ISSN: 2148-9815

Kök Hücre E-Bülteni

Yaşam Bankası FamiCord Group destekleriyle...

www.kokhucrebulteni.com
info@kokhucrebulteni.com

Sayı: 27
Eylül-Ekim 2018

Editör'den

Alp Can

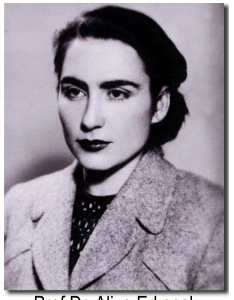
Berna'nın Başarısıyla Gururlandık, Aliye Hoca'nın Vefatıyla Üzüldük...

KHB'nin 27. sayısıyla hepinize tekrar merhaba. Bu sayımızda da her sayıda olduğu gibi kök hücre dünyasındaki güncel gelişmelere yer verdik.

Bizi hem çok yakından ilgilendiren hem de çok gururlandıran bir çalışma histoloji ve embriyoloji doktoralı sevgili **Berna Sözen**'den geldi. Doktora çalışmalarına Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında başlayan ve araştırmalarının bir bölümünü Cambridge Üniversitesinde Dr. Magdalena Zernicka-Goetz'in laboratuvarında sürdüren Berna, bu süreçte erken embriyogenez dönemine ilişkin önemli iki çalışmaya imza attı ve bunlardan birisini Science, diğerini Nature Cell Biology olmak üzere iki saygın dergide yayınlandı. Berna **KHB**'nin bu sayısında okurlar için ardışık olan bu iki çalışmayı özetleyen bir yazı kaleme aldı. Bilim dünyasında oldukça ses getiren ikinci çalışmada sadece kök hücrelerden yapay olarak oluşturulan embriyoların gastrülasyon aşamasını, yani dokuların kökeni olan tabakalanmayı gerçekleştirebilmeleri için embriyon dışı endoderm hücrelerini eklemeleri gerekti. Dr. Berna Sözen şimdi aynı laboratuvarda doktora sonrası çalışmalarını yürütüyor; kendisine başarılar diliyoruz.

21 Ağustos günü histoloji ve embriyolojinin duayenlerinden emekli hocamız Sayın **Prof.Dr. Aliye Erkoçak**'ı yitirdik. 95 yaşında yaşama veda eden sevgili hocamızla 1990 yılında sadece 10 ay çalışma fırsatı yakalamış bir kişi olarak **KHB** aracılığıyla Aliye Hoca'yı yeni kuşaklara çok kısaca tanıtmak isterim.

1923'te Balıkesir'in Sındırgı ilçesinde doğan Aliye Erkoçak 1947'de İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldu. İki yıl boyunca Sındırgı ilçesinde serbest hekim olarak çalıştıktan sonra 1949 yılında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Kürsü'süne asistan olarak atandı; 1951'de uzman oldu. 1957'de doçent, 1963 yılında profesör olarak eylemli kadrolara atandı. 1959-61 ve 1965-66 yıllarında NATO bursuyla Lozan Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Enstitüsünde ve Elektron Mikroskopi Merkezinde böbreğin histokimyası ve elektron mikroskopisi üzerinde çalıştı. Jukstaglomerül apparatın histofizyolojisi ve mitokondriyon içi granüllerin elektrolit metabolizmasıyla ilişkisini açıklayan makaleleri saygın Avrupa araştırma kaynaklarında yer aldı. 1976-81 yılları arasında Histoloji-Embriyoloji Kürsü'sü ve 1981-83 yılları arasında Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı başkanlığı görevini yürüttü. **Doç. Dr. Aliye Erkoçak Türkiye'de tıp alanında elektron mikroskobunu kullanan ve yayın yapan ilk kişidir (1961)**. Dünyada ve ülkemizde histoloji ve embriyoloji alanındaki terimlerin belirlenmesi ve benimsenmesine yönelik çalışmalarda bulunan ilk ekibin içinde yer almıştır. Prof. Aliye Erkoçak'ın otuza yakın makalesi atıf aldı. Yazmış olduğu Genel ve Özel Histoloji Ders kitapları temel histoloji bilgisine ulaşmak isteyen tıp, diş hekimliği ve sağlık bilimleri alanındaki öğrenciler ve asistanlar tarafından yıllarca kaynak kitap olarak okundu. 1983 yılında Sıkıyönetim Yasasının 1402 sayılı maddesine istinaden Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesindeki görevinden uzaklaştırıldı; yedi yıl sonra Danıştayın kararıyla görevine geri döndü. Hevesle çalıştığı 10 aydan sonra 20 Aralık 1990 tarihinde kendi isteğiyle emekliye ayrıldı. Prof.Dr. Aliye Erkoçak 2014 yılında "**Ankara Üniversitesi Çınarı**" Ödülüne layık görülmüştür.



