

Kök Hücre Uygulamalarında Bitkisel Kaynaklı Uyarıların Potansiyel Rolü

Büşra KARPUZ*, Nurgün KÜÇÜKBOYACI**

The Potential Role of Plant-derived Stimulants in Stem Cells Applications

SUMMARY

Stem cells, which are the basis of regenerative medicine applications, nowadays become the first step of modern treatment, have the potential for high differentiation, proliferation and self-renewal are used to renew or repair damaged tissues. Biological stimulants such as recombinant or synthetic cytokines, growth factors play a key role for proliferation and differentiation of undifferentiated stem cells into mature cells. Because of the adverse effects of these stimulants on cells, their high cost and short half-life researchers have focused on herbal agents, which are less toxic and low cost, as an alternative. Especially, in studies on mesenchymal stem cells, crude plant extracts (e.g. Foeniculum vulgare, Ginkgo biloba) and some phytochemicals (e.g. curcumin, genistein, naringin, resveratrol) have been used and these agents were found to have enhancing effects on stem cell proliferation, differentiation and tissue regeneration. It has been reported that some plant sources (e.g. Beta vulgaris, Aloe vera) increase tissue regeneration when they used integrated with biomaterials in tissue engineering. Although the application of plant-derived compounds as stimulants of natural origin in stem cell therapy is a new and alternative perspective, it is a field with high potential for which standardization studies must be carried out.

Key Words: Stem cell, phytochemicals, plant extracts, tissue engineering, regenerative medicine, cell differentiation

Kök Hücre Uygulamalarında Bitkisel Kaynaklı Uyarıların Potansiyel Rolü

ÖZ

Günümüzde modern tedavinin ilk basamağı haline gelen, rejeneratif tıp uygulamalarının temelini oluşturan, yüksek farklılaşma, çoğalma ve kendini yenileme potansiyeli bulunan kök hücreler, hasar görmüş dokuları yenilemek veya onarmak için kullanılmaktadır. Farklılaşmamış kök hücrelerin olgun hücrelere farklılaşması ve çoğalması için rekombinant veya sentetik sitokinler, büyüme faktörleri gibi biyolojik uyarıların kilit rol oynamaktadır. Bu uyarıların hücreler üzerindeki advers etkileri, pahalı ve kısa yarılanma ömrüne sahip olmaları nedeniyle araştırmacılar alternatif olarak daha az toksik ve düşük maliyetli bitkisel kökenli ajanlara yönelmiştir. Özellikle mezenkimal kök hücreler üzerine yapılan çalışmalarda ham bitki ekstraktları (örn. Foeniculum vulgare, Ginkgo biloba) ve bazı fitokimyasallar (örn. kurkumin, genistein, naringin, resveratrol) kullanılmış ve bu ajanların kök hücre çoğalması, farklılaşması ve doku rejenerasyonunu artırıcı etkileri olduğu belirlenmiştir. Bazı bitkisel kaynakların (örn. Beta vulgaris, Aloe vera) doku mühendisliğinde biyomalzemeler ile entegre halde kullanıldığında doku rejenerasyonunu artırdığı bildirilmiştir. Kök hücre tedavisinde bitkisel kökenli bileşiklerin doğal kaynaklı uyarıların olarak uygulanması yeni ve alternatif bir perspektif olmakla beraber, özellikle standardizasyon çalışmalarının yapılması gereken yüksek potansiyele sahip bir alandır.

Anahtar kelimeler: Kök hücre, fitokimyasallar, bitkisel ekstraktlar, doku mühendisliği, rejeneratif tıp, hücre farklılaşması

Received: 27.12.2018

Revised: 13.05.2019

Accepted: 15.05.2019

* Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, 06330 Ankara, TÜRKİYE

** Corresponding Author: Nurgün KÜÇÜKBOYACI

Tel: 0312 2023177, Fax: 0312 2022357, E-mail: nurgun@gazi.edu.tr

GİRİŞ

Hasar görmüş doku ve organların tamiri veya yerine yeni dokuların getirilerek canlı ve işlevsel dokular oluşturma prensibine dayanan rejeneratif tıp uygulamaları, günümüzde modern tedavinin ilk basamağı haline gelmiştir. Son yıllarda rejeneratif tıp alanında yapılan çalışmalar hücre ve hücre kaynaklı tedaviler üzerine yoğunlaşmış, özellikle kök hücreler bu çalışmaların temelini oluşturmuştur. Kök hücre uygulamalarının başarısını büyük ölçüde hasarlı dokuya, dokunun tamirine yetecek sayıda ve kalitede hücrenin aktarılması belirlemektedir. Farklılaşmamış kök hücrelerin uygulanan bölgedeki dokuya spesifik hücrelere farklılaşması ve yeterli sayıya ulaşana kadar çoğalmasında rekombinant veya sentetik sitokinler, büyüme faktörleri gibi biyolojik uyarıcılar kilit rol oynamaktadır. Bu uyarıcıların hücreler üzerindeki advers etkileri, pahalı ve kısa yarılanma ömrüne sahip olmaları nedeniyle alternatif olarak daha az toksik ve düşük maliyetli bitkisel kökenli ajanlara yönelme görülmektedir (Udalamattha ve ark., 2016).

Bu çalışmada, kök hücrelerin farklılaşması ve çoğalmasında bitkisel kaynaklı uyarıcıların potansiyel rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Kök Hücre Uygulamaları

Kök hücreler, uzun süren bir çoğalma döneminin ardından uygun uyarıcılar ile spesifik hücre tiplerine farklılaşma kabiliyetine sahip, farklılaşmamış hücrelerdir. Başka bir tanıma göre, kök hücreler genellikle hem kendi kendini yenileme hem de çok yönlü farklılaşma yeteneği olan klonjenik hücreler olarak tanımlanmaktadır. Deneysel koşullar sağlanarak kök hücrelerin belirli bir hedefteki hücrelere farklılaşması sağlanabilmektedir (Weissman, 2000).

