal myogenic cells from newborn mice restore normal histology to degenerating muscles of the mdx mouse. *J Cell Biol* 1990;111: 2437–2449.
9. Sun C, Serra C, Lee G, Wagner KR. Stem cell-based therapies for Duchenne muscular dystrophy. *Exp Neurol*. 2020 Jan;323:113086.
10. Negroni E, Vallese D, Vilquin JT, Butler-Browne G, Mouly V, Trollet C. Current advances in cell therapy strategies for muscular dystrophies. *Expert Opin Biol Ther* 2011;11:157–176.
11. Karpati G, Ajdukovic D, Arnold D, Gledhill RB, Guttman R, Holland P, Koch PA, Shoubridge E, Spence D, Vanasse M, et al. Myoblast transfer in Duchenne muscular dystrophy. *Ann Neurol* 1993;34:8–17.
12. Mendell JR, Kissel JT, Amato AA, King W, Signore L, Prior TW, Sahenk Z, Benson S, McAndrew PE, Rice R, et al. Myoblast transfer in the treatment of Duchenne's muscular dystrophy. *N Engl J Med* 1995;333:832–838.
13. Tremblay JP, Malouin F, Roy R, Huard J, Bouchard JP, Satoh A, and Richards CL. Results of a triple blind clinical study of myoblast transplantations without immunosuppressive treatment in young boys with Duchenne muscular dystrophy. *Cell Transplant* 1993;2:99–112.
14. Morandi L, Bernasconi P, Gebbia M, Mora M, Crosti F, Mantegazza R, and Cornelio F. Lack of mRNA and dystrophin expression in DMD patients three months after myoblast transfer. *Neuromuscul Disord* 1995;5:291–295.
15. Huard J, Bouchard JP, Roy R, Malouin F, Dansereau G, Labrecque C, Albert N, Richards CL, Lemieux B, and Tremblay JP. Human myoblast transplantation: preliminary results of 4 cases. *Muscle Nerve* 1992;15:550–560.
16. Yan L, Rodríguez-de la Rosa A, Pourquié O. Human muscle production in vitro from pluripotent stem cells: Basic and clinical applications. *Semin Cell Dev Biol*. 2021 Nov;119:39–48.
17. Yu D, Cai Z, Li D, Zhang Y, He M, Yang Y, Liu D, Xie W, Li Y, Xiao W. Myogenic Differentiation of Stem Cells for Skeletal Muscle Regeneration. *Stem Cells Int*. 2021 Feb 4;2021:8884283.
18. Torrente Y, Belicchi M, Marchesi C, et al. Autologous transplantation of muscle-derived CD133+ stem cells in Duchenne muscle patients. *Cell Transplant* 2007;16:563–577.
19. Shi M, Ishikawa M, Kamei N, Nakasa T, Adachi N, Deie M, Asahara T, Ochi M. Acceleration of skeletal muscle regeneration in a rat skeletal muscle injury model by local injection of human peripheral blood-derived CD133-positive cells. *Stem Cells* 2009;27:949–960.
20. Motohashi N, Shimizu-Motohashi Y, Roberts TC, Aoki Y. Potential Therapies Using Myogenic Stem Cells Combined with Bio-Engineering Approaches for Treatment of Muscular Dystrophies. *Cells* 2019 Sep 11;8(9):1066.
21. Sampaolesi M, Torrente Y, Innocenzi A, Tonlorenzi R, D'Antona G, Pellegrino MA, Barresi R, Bresolin N, De Angelis MG, Campbell KP, Bottinelli R, Cossu G. Cell therapy of alpha-sarcoglycan null dystrophic mice through intra-arterial delivery of mesoangioblasts. *Science* 2003;301:487–492.
22. Cossu G, Bianco P. Mesoangioblasts-vascular progenitors for extravascular mesodermal tissues. *Curr Opin Genet Dev* 2003;13:537–542.
23. Noviello M, Tedesco FS, Bondanza A, Tonlorenzi R, Rosaria Carbone M, Gerli MF, Markt S, Napolitano S, Cicalese MP, Ciceri F, Peretti G, Cossu G, Bonini C. Inflammation converts human mesoangioblasts into targets of alloreactive immune responses: implications for allogeneic cell therapy of DMD. *Mol Ther* 2014;22:1342–1352.
24. Sampaolesi M, Blot S, D'Antona G, et al. Mesoangioblast stem cells ameliorate muscle function in dystrophic dogs. *Nature* 2006;444:574–579.
25. Taylor M, Jefferies J, Byrne B, Lima J, Ambale-Venkatesh B, Ostovaneh MR, Makkar R, Goldstein B, Smith RR, Fudge J, Malliaras K, Fedor B, Rudy J, Pogoda JM, Marbán L, Ascheim DD, Marbán E, Victor RG. Cardiac and skeletal muscle effects in the randomized HOPE-Duchenne trial. *Neurology*. 2019 Feb 19;92(8):e866–e878.
26. Coiffier L, Perie S, Laforet P, Eymard B, Lacau St Guily J. Long-term results of cricopharyngeal myotomy in oculopharyngeal muscular dystrophy. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;135:218–222.
27. Perie S, Mamchaoui K, Mouly V, Blot S, Bouazza B, Thornell LE, St Guily JL, Butler-Browne G. Premature proliferative arrest of cricopharyngeal myoblasts in oculo-pharyngeal muscular dystrophy: therapeutic perspectives of autologous myoblast transplantation. *Neuromuscul Disord* 2006;16:770–781.