Prof.Dr. Aliye Erkoçak
(1923-2018)

28. sayıda buluşuncaya kadar hoşça kalın...

Pluripotent Hücreler

Berna Sözen

Yaşamın En Önemli Evresi Olan "Gastrülasyon" Kök Hücre Kaynaklı Embriyolarla Petri Kabında Modellendi!

Yaşamın İlk Üç Haftasında Gastrülasyonun Önemi

"***It is not birth, marriage, or death, but gastrulation, which is truly the most important time in your life.***" yani Türkçe karşılığı ile "***Ne doğum, ne evlenme, ne de ölüm değil; yaşamımızda gerçekleşen en önemli olay gastrülasyondur.***" Bu sözler efsanevi İngiliz embriyolog **Lewis Wolpert** tarafından söyleneli tam 32 yıl oldu. O günden bu yana gelişim biyolojisi ve embriyoloji ile uğraşan bilim insanları yaşamın başlarında yer alan bu büyüleyici ve bir o kadar da gizemli dönemin sırlarını çözebilmek için sayısız araştırma yaptı.

Gastrülasyon, blastula evresinden sonra, çok hücrelilerin hemen hepsinde ortak görülen bir süreçtir. Bu evrede, tek bir hücre katmanı olan blastula, yeniden organize olarak çok tabakalı, 'gastrula'yı oluşturur. Vücudumuzdaki tüm doku ve organlar bu evrede oluşan üç farklı hücre tipinden gelişir. Embriyo, döllenmeden birkaç hafta sonra (insanda üçüncü hafta) üç hücre katmanına ayrılarak üç farklı hücre tipinin oluşturduğu üç germ tabakasını meydana getirir; ektoderm, endoderm ve mezoderm. Ektoderm tabakası deri ve sinir sisteminin, endoderm tabakası solunum ve sindirim sisteminin, mezoderm tabakası kas, kardiyovasküler, iskelet ve ürogenital sistem oluşumuna kaynaklık eder.

Bu olayı izleyen gün ve haftalarda doku ve organları oluşturacak olan hücre tabakalarının şekillenmesiyle birlikte, gastrülasyon sırasında temel vücut eksenleri gelişir. Şekillenmeyle birlikte çok hücrelilerde dört ana düzlem meydana gelir; (**1**) ön ve arka (anterior-posterior eksen), (**2**) sırt ve karın (dorsal-ventral eksen), (**3**) sol ve sağ (deksta-sinistra ekseni), (**4**) yakın ve uzak (proksimal-distal eksen). Bu aşamada hücre katmanlarında farklılaşma (diferansiyasyon) görülmez; ancak hücresel proteinler ve mRNA'lar hücreler arasında eşit olmayacak biçimde dağılır ve böylece ileride hangi hücrenin hangi hücre tipi olacağı belirlenir. Bu olaya "**kaderin belirlenmesi**" (*fate determination*) denir.