Kök hücreler farklı kaynaklardan elde edilebilir. Genel bir sınıflandırma ile elde edildiği kaynağa göre; embriyonik ve embriyonik olmayan kök hücreler olarak sınıflandırılır (Ateş, 2016). Embriyonik kök hücreler, embriyonun blastokist aşamasındaki iç hücre kütesinden elde edilen ve vücutta plasenta hariç üç germ tabakasından (mezoderm, endoderm, ektoderm) köken alan tüm hücreleri oluşturabilen pluripotent hücrelerdir (Tounson, 2006). Takahashi ve Yamanaka (2006), embriyonik kök hücrelerin sahip olduğu pluripotent özelliğin somatik hücrelerin yeniden programlanmasıyla farklılaşmış bir hücreye aktarılması üzerinde çalışmış ve somatik hücreleri pluripotent düzeye getirmeyi başarmıştır. Oluşan bu hücreler indüklenmiş pluripotent kök hücreler [induced pluripotent stem cells (iPS)] olarak adlandırılmıştır (Takahashi & Yamanaka, 2006).

Embriyonik kökenli olmayan kök hücreler ise, bir doku veya organdaki farklılaşmamış hücrelerdir. Bu hücreler kendi kendini yenileyebilir ve sınırlı sayıda hücre tipine farklılaşabilme yeteneğine sahiptir. Mezenkimal kök hücreler, kemik iliği, adipoz doku ve diğer türdeki dokularda bulunan embriyonik olmayan ve sınırlı sayıda hücreye dönüşebilme potansiyeline sahip multipotent kök hücrelerinin bir türüdür (Kornicka ve ark., 2017).

Klinik çalışmalardan elde edilen sonuçlar, dejeneratif, otoimmün ve genetik bozuklukların tedavisinde kök hücre bazlı tedavinin büyük terapötik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, kök hücrelerin klinik uygulaması bazı etik ve güvenlik sorunlarını gündeme getirmektedir. İnsan embriyonik kök hücre araştırmaları ve klinik tedavinin geliştirilmesi ile ilgili en önemli etik problem, bu tip kök hücrelerin elde edilmesi sırasında insan embriyosunun yıkımını içermesidir. Etik problemlerin yanında sınırsız farklılaşma potansiyeli ile istenmeyen farklılaşma ve malign oluşumlar büyük bir risk oluşturmaktadır. iPS çalışmaları ile embriyonik kök hücrelerdeki etik sorunların üstesinden gelinse de, klinik uygulamalardaki güvenlik sorunları hala devam etmektedir (Volarevic ve ark., 2018). Mezenkimal kök hücreler ise, embriyonik kök hücrelere göre daha kolay izole edilmeleri, *in vitro* kültür koşulları, kullanımları ile ilişkili minimal etik problemlerin bulunması ve insan lökosit antijeni-antijen D [Human leukocyte antigen (HLA-DR)]-negatif karakterlerinden dolayı tedavide yabancı madde olarak tanınmamaları ile avantajlara sahiptir. Bu özellikleri nedeniyle mezenkimal kök hücreler miyokard enfarktüsü, graft versus host hastalığı, diyabet ve omurilik zedelenmesi gibi çok çeşitli hastalıkların tedavisinde büyük umut vaat etmektedir (Udalamattha ve ark., 2016).

Kök Hücre Uygulamalarında Kullanılan Uyarıcılar

Kök hücre uygulamalarında en önemli hususlardan birisi, hasarlı dokuya dokunun tamirine yetecek sayıda ve kalitede saf hücrelerin aktarılmasıdır. Bu nedenle, farklılaşmamış kök hücrelerin uygun hücrelere farklılaşması ve çoğalması için rekombinant veya sentetik sitokinler, büyüme faktörleri gibi biyolojik uyarıcılar kilit rol oynamaktadır. Kök hücreler *in vitro* ortamda pasaj sırasında kendi kendini yenileme ve çoğalma yeteneklerini bir oranda kaybeder. Kök hücreleri farklı büyüme faktörü kokteylleriyle inkübe etmek, onları istenen hücre fenotipine doğru ilerletmek için gereklidir. Sonuç olarak kendini yenileme ve yönlendirilmiş farklılaşmanın sağlanması

rejeneratif tıp alanında bir sorun olarak görülmektedir (Yan ve ark., 2014).

Yapılan ilk bilimsel araştırmalarda, canlı biyolojik kaynaklardan izole edilen bileşenler kullanılmış, ancak etik tartışmalar ve bu maddelerin izole edilmesi ve saflaştırılması sırasındaki uzun işlemlerden dolayı, sentetik bileşenler üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Günümüzde mezenkimal kök hücrelerin *in vitro* osteojenik farklılaşması için “deksametazon, askorbik asit ve β -gliserofosfat’tan oluşan bir kokteyl”, adipojenik farklılaşma için “3-izobutil-1-metilksantin, hidrokortizon ve indometazin” kullanılırken, yüksek proliferasyon için “fibroblast büyüme faktörü ve kemik morfojenik proteini-2 [Bone morphogenetic protein (BMP)-2]” kullanılmaktadır. Bazı “hücre dışı matris proteinleri” de kök hücrelerin proliferasyon ve farklılaşma potansiyelini koruyan özellikler göstermiştir. Buna ek olarak mezenkimal kök hücreleri kardiyomyositlere dönüştürmek için bir sitokin olan “granülosit uyarıcı faktör” kullanılmaktadır (Schooltink & Rose-John, 2002; Wang & Chen, 2013).

Rekombinant ve sentetik sitokinler, büyüme faktörleri ve hücre kültüründe veya klinik tedavide kullanılan kök hücrelerin çoğalması ve farklılaşmasında rol alan diğer proteinler, sürekli olarak kullanıldığında çeşitli toksik ve yan etkiler görülebilmektedir. Sitokinler ve büyüme faktörleri genellikle *Escherichia coli*, bitki ve memeli hücreleri kullanılarak üretildikleri için farklı kökenleri nedeniyle reddedilme potansiyeline sahiptir (Udalamatthta ve ark., 2016; Ali & Hasan, 2012).

Bunun yanında, osteojenik farklılaşma için kullanılan askorbik asit 37 °C’de kararsızdır ve yüksek dozlarda toksiktir (Marion & Mao, 2006). Deksametazon, osteoblast farklılaşmasında uygulamayı sınırlayan immün baskılayıcı özellikler göstermekte ve bazı büyüme faktörleri hücrelerde

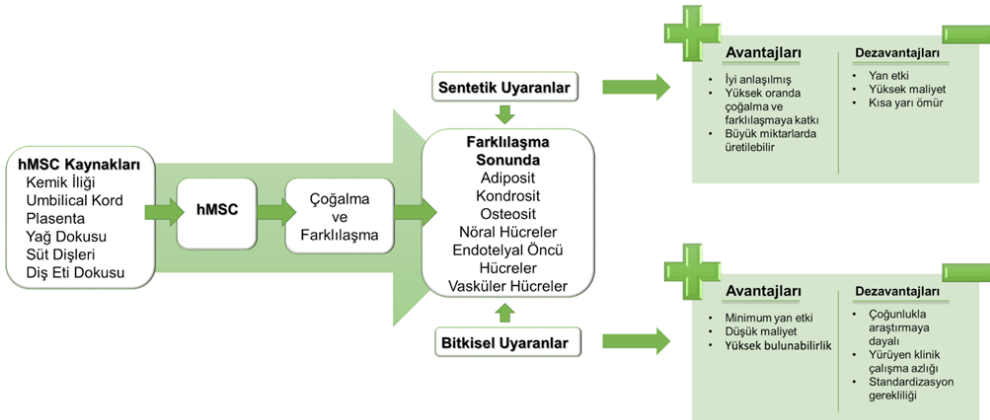
malign oluşumlara neden olabilmektedir. Ayrıca, kök hücre uyarılarının elde edilmeleri pahalı ve uzun süre alan işlemlerdir (Udalamatthta ve ark., 2016).

Son yıllarda biyolojik uyarıların kök hücreler üzerindeki advers etkileri, pahalı ve kısa yarılanma ömrüne sahip olmaları gibi nedenlerden dolayı, alternatif olarak daha az toksik ve düşük maliyetli bitkisel kökenli ajanlara yönelme görülmektedir.

Kök Hücre Uygulamalarında Kullanılan Bitkisel Uyarılar

Geçmişten günümüze kadar yapılan çalışmalarda, bitki ekstralarının birçok hastalığın tedavisinde terapötik etkilerinin kanıtlanmasıyla birlikte, bilim insanlarının dikkati bu alana yönelmiştir. Geleneksel tıptaki uygulamalarına paralel olarak bitki ekstralarının, kök hücre ve diğer hücre tipleri üzerinde stimulan etkileri araştırılmaktadır. Kullanılan bitki ekstralarının kökeni çoğunlukla Çin geleneksel tıbbi, Hint Ayurvedik tıbbi ve diğer Güney Doğu Asya ve Orta Doğu geleneksel tıp uygulamalarıdır (Joshi & Bhande, 2014).

Kök hücreler üzerine etkili olan fitokimyasallar ve bitki ekstraları etki ettikleri sinyalizasyon yollarına göre hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşma yönlerinde değişiklikler meydana getirebilir. Bu özellikleri ile kök hücre uygulamalarında rutin olarak kullanılan rekombinant ve sentetik sitokinler, büyüme faktörleri ve diğer proteinlerin fonksiyonlarını taklit ederler. Sentetik ilaçların yan etki sınırlamaları dikkate alınarak, kök hücrelerin proliferasyonunu ve *in vitro* olarak farklılaşmasını teşvik etmek için doğal bileşiklerin uygulanması, rejeneratif tıpta yeni bir bakış açısıdır. Düşük toksisite ve temin edilebilir olmaları nedeniyle bitkisel kaynaklı maddeler, sentetik uyarıcıların yerine geçebilecek iyi birer aday olma potansiyeline sahiptir (Şekil 1).



Şekil 1. Kök hücre uygulamalarında sentetik ve bitkisel uyarı kullanımının avantaj ve dezavantajları (hMSC: İnsan mezenkimal kök hücresi)

Birçok çalışma, bitki ekstraları ile takviye edildikten sonra mezenkimal kök hücrelerde proliferasyon oranının arttığını göstermiştir. Ayrıca, araştırmalar bazı ekstraların kanser hücre soylarında apoptozisi

indükleyerek antikanser özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Kornicka ve ark., 2017). Kök hücreler üzerine bazı bitkisel kökenli uyaranlar ile elde edilen sonuçlar Tablo 1’de sunulmaktadır.

Tablo 1. Kök hücreler üzerine etkili bazı bitkisel kökenli uyaranlar ve etkileri.