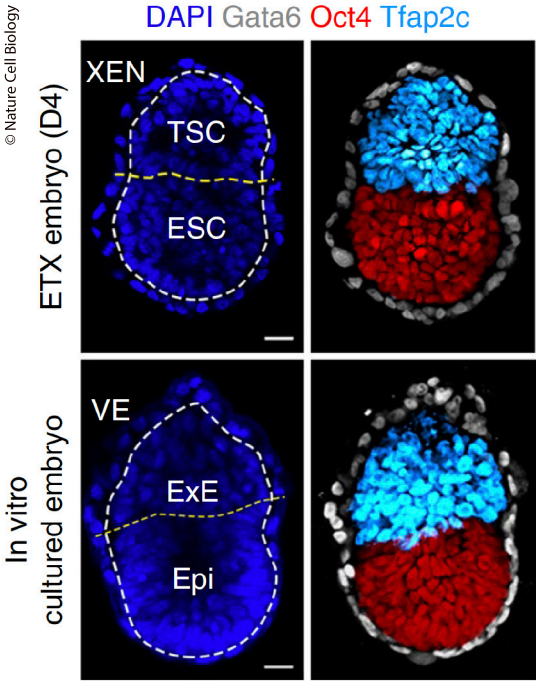
İleri de fetüsün gelişimini de düzenleyecek olan gastrülasyon, embriyonun hücre tabakalarında dinamik mekanizmalarla ve çok hızlı olarak gerçekleşir. Embriyo-dışı dokular ise gastrülasyona katılmaz, bu süreçte sadece doğru sinyal etkileşimlerinin embriyonik tabakalara aktarılmasından sorumludurlar.

Önce Embriyonun Benzerini Laboratuvarda Oluşturduk!

Gastrülasyon ve sonrasındaki fetüsün gelişmesi embriyonik süreçlerde gerçekleştiğine göre, sadece embriyonik kök hücreleri (EKH) kullanarak embriyogenezi ve gastrülasyonu taklit edebilir miyiz? İlk anda kulağa mantıklı gelen bu soruyu yıllar önce araştırmacılar yanıtlamaya çalıştılar. EKH'lerin gelişmekte olan embriyo ve onun germ hücre katmanlarına enjekte edildiklerinde, çeşitli doku ve organların oluşumuna katıldıkları biliniyor. Bununla birlikte, EKH'ler tek başlarına kültür edildiklerinde, embriyogenezi taklit edebilme yeteneklerinin çok kısıtlı olduğu ve ortaya çıkan yapıların ne embriyo mimarisi kazandığı, ne de doğru biçimde gastrülasyonu taklit edebildiği izlendi. Tek başına EKH'leri kullanan deneysel modellerin doğru embriyogenezi

Şekil 1. *Bilim dünyasında oldukça ses getiren, MIT Technology Review tarafından çığır açanlar listesine giren bu çalışmamız memeli embriyosunun yaşam döngüsünde bugüne kadar erişilemeyen bir evreyi deneysel çalışmalara açmış oldu.*

taklit etmekteki başarısızlığının temel nedeni ise, EKH'lere adeta rehberlik edecek ve gerekli sinyalleri sağlayacak olan embriyo-dışı (ekstra-embriyonik) dokuların bu süreçlerde yer almamasıydı. 2017 yılının Mart ayında **Science** dergisinde yayınlanan çalışmamızda farelere ait EKH'lerin trofoblast kök hücreleri (TKH) ile birlikte, Matrigel® olarak adlandırılan, üç boyutlu hücre dışı matriks iskeleti içerisinde birleştirilmesi ile 'embriyo-benzeri yapılar' oluşturduklarını gösterdik [Harrison SE, Sozen B ve ark. Science 14; 356, 2017]. Bu yapılar sadece doğru embriyo mimarisini oluşturmakla kalmayıp, implantasyondan gastrülasyona kadar süregelen erken embriyogenez basamaklarını da doğru uzay-zamansal bir düzemde başarıyla gerçekleştirdiler (***Şekil 1***).