Kök hücreler üzerine etkili bitkisel uyaran (Ekstre/biyoaktif bileşen)	Orijini	Etkisi	Kaynaklar
<i>Viscum album</i> L.	Ekstre	Kök hücre proliferasyonunda artma, kanser hücre hatlarında apoptozisin indüklenmesi	Choi ve ark., 2012
Ikariin	<i>Epimedium brevicornum</i> Maxim.	Kök hücrelerin kendini yenilemesine ve osteoblast farklılaşmasına katkı	Song ve ark., 2013; Nan ve ark., 2014
Kurkumin	<i>Curcuma longa</i> L.	Farklılaşmaya katkı, nöral kök hücrelerin proliferasyonunda artma	Kim ve ark., 2008; Mujoo ve ark., 2012
Naringin	<i>Citrus</i> sp. <i>Drynariae rhizoma</i>	Proliferasyonda artma, yüksek dozlarda sitotoksik etki	Yu ve ark., 2016
Kersetin	<i>Ginkgo biloba</i> L.	Adipoz doku kaynaklı kök hücrelerin osteoblast farklılaşmasında artma	Zhou & Lin, 2014
Silibinin	<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	BMP sinyali ile kök hücrelerin osteoblast farklılaşmasına katkı	Ying ve ark., 2013
Epigallokateşin-3-gallat	Yeşil çay	Mezenkimal kök hücrelerin hipoksiye bağlı apoptozunda iyileşme, osteojenik farklılaşmada artma	Qui ve ark., 2016; Wang ve ark., 2016
Resveratrol	Dut, fıstık	Mezenkimal kök hücrelerde proliferasyonun ve osteojenezin indüklenmesi, nöral farklılaşma	Dai ve ark., 2007; Tseng ve ark., 2011; Huang ve ark., 2014
Genistein	Acı bakla, soya fasulyesi	Adipojenik ve osteojenik farklılaşmayı indükleme	Dai ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2016
Piseatannol	Üzüm, fıstık, Japon madımağı, ravent, şeker kamışı	Osteoblast farklılaşması, nöral kök hücrelerin astrosit farklılaşması	Chang ve ark., 2006; Arai ve ark., 2016
Daidzein	<i>Pueraria mirifica</i> Airy Shaw & Suvat.	Kök hücrelerin kendini yenilemesi ve osteojenik farklılaşmaya katkı, 2 ve 3 boyutlu kültür modellerinde kondrojenik farklılaşmayı teşvik etme	Hu ve ark., 2016; Mahmod ve ark., 2017
WIN-34B	<i>Lonicera japonica</i> Thunb.’nın kurutulmuş çiçekleri ve <i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge. köklerinin n-butanol fraksiyonu	Kondrojenik farklılaşma, kırıkta koruması	Kang ve ark., 2010; Huh ve ark., 2013;
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Breyne, <i>Salvia triloba</i> L. <i>Syzygium aromaticum</i>	Ekstre	<i>C. zeylanicum</i> ve <i>S. triloba</i> ile diş pulpası kök hücrelerinin proliferasyonu ve osteojenik farklılaşma. <i>S. aromaticum</i> ile kalsiyum granül oluşumu ve hücre canlılığı üzerine olumsuz etki	Mendi ve ark., 2017
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Ekstre	Proliferasyonda artma, osteoprotektif etki	Mahmoudi ve ark., 2013
Berberin	<i>Berberis aristata</i> DC., <i>Berberis aquifolium</i> Pursh ve <i>Coptis chinensis</i> Franch.	Osteoblast farklılaşmasını teşvik etme, mezenkimal kök hücrelerin canlılığını koruma	Hyun ve ark., 2008; Li ve ark., 2016

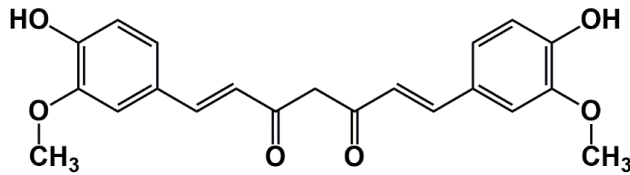
Tablo 1'de özetlendiği üzere, bitkisel ekstrere ve biyoaktif bileşikler üzerine yapılan birçok çalışmada kök hücrelerin çoğalması ve farklılaşması ile ilgili umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Örn. *Foeniculum vulgare* bitkisinin etanol ekstresinin osteogenez üzerine etkisi, *in vitro* bir modelde insan kemik iliği mezenkimal kök hücreleri üzerinde araştırılmıştır. Çalışmada, mezenkimal kök hücrelerinin proliferasyonu ve hücre büyümesi incelenmiş, sonuç olarak etanol ekstresinin düşük konsantrasyonlarda hücre proliferasyonunu ve alkalın fosfataz enzim aktivitesini uyardığı belirlenmiştir (Mahmoudi ve ark., 2013).

Diğer bir çalışmada, *Lonicera japonica*'nın kurutulmuş çiçekleri ve *Anemarrhena asphodeloides* köklerinden hazırlanan *n*-butanol fraksiyonunun karışımı olan WIN-34B'nin antinosiseptif, antienflamatuvar, kırık onarımı ve koruyucu etkilere sahip olduğu görülmüştür (Kang ve ark., 2010). Yapılan başka bir çalışmada, WIN-34B'nin subkondral kemiğin progenitor hücrelerinde kondrojenik farklılaşmayı indüklediği ve aynı zamanda osteoartritli tavşan modelinde kırık koruması sağladığı bildirilmiştir (Huh ve ark., 2013).

Mendi ve ark. (2017) *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum* ve *Salvia triloba* ekstralarının, diş pulpası kök hücrelerinin proliferasyonu, farklılaşması ve immün yanıtları üzerine etkilerini araştırmıştır. Sonuçlar *C. zeylanicum* ekstresinin umut verici bir osteojenik ajan ve *S. triloba*

ekstresinin güçlü bir antienflamatuvar etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Elde edilen bulgular ışığında, bu iki bitkinin diş hekimliğinde biyokompozit malzeme veya doku iskelesi yapımında tek tek veya birlikte güvenle kullanılabilirliğini bildirilmiştir. Bununla birlikte, *S. aromaticum*'un ise kalsiyum granül oluşumu ve hücre canlılığı üzerine olumsuz etkileri nedeniyle diş hekimliğinde kullanımının kontrol edilmesi gerektiğini önermişlerdir (Mendi ve ark., 2017).

Bitkisel ekstrere yanında çeşitli çalışmalarda biyoaktif fitokimyasalların kök hücreler üzerine etkileri araştırılmıştır. Geleneksel tıpta da sıkça kullanılan zerdeçal'ın etkili maddesi olan kurkumin'in (Şekil 2) antioksidan ve antienflamatuvar etkisi olduğu bilinmektedir (Dadashpour ve ark., 2017). Kurkumin'in kök hücrelerin farklılaşması ve proliferasyonu üzerine etkisini araştıran birçok çalışma mevcuttur. Mujoo ve arkadaşlarının (2012) yaptığı çalışmada, kurkumin 10 µmol/L konsantrasyonda endotelial nitrik oksit sentaz transkript seviyesinde ve kardiyak spesifik transkripsiyon faktörlerinin gen ekspresyonunda önemli bir artış sağlayarak, embriyonik kök hücrelerin miyokardiyal farklılaşmasını indüklemiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda ise kurkumin (20 µmol/L) hücrelerin büyümesini inhibe etmiştir (Mujoo ve ark., 2012). Diğer bir çalışmada, düşük doz (0.1 ve 0.5 µM) kurkumin embriyonik nöral progenitor hücrelerin proliferasyonunu arttırırken, yüksek dozlar (≥10 µM) progenitor hücreler üzerine sitotoksik etkiye neden olmuştur (Kim ve ark., 2008).