© Nature Cell Biology

Şekil 2. *Üç farklı kök hücre tipinin oluşturduğu ETX embriyo görülmekte. DAPI (lacivert) tüm hücre çekirdeklerini gösterirken gri (Gata6) embriyon-dışı endodermi, Oct4 (kırmızı) embriyonik kök hücreleri, Tfap2c (mavi) trofoblastları göstermekte.*

Sıra Geldi Embriyo Dışındaki Hücreleri Eklemeye…

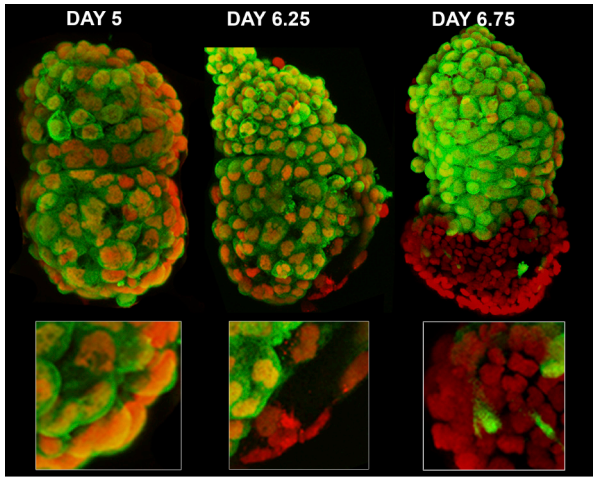
2017 yılındaki Science yayınında yer alan, iki farklı kök hücrenin birlikteliğiyle oluşan embriyo benzeri hücre kütlesi, erken embriyogenezi taklit etmekte olağanüstü bir yeteneğe sahip olsalar da, doku katmanlarının şekillenmesi ve devamında vücut eksenlerinin oluşumunu taklit etmekte yetersiz kaldılar. Bizce bunun temel nedeni, doğal bir embriyoda bulunan ancak bizim deneysel sistemimizde eksik olan ikinci embriyo-dışı hücre grubunun, ilkel endoderm (implantasyondan sonra visseral endoderm olarak anılır) hücrelerinin eksikliğiydi. Science yayınımızda kullandığımız üç boyutlu Matrigel ortamının hücre dışı bileşenleri sağlaması, doğal embriyogenezde ilkel endoderm dokusunun görevlerini taklit etmemizi sağlasa da, sadece kısmi bir bütünlük oluşturabilmişti.

Tüm bu öncül çalışmalarımızın ışığında gerçekleştirdiğimiz ve 2018 yılının Ağustos ayında **Nature Cell Biology** dergisinde yayınlanan çalışmamızda Matrigel ortamı yerine, "embriyo-dışı endoderm kök hücreleri" [*extra-embryonic endoderm (XEN)* stem cells] kullanarak yeni bir eş-kültür sistemi tasarladık [Sozen B. ve ark. Nature Cell Biol 20: 979-989, 2018]. Çalışmamızda, öncelikle, biri embriyonik, ikisi embriyo-dışı olmak üzere toplamda üç farklı kök hücre tipinin (EKH, TKH ve XEN) iş birliğiyle kendiliğinden gelişen embriyo benzeri yapılar oluştuğunu ve bunların doğal bir embriyoda bulunan üç öncül dokuyu eksiksiz olarak geliştirebildiğini gösterdik. Bu yapıları, kaynak aldıkları kök hücre tiplerinin baş harflerinden oluşan '**ETX embriyo**' olarak isimlendirdik.

ETX embriyolarını oluşturabilmek amacı ile, tek tür hücre süspansiyonu halindeki EKH, TKH ve XEN hücrelerinin Aggrewell® adı verilen mikro-kuyucuklu petri kaplarına ekimi yapıldı. Her bir mikro-kuyucuk içerisine ortalama 6 EKH, 16 THK, 4 XEN hücresi bir araya geldiğinde kendiliğinden organize olarak geliştiler ve 48-60 saat içerisinde ETX embriyolarını oluşturdular (***Şekil 2***). ETX embriyoları eş-kültürde yaklaşık 6 gün boyunca gelişimlerine devam ettiler.

Pekala; üç farklı kök hücre ortaklığıyla oluşan ETX embriyoları, 2017 yılında Science dergisinde yayınladığımız iki farklı kök hücre ve Matrigel® ile oluşturulan embriyo-benzeri yapılardan ne oranda farklıydı?