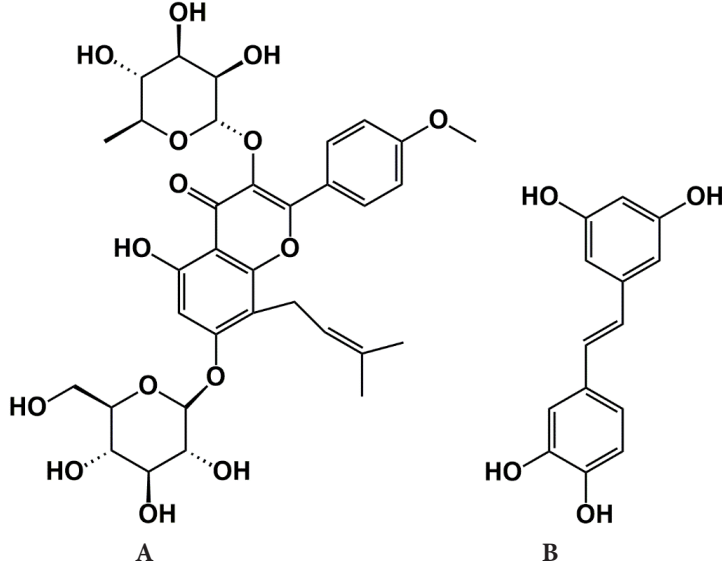
Şekil 2. Kurkumin

Üzüm, ravent ve şeker kamışının kabuklarında bulunan bir polifenolik bileşik olan pisetannol (Şekil 3) antioksidatif, antienflamatuvar, antidiyabetik ve antikanser etki göstermektedir (Arai ve ark., 2016). Yapılan bir çalışmada pisetannol'ün BMP-2 genini up-regüle (regülasyonda artış) ederek osteoblast benzeri iki hücre hattı (MG-63 ve Hfob) üzerinde hedeflenen yönde farklılaşmayı arttırdığı, bunun sonucunda pisetannol'ün östrojen eksikliği veya çeşitli patolojik durumlarla ilişkili osteoporozdaki kemik oluşumuna yardımcı olabileceği görülmüştür (Chang ve ark., 2006).

Çin tıbbi bitkilerinden biri olan *Epimedium brevicornum*'un flavonoidlerinin önemli bir bileşeni olan ikariin (Şekil 3) erkek fertilizasyonu üzerine koruyucu etkileri ile bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda ikariin'in sertoli hücreleri ve osteoblastlar başta olmak üzere farklı tipte farklılaşmamış hücrelerin proliferasyonunu arttırdığını göstermiştir (Song ve ark., 2013; Nan ve ark., 2014; Dadashpour ve ark., 2017). Başka bir çalışmada, kritik boyutlu kranial defektleri bulunan tavşan modellerinde ikariin ve otolog konsantre büyüme faktörleri kullanılmış ve çalışma sonunda elde edilen morfolojik değişiklikler

gözlenmiştir. Yeni bir biyolojik materyal olan otolog konsantre büyüme faktörü, transfer büyüme faktörü- β [Transforming growth factor (TGF- β)], BMP, insülin benzeri büyüme faktörü [Insulin-like growth factor (IGF)], vasküler endotelial büyüme faktörü [Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)], epidermal büyüme faktörü [Epidermal growth factor (EGF)], trombosit kaynaklı büyüme faktörü [Platelet-derived growth factor (PDGF)] ve fibroblast büyüme faktörü

[Basic fibroblast growth factor (bFGF)] içeren bir karışımdır. Yapılan çalışmanın sonucuna göre proliferasyona yüksek oranda katkı sağlayan bu büyüme faktörleri karışımı ile karşılaştırıldığında ikariin hemen hemen aynı düzeyde etkinlik göstermiştir. Otolog konsantre büyüme faktörleri ve ikariin'in her ikisi de yeni kemik oluşumunu arttırmış, iyileşmenin kalitesini ve hızını yükseltmiştir (Li ve ark., 2017).



Şekil 3. İkariin (A) ve Piceatannol (B)

Doku Mühendisliğinde Bitkisel Kökenli Biyolojik Uyarılar

Doku mühendisliği, hasar görmüş bir doku veya organın işlevini geri kazandırmak, sürdürülmesini sağlamak veya iyileştirmek için mühendislik ve sağlık bilimleri uygulamalarını birleştiren disiplinler arası bir alandır. Bu rejenerasyon işleminin temelini, doku veya organa uygun doku iskeleti yapısı, doku iskelelerinin yapılandırılmasını sağlayan büyüme faktörleri veya biyolojik uyarılar ve bu iskelelere ekilecek hücreler oluşturmaktadır. Ekstrasellüler matriks benzeri yapılar olan doku iskeleleri, doğal veya sentetik

polimer yapılarından oluşabilmektedir (Arca & Şenel, 2008; Howard ve ark., 2008; Ergin ve ark., 2018). Öne çıkan sentetik iskeleler; polimerler, metaller, seramikler, camlar, hidrojel, pirolitik karbon, kompozitler iken doğal kaynaklı biyomalzemelere kolajen, elastin, hidroksiapatit, aljinat ve kitosan örnek verilebilir. Son yıllardaki çalışmalar, sentetik ve doğal kaynaklı biyomalzemeler ile rejenerasyona katkıda bulunma potansiyeli olan fitokimyasalların entegre halde kullanıldığında doku rejenerasyonun arttığı yönündedir (Tablo 2) (Joseph ve ark., 2018).

Tablo 2. Doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan bazı bitki ekstraları.