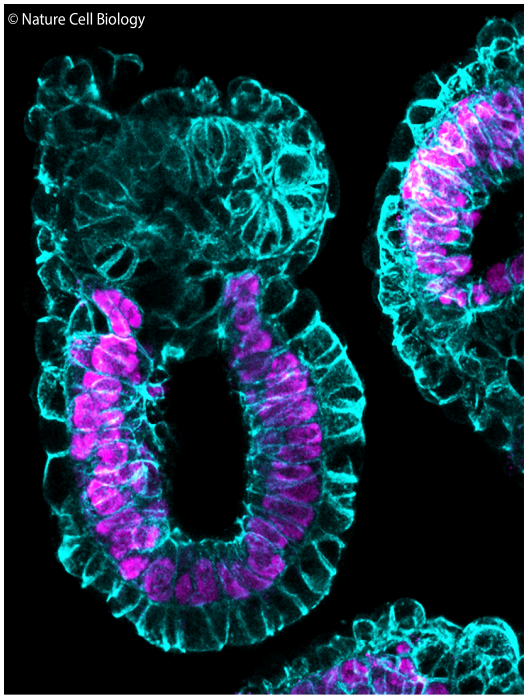
Öncelikle; kültürün 4. gününde, ektoderm tabakasını meydana getirmek için anterior sinyal merkezinin bir grup XEN hücresi tarafından oluşturulduğunu, bu merkezden NODAL sinyal inhibitörlerinin salgılandığını gördük. Doğal bir embriyoda olduğu gibi ETX embriyolarında da anterior bölgede inhibe olan NODAL sinyali 5. günde anterior bölgenin tam karşısındaki posterior bölgenin gelişimini indükleyerek NODAL, BMP ve WNT3 sinyalini baskın hâle getirdi. Böylece ETX embriyoları gastrülasyona girerek ilk vücut eksenini oluşturmuş oldular. Anterior bölgede inhibe olurken, posterior bölgede baskın hâle gelen NODAL, BMP ve WNT3 sinyalleri mezoderm tabakasının oluşacağı primitif çizgiyi oluşturdu ve epitel-mezenkim-geçişi (EMT) adı verilen yeniden yapılanmayı başlattı. Bilindiği üzere; embriyonik hücrelerin EMT dinamikleri gastrülasyonun başarılmasında esas olan hücresel bir dönüşüm mekanizmasıdır. EMT hareketlerini canlı yapılarda zaman aralıklı kayıtlarla incelediğimizde öncü mezoderm oluşumunundan sonra aksiyel mezoderm gibi ileri mezoderm tabakalanmasının da kültürün 5-6. günlerinde ETX embriyolarında gerçekleştiğini gördük. Doğal bir embriyoda aksiyel mezoderm bölgesi, üçüncü germ tabakası olan endoderm tabakasına kaynaklık eden bölgedir. Yani ilk iki germ tabakası olan ektoderm ve mezodermin oluşumundan sonra, üçüncü germ tabakası olan endoderm (*definitif endoderm*), aksiyel mezoderm bölgesinden gelişir ve embriyo-dışı kökenli olan visseral endodermin yerini alır. ETX embriyolarında, aksiyel mezoderm oluşumunun izlenmesinden yaklaşık 12-15 saat sonra, orijinal XEN tabakasının dağılarak, aksiyel mezodermden kaynak alan endoderm tabakasının XEN hücrelerinin yerini aldığını ve böylece üçüncü germ tabakasının oluştuğunu izledik (***Şekil 3*** *ve* ***Şekil 4***).



Şekil 3*. ETX embriyolarında üçüncü germ yaprağı olan endodermin uzay-zaman ekseninde oluşumu. Endojen olarak yeşil protein ifade eden XEN hücre tabakası zamana bağlı olarak dağılmaya başlar ve yerine kırmızı ile işaretlenmiş endoderm proteini (Foxa2) ifade eden hücreler germ tabakası endodermini oluşturur.* © Nature Cell Biology

Şangay'daki Çin Bilimler Akademisi'nden Prof. **Naihe Jing** ile gerçekleştirdiğimiz biyoenformatik iş birliğimiz sayesinde doğal ve kök-hücre kaynaklı embriyolarda gen haritalaması yapıldı. Genetik kıyaslamalarımız kültürün 6. günündeki ETX embriyosunun gastrülasyon ortası (mid-gastrula) olarak sınıflandırılan E7.0 evresi doğal bir embriyo ile çok yakından benzerlik gösterdiğini ortaya koydu.

ETX embriyoları üzerindeki araştırmalarımız, herhangi bir embriyonun yaşamında en kritik dönem olan gastrülasyonu kök hücre kaynaklı yapay sistemde izlememize olanak verdi. Gastrülasyon süresince oluşan üç germ tabakasının organizasyonu, literatürde ilk kez doğru uzay-zaman ekseninde, kök hücre kaynaklı embriyo benzeri yapılarda oluşturulmuş oldu. Bir başka deyişle, ETX embriyoları gerek morfolojik gerekse transkripsiyonel olarak doğal bir gastrula ile büyük ölçüde benzerlik gösterdi. Keşfimiz bu yönüyle, gastrülasyonun bilinmeyen sırlarına ışık tutuyor; memeli yaşamının başlangıcını daha iyi anlayabilmek için temel bilim araştırmacılarına yepyeni ve eşsiz bir araştırma platformu sağlıyor.


© Nature Cell Biology

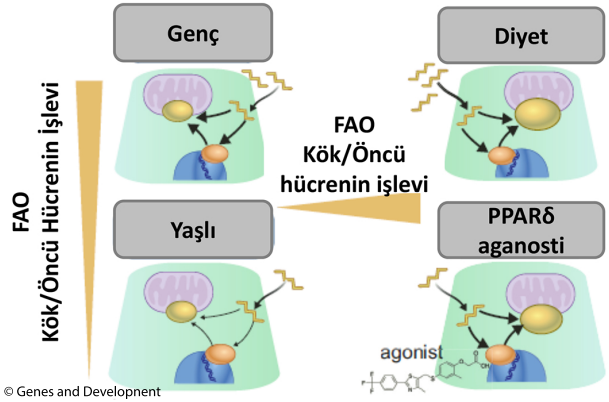
Şekil 4*. ETX embriyoları eş-kültürün 4. gününde izlenmekte. EKH'ler tarafından oluşturulan embriyonik epiblast (mavi-mor renkte), iki farklı embriyo dışı kök hücre grubu tarafından (cam göbeği rengindeki TKH ve XEN), çevrelenerek gastrülasyon için doğru hücresel sinyalleri embriyo-dışı dokulardan alıyor.*

Haber-Yorum

Açelya Yılmazer

Bağırsak Kök Hücrelerinin Tercihi Kısa Süreli Açlık!

Bağırsak kök hücreleri (BKH), kök hücre nişinin bir bileşeni olan Paneth hücrelerine bitişik olarak bağırsak kriptlerinin (tübüler salgı bezleri) dibinde bulunur ve beslenme biçimine yanıt olarak bağırsağın yüzey epitelini yeniden şekillendirir [Barker ve ark. Genes Dev. 22, 1856–1864, 2008]. Diyet, çeşitli organizmalarda doku yenilenmesi üzerinde büyük bir etkiye sahiptir ve aralıklı oruç gibi düşük kalorili beslenme durumlarının organizmanın üzerinde yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Örneğin, kalori kısıtlaması, Paneth hücre nişi kaynaklı değişiklikler ile BKH'nın işlevini kontrol ederken [Yilmaz ve ark. Nature 486, 490–495, 2012], yüksek yağlı diyetler ya da kolesterol açısından zengin diyetler BKH'yi ve öncül hücre işlevlerini doğrudan değiştirmektedir [Wang ve ark. Cell Stem Cell 22, 206–220.e4, 2018]. Öte yandan kısa süreli açlığa yanıt vermede yetişkin kök ve öncül hücrelerin rolü ve bunların yenilenmeye olan etkileri bilinmemekteydi. Massachusetts Institute of Technology'den **Dr. Ömer Yılmaz** ve ekibinin **Cell Stem Cell** dergisinin Mayıs ayında yayımlanan çalışması bu alandaki önemli noktaları aydınlatmış ve özellikle yağ asitlerinin ne şekilde yer aldığını göstermiştir [Mihaylova ve ark. Cell Stem Cell 22, 769–77, 2018].