Ekstre	Etkisi	Kaynaklar
<i>Cissus quadrangularis</i> ekstresi	İnsan mezenkimal kök hücrelerinin proliferasyonu, tutunma ve ekstre ile muamele edilmemiş doku iskeleleri ile karşılaştırıldığında osteoblast farklılaşmasında artış sağlanmıştır	Parvathi ve ark. 2018
<i>Beta vulgaris</i> ekstresi	Cilt doku mühendisliği için geliştirilmiş <i>Beta vulgaris</i> yüklü nanofibröz doku iskeleleri mezenkimal kök hücrelerin keratinositlere farklılaşmasını arttırmıştır.	Hosseinzadeh ve ark., 2017
<i>Drynaria fortunei</i> ekstresi	<i>Drynaria fortunei</i> ekstresi ile zenginleştirilmiş ve kemik iliği stromal hücreler ekilmiş doku iskeleleri tavşanlarda kafatası kemiği defektinde yeni kemik oluşumunu sağlamıştır	Chen ve ark., 2013
<i>Aloe vera</i> jel	Yara pansuman uygulamaları için <i>Aloe vera</i> jel ile kaplanmış poli-laktik asit (PLA) nanofibröz doku iskeleleri yara iyileşme sürecini arttırmıştır	Jouybar ve ark., 2017
<i>Equisetum arvense</i> ekstresi	Adipoz dokudan elde edilen mezenkimal kök hücrelerin, <i>Equisetum arvense</i> ekstresi ve nanohidroksiapatit yüklenmiş PLA kompozit nanofibröz doku iskeleleri üzerinde osteojenik farklılaşma ve mineralizasyon düzeylerinde artış meydana gelmiştir	Khakestani ve ark., 2017

SONUÇ

Kök hücre tedavisinde bitkisel kökenli bileşiklerin doğal kaynaklı uyaranlar olarak uygulanması yeni ve alternatif bir perspektiftir. Bu konuda yapılan birçok çalışmada, kök hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşması için kullanılan bitkisel kökenli uyaranların, kondrojenik, osteojenik, adipojenik, nörojenik vb. potansiyellere sahip olduğu belirlenmiştir. Kök hücrelerin çoğalması ve farklılaşması için kullanılan sentetik ve rekombinant uyaranların olası yan etkilerini minimize eden bitkisel uyaranlar, düşük maliyet, yüksek oranda bulunabilirlik ve düşük toksisite ile daha güvenli kullanım avantajına sahiptir. Bitkisel ekstralar veya biyoaktif fitokimyasalların uygulanması ile kök hücrelerde görülen proliferatif ve farklılaşma aktiviteleri, osteoporoz, kalp hastalıkları, kıkırdak ve kemik dejenerasyonları ve Parkinson gibi hastalıklar için gelecekte ümit vadetmektedir. Kök hücre uyaranı olarak bitki ekstraları ve fitokimyasalların kullanımında doz faktörü değerlendirilmesi gereken önemli bir konudur. Bazı fitokimyasallar spesifik dozlarda kök hücrelerde kendini yenileme, çoğalma ve farklılaşma yönünde etkilere sahiptir. Konsantrasyon değişimlerinde sitotoksik etki veya henüz tespit edilemeyen etkiler görülebilmektedir. Bu nedenle, kullanılacak uygun dozun belirlenmesi, gelecekte bitkisel uyaranların kök hücre uygulamalarında daha geniş alanda yer bulmasına imkan verecektir. Ayrıca, kök hücre uygulamalarında kullanılacak bitkisel bileşiklerin etki mekanizmalarının daha iyi anlaşılabilmesi için, mekanizma tabanlı *in vitro* ve *in vivo* çalışmaların yapılması gereklidir. Bu alanda değerlendirilmesi gereken diğer bir önemli konu ise terapötik amaçla kullanılacak bitki ekstralarının

standardize edilmiş olması gerekliliğidir. Kök hücrelerin çoğalması ve farklılaşması üzerine yapılacak çalışmaların artırılması, yüksek potansiyele sahip bitkisel uyaranların terapötik amaçlarla güncel kullanıma sunulması açısından önem taşımaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar finansal veya başka bir yolla çıkar çatışmaları olmadığını beyan ederler

KAYNAKLAR

- Ali, T. F., & Hasan, T. (2012). Phlorotannin-incorporated mesenchymal stem cells and their promising role in osteogenesis imperfecta. *Journal of Medical Hypotheses and Ideas*, 6(2), 85–89. <https://doi.org/10.1016/j.jmhi.2012.09.002>
- Arai, D., Kataoka, R., Otsuka, S., Kawamura, M., Maruki-Uchida, H., Sai, M., Ito, T., Nakao, Y. (2016). Piceatannol is superior to resveratrol in promoting neural stem cell differentiation into astrocytes. *Food and Function*, 7(10), 4432–4441. <https://doi.org/10.1039/c6fo00685j>
- Arca, H. Ç. & Şenel, S. (2008). Chitosan Based Systems for Tissue Engineering Part 1: Hard Tissues. *FABAD J. Pharm. Sci.*, 33(1), 35–49.
- Ateş, U. (2016). Kök hücreyi tanıyalım. *FNG & Bilim Tıp Transplantasyon Dergisi*, 1(1), 19–28. <https://doi.org/10.5606/fng.transplantasyon.2016.004>
- Chang, J. K., Hsu, Y. L., Teng, I. C., & Kuo, P. L. (2006). Piceatannol stimulates osteoblast differentiation that may be mediated by increased bone morphogenetic protein-2 production. *European Journal of Pharmacology*, 551(1–3), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.08.073>