© Genes and Development

Dr. Yılmaz ve ekibinin çalışmasında 24 saatlik oruca maruz kalan genç ve yaşlı farelerde BKH'nin **yağ asidi oksidasyonu (FAO)** programını başlatarak BKH'yi ve öncül hücre işlevlerini desteklediği belirtilmiştir. Hatta FAO programının farmakolojik olarak uyarılmasının orucun birçok etkisini taklit ettiği gösterilmiştir. Yaşlanmayla birlikte, FAO ile uyumlu olarak BKH'nin sayısında ve işlevinde da bir azalma gözlemlenirken, palmitik asit gibi FAO sübstratlarının kültür ortamına eklenmesiyle yaşlanma etkisinin BKH üzerindeki etkisinin ortadan kaldırılabileceği gösterilmiştir. FAO'da hız sınırlayıcı enzim olan Cpt1a'yı kodlayan genin akut bozulması, orucun BKH'yi artıran etkilerini ortadan kaldırırken, uzun süreli *Cpt1a* delesyonu BKH sayılarını ve işlevini azaltır. Bu veriler FAO'nun BKH'nin varlığı ve işlevleri bakımından ne kadar büyük rol oynadığını göstermekte. Elde edilen sonuçlar, orucun bağırsağın epitelinin yenilenme etkilerine aracılık etmede FAO'nun rolünü vurgulamakta ve bağırsak yenilenmesini artırmak için uygulanabilir bir stratejiyi temsil etmektedir.

Kök Hücre Biyolojisi

Özgür Çınar

Anne ve Babanın Kromozomlarının Zigotta Birbirine Karışmadığı Bulundu.

Science dergisinin 2018-Temmuz sayısında, Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı (*European Molecular Biology Laboratory*), Heidelberg, Almanya'dan **Dr. Jan Ellenberg ve ekibi** tarafından yayımlanan "**Zigotlardaki çift-mekik oluşumu erken memeli embriyolarında ebeveynlerin genomlarını birbirinden ayrı tutar**" şeklinde dilimize çevrilebilecek "*Dual-spindle formation in zygotes keeps parental genomes apart in early mammalian embryos*" başlıklı özgün araştırma makalesini [Reichmann ve ark., Science 361; 189-193, 2018] siz KHB okurları için özetlemek istiyorum.

Çalışmanın ilgi çekici özelliği, zigot oluşumuyla anne ve babadan gelen "n" kromozom sayılı pronükleusların (öncü çekirdekler) birleşmesine ilişkin klasik bilgilere daha yakında bakmasından ve önemli bir ayrıntıya açıklık getirmesinden kaynaklanmakta. İlk isim olarak **Dr. Judith Reichmann**'ın yer aldığı grup çalışmalarının ortaya çıkış amacını şu şekilde ifade etmekte; "Fertilizasyonla birlikte izlenen pronükleusların içindeki kromozomlar, çekirdek zarının yıkımından (ÇZY) sonra, etraflarında kurulan tek bir çift-kutuplu (bipolar) mikrotübülüs (MT) sisteminden oluşan mitoz mekiği ile karşı kutuplara çekilir" görüşü bugüne değin kabul edilmekle birlikte; memeli embriyolarının ışığa aşırı hassasiyetinden dolayı bu konunun ayrıntılarının net olmadığını ifade etmekte. Bu nedenle, bu çalışmada fototoksisitesi (mikroskopta kullanılan ışığın yarattığı toksik etki) daha az olan ışık tabakası (light sheet) mikroskopi yöntemi kullanarak, sentrozom ve MT'ler işaretlenerek anne-baba kromozomlarının nasıl bir araya geldiğinin araştırılması amaçlanmış. Araştırmacılar, çalışmanın ilk aşamasında, pronükleusların ÇZY'dan sonra anne ve babaya ait kromozomların iki ayrı çift kutuplu mekik yapıları içinde mitoza gittiği saptamışlar (***Şekil***). Neden kromozomların tek bir mekikte değil de iki ayrı mekik şeklinde geliştiğini anlamak için tdEos-Cep192 işaretlemesiyle MT organize edici merkezler işaretlendiğinde; sitoplazmadaki pek çok odakta izlenen bu yapıların ÇZY sonrası her bir pronükleusun kromozomlarının kutuplarında yoğunlaştıklarını ancak birbirleriyle kaynaşmadıklarını izlemişler. Bu bulgu, çift kutuplu iki ayrı mekik oluşmasının, "MT'lerin kromozomlardan köken aldığı (*nucleated*)" hipotezini kurmalarına neden olmuş; bunu sınamak için, bir MT depolimerize edici ajan olan nokodazol uygulayıp sonra uzaklaştırdıklarında; MT'lerin büyük çoğunluğunun erken pro-metafaz aşamasında kromozomlardan (kinetokorlardan, buradaki MTl'ere K-fiber, K-lifleri denmekte) köken alıp sonrasında MT organize edici merkezlerle ilişkiye girdiklerini izlemişler. Mekikteki K-liflerini incelemek için soğuk uygulaması sonrası zigotlar fikse edilip yüksek çözünürlükte incelenmiş ve iki adet çift-mekik oluşumunun erken pro-metafazda başlayıp orta pro-metafazda kararlı hâle geldiğini saptamışlar. Daha sonra; oluşan iki mekiğin işlevsel olarak bağımsız olup olmadığını görmek için anne ve baba kökenli kromozomların orta hatta dizilimlerinin zaman aralıklı yönelim analizini yapmışlar ve her iki mekiğin birbirlerinden bağımsız olarak ama eş zamanlı biçimde oluşup kromozomların karşı kutuplara çekildiğini fark etmişler.

© Science

Şekil *Prometafaz düzenlemine sahip iki adet mekik yapısı izlenmekte. Mikrotübülüsler (yeşil), Mikrotübülüs organize edici merkezler (mor), kinetokorlar (beyaz), kromozomlar (mavi).*

Klinikte in vitro fertilizasyon uygulamalarında zigotun bölünmesinin hatalara yatkın olduğu ve bu nedenle iki çekirdekli blastomerlere sahip embriyo gelişimleri izlenebildiği için, anafaz öncesi iki mekiğin hizalanma bozukluğunun bu duruma neden olacağı hipotezini kurmuşlar. Bunu sınamak için iki mekik arasında mesafe oluşturmak amacıyla nokozadol uygulaması yapmışlar ve mekik yönelim bozukluklarının; diğer bir değişle birbirine paralel olmayan anne ve baba mekiklerinin mitozu tamamlaması sonrasında iki çekirdekli blastomerlere neden olacağını göstermişler. Zigot aşamasında iki farklı mekiğin kurulması sonucu ebeveyn kromozomları birbirine karışmadığına göre, ne zaman bu karışımın olduğunu saptamak için canlı hibrid fare embriyolarının gelişimini izleyerek anne-baba kromozomlarının zigotta ayrı olduğu, ancak bunu izleyen bölünmelerde karışımın gerçekleştiğini bulmuşlar. Mitoz dinamiğinde rol oynayan ve kinezinle ilişkili protein olan Eg5 Monastrol ile, MT polimerizasyonu da nokodazol ile baskılanıp bu ajanların uzaklaştırılması sonrası mekik oluşumu izlendiğinde; önce nokodazol sonra Monastrol uygulaması ve uzaklaştırılması sonrasında, kontroldekine benzer şekilde iki mekik oluşurken; Monastrol sonrası nokodazol uygulaması ve uzaklaştırılması sonrasındaysa tek bir mekiğin oluştuğunu ve bunun her iki ebeveynin kromozomlarını da içerdiğini izlemişler. Mekik oluşumu sürecinde epigenetik etkileri izlemek için maternal (*5-Methylcytosin*) ve paternal (*5-Hydroxymethylcytosin*) yoğunluk ve dağılımını incelediklerinde epigenetik etkinin süreçte etkin olmadığını saptamışlar. Ne var ki, kanımca