- Chen, K. Y., Dong, G. C., Hsu, C. Y., Chen, Y. S., & Yao, C. H. (2013). Autologous bone marrow stromal cells loaded onto porous gelatin scaffolds containing *Drynaria fortunei* extract for bone repair. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 101 A(4), 954–962. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34397>
- Choi, J. H., Lyu, S. Y., Lee, H. J., Jung, J., Park, W. B., & Kim, G. J. (2012). Korean mistletoe lectin regulates self-renewal of placenta-derived mesenchymal stem cells via autophagic mechanisms. *Cell Proliferation*, 45(5), 420–429. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2012.00839.x>
- Dadashpour, M., Pilehvar-Soltanahmadi, Y., Zarghami, N., Firouzi-Amandi, A., Pourhassan-Moghaddam, M., & Nouri, M. (2017). Emerging Importance of Phytochemicals in Regulation of Stem Cells Fate via Signaling Pathways. *Phytotherapy Research*, 31(11), 1651–1668. <https://doi.org/10.1002/ptr.5908>
- Dai, J., Li, Y., Zhou, H., Chen, J., Chen, M., & Xiao, Z. (2013). Genistein promotion of osteogenic differentiation through BMP2/SMAD5/RUNX2 signaling. *International Journal of Biological Sciences*, 9(10), 1089–1098. <https://doi.org/10.7150/ijbs.7367>
- Dai, N., Yu, Y. C., Ren, T. H., Wu, J. G., Shen, L. G., & Zhang, J. (2007). Gynura root induces hepatic veno-occlusive disease: A case report and review of the literature. *World Journal of Gastroenterology*, 13(10), 1628–1631. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i10.1628>
- Ergin, E., Ekici, Y., & Ataç, F. B. (2018). Doku mühendisliği ve uygulama alanları. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 38(1), 70–78. <https://doi.org/10.5336/medsci.2017-57770>
- Hosseinzadeh, S., Soleimani, M., Vossoughi, M., Ranjbarvan, P., Hamed, S., Zamanlui, S., & Mahmoudifard, M. (2017). Study of epithelial differentiation and protein expression of keratinocyte-mesenchyme stem cell co-cultivation on electrospun nylon/B. *vulgaris* extract composite scaffold. *Materials Science and Engineering C*, 75, 653–662. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.02.101>
- Howard, D., BATTERY, L. D., Shakesheff, K. M., & Roberts, S. J. (2008). Tissue engineering: Strategies, stem cells and scaffolds. *Journal of Anatomy*, 213(1), 66–72. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2008.00878.x>
- Hu, B., Yu, B., Tang, D., Li, S., & Wu, Y. (2016). Daidzein promotes osteoblast proliferation and differentiation in OCT1 cells through stimulating the activation of BMP-2/smads pathway. *Genetics and Molecular Research*, 15(2), 1–10. <https://doi.org/10.4238/gmr.15028792>
- Huang, J. G., Shen, C. B., Wu, W. Bin, Ren, J. W., Xu, L., Liu, S., & Yang, Q. (2014). Primary cilia mediate sonic hedgehog signaling to regulate neuronal-like differentiation of bone mesenchymal stem cells for resveratrol induction in vitro. *Journal of Neuroscience Research*, 92(5), 587–596. <https://doi.org/10.1002/jnr.23343>
- Huh, J. E., Park, Y. C., Seo, B. K., Lee, J. D., Baek, Y. H., Choi, D. Y., & Park, D. S. (2013). Cartilage protective and chondrogenic capacity of WIN-34B, a new herbal agent, in the collagenase-induced osteoarthritis rabbit model and in progenitor cells from subchondral bone. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/527561>
- Hyun, W. L., Jung, H. S., Kim, H. N., A, Y. K., So, Y. P., Chan, S. S., Choi, J. Y., Jae, B. K. (2008). Berberine promotes osteoblast differentiation by Runx2 activation with p38 MAPK. *Journal of Bone and Mineral Research*, 23(8), 1227–1237. <https://doi.org/10.1359/jbmr.080325>
- Joseph, J., Sundar, R., John, A., Abraham, A., & Abraham, A. (2018). Phytochemical Incorporated Drug Delivery Scaffolds for Tissue Regeneration. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*.
- Joshi, K., & Bhonde, R. (2014). Insights from Ayurveda for translational stem cell research. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 5(1), 4. <https://doi.org/10.4103/0975-9476.128846>
- Jouybar, A., Seyedjafari, E., Ardashirylajimi, A., Zandi-Karimi, A., Feizi, N., Khani, M. M., & Pousti, I. (2017). Enhanced Skin Regeneration by Herbal Extract-Coated Poly-L-Lactic Acid Nanofibrous Scaffold. *Artificial Organs*, 41(11), E296–E307. <https://doi.org/10.1111/aor.12926>
- Kang, M., Jung, I., Hur, J., Kim, S. H., Lee, J. H., Kang, J. Y., Jung, K. C., Kim, K. S., Yoo, M. C., Park, D. S., Lee, J. D., Cho, Y. B. (2010). The analgesic and anti-inflammatory effect of WIN-34B, a new herbal formula for osteoarthritis composed of *Lonicera japonica* Thunb and *Anemarrhena asphodeloides* BUNGE in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, 131(2), 485–496. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.025>

- Khakestani, M., Jafari, S. H., Zahedi, P., Bagheri, R., & Hajiaghvae, R. (2017). Physical, morphological, and biological studies on PLA/nHA composite nanofibrous webs containing *Equisetum arvense* herbal extract for bone tissue engineering. *Journal of Applied Polymer Science*, 134(39), 1–10. <https://doi.org/10.1002/app.45343>
- Kim, S. J., Son, T. G., Park, H. R., Park, M., Kim, M.-S., Kim, H. S., Chung, H. Y., Mattson, M. P., Lee, J. (2008). Curcumin Stimulates Proliferation of Embryonic Neural Progenitor Cells and Neurogenesis in the Adult Hippocampus. *Journal of Biological Chemistry*, 283(21), 14497–14505. <https://doi.org/10.1074/jbc.M708373200>
- Kornicka, K., Kocherova, I., & Marycz, K. (2017). The effects of chosen plant extracts and compounds on mesenchymal stem cells—a bridge between molecular nutrition and regenerative medicine—concise review. *Phytotherapy Research*, 31(7), 947–958. <https://doi.org/10.1002/ptr.5812>
- Li, G., Wang, J., Ren, G., Hao, F., Zhang, Y., Shi, P., Liu, X., Dong, F. (2017). Morphological Observation on Critical-Sized Cranial Defect Repaired by Icarin and Autologous Concentrate Growth Factors in Rabbits. *Medical Science Monitor*, 23, 2373–2381. <https://doi.org/10.12659/MSM.900098>
- Li, W., Liu, Y., Wang, B., Luo, Y., Hu, N., Chen, D., Zhang, X., Xiong, Y. (2016). Protective effect of berberine against oxidative stress-induced apoptosis in rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12(6), 4041–4048. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3866>
- Mahmod, S. A., Snigh, S., Djordjevic, I., Mei Yee, Y., Yusof, R., Ramasamy, T. S., & Rothan, H. A. (2017). Phytoestrogen (Daidzein) Promotes Chondrogenic Phenotype of Human Chondrocytes in 2D and 3D Culture Systems. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 14(2), 103–112. <https://doi.org/10.1007/s13770-016-0004-3>
- Mahmoudi, Z., Soleimani, M., Saidi, A., Khamisipour, G., & Azizsoltani, A. (2013). Effects of *Foeniculum vulgare* ethanol extract on osteogenesis in human mesenchymal stem cells. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 3(2), 135–42. <https://doi.org/10.22038/AJP.2013.3>
- Marion, N. W., & Mao, J. J. (2006). Mesenchymal Stem Cells and Tissue Engineering. *Methods in Enzymology*, 420(06), 339–361. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(06\)20016-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(06)20016-8). Mesenchymal
- Mendi, A., Yağci, B. G., Kiziloğlu, M., Saraç, N., Yilmaz, D., Uğur, A., & Uçkan, D. (2017). Effects of *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum*, and *Salvia triloba* extracts on proliferation and differentiation of dental pulp stem cells. *Journal of Applied Oral Science*, 25(5), 515–522. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2016-0522>
- Mujoo, K., Nikonoff, L. E., Sharin, V. G., Bryan, N. S., Kots, A. Y., & Murad, F. (2012). Curcumin induces differentiation of embryonic stem cells through possible modulation of nitric oxide-cyclic GMP pathway. *Protein and Cell*, 3(7), 535–544. <https://doi.org/10.1007/s13238-012-2053-2>
- Nan, Y., Zhang, X., Yang, G., Xie, J., Lu, Z., Wang, W., Ni, X., Cao, X., Ma, J., Wang, Z. (2014). Icarin stimulates the proliferation of rat Sertoli cells in an ERK1/2-dependent manner in vitro. *Andrologia*, 46(1), 9–16. <https://doi.org/10.1111/and.12035>
- Parvathi, K., Krishnan, A. G., Anitha, A., Jayakumar, R., & Nair, M. B. (2017). Poly(L-lactic acid) nanofibers containing *Cissus quadrangularis* induced osteogenic differentiation in vitro. *International Journal of Biological Macromolecules*, 110, 514–521. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.094>
- Schooltink, H., & Rose-John, S. (2002). Cytokines as therapeutic drugs. *Journal of Interferon & Cytokine Research: The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*, 22(5), 505–16. <https://doi.org/10.1089/10799900252981981>
- Song, L., Zhao, J., Zhang, X., Li, H., & Zhou, Y. (2013). Icarin induces osteoblast proliferation, differentiation and mineralization through estrogen receptor-mediated ERK and JNK signal activation. *European Journal of Pharmacology*, 714(1–3), 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.05.039>
- Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2006). Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*, 126(4), 663–676. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
- Trounson, A. (2006). The production and directed differentiation of human embryonic stem cells. *Endocrine Reviews*, 27(2), 208–219. <https://doi.org/10.1210/er.2005-0016>
- Tseng, P. C., Hou, S. M., Chen, R. J., Peng, H. W., Hsieh, C. F., Kuo, M. L., & Yen, M. L. (2011). Resveratrol promotes osteogenesis of human mesenchymal stem cells by upregulating RUNX2 gene expression via the SIRT1/FOXO3A axis. *Journal*

- of Bone and Mineral Research*, 26(10), 2552–2563. <https://doi.org/10.1002/jbmr.460>
- Udalaththa, V. L., Jayasinghe, C. D., & Udagama, P. V. (2016). Potential role of herbal remedies in stem cell therapy: proliferation and differentiation of human mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Research & Therapy*, 7(1), 110. <https://doi.org/10.1186/s13287-016-0366-4>
- Volarevic, V., Markovic, B. S., Gazdic, M., Volarevic, A., Jovicic, N., Arsenijevic, N., Armstrong, L., Djonov, V., Lako, M., Stojkovic, M. (2018). Ethical and safety issues of stem cell-based therapy. *International Journal of Medical Sciences*, 15(1), 36–45. <https://doi.org/10.7150/ijms.21666>
- Wang, Y.-K., & Chen, C. S. (2013). Cell adhesion and mechanical stimulation in the regulation of mesenchymal stem cell differentiation. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 17(7), 823–832. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12061>
- Weissman, I. L. (2000). Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell*, 100(1), 157–168. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81692-X](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81692-X)
- Yan, X.-Z., van den Beucken, J. J. J. P., Both, S. K., Yang, P.-S., Jansen, J. A., & Yang, F. (2014). Biomaterial Strategies for Stem Cell Maintenance During *In Vitro* Expansion. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 20(4), 340–354. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2013.0349>
- Ying, X., Sun, L., Chen, X., Xu, H., Guo, X., Chen, H., Hong, J., Cheng, S., Peng, L. (2013). Silibinin promotes osteoblast differentiation of human bone marrow stromal cells via bone morphogenetic protein signaling. *European Journal of Pharmacology*, 721(1–3), 225–230. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.09.031>
- Yu, G., Zheng, G., Chang, B., Hu, Q., Lin, F., Liu, D., Wu, C., Du, S., Li, X. (2016). Naringin Stimulates Osteogenic Differentiation of Rat Bone Marrow Stromal Cells via Activation of the Notch Signaling Pathway. *Stem Cells International*, 2016, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/7130653>
- Zhang, L.-Y., Xue, H.-G., Chen, J.-Y., Chai, W., & Ni, M. (2016). Genistein induces adipogenic differentiation in human bone marrow mesenchymal stem cells and suppresses their osteogenic potential by upregulating PPAR γ . *Experimental and Therapeutic Medicine*, 11(5), 1853–1858. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3120>
- Zhou, C., & Lin, Y. (2014). Osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells promoted by quercetin. *Cell Proliferation*, 47(2), 124–132. <https://doi.org/10.1111/cpr.12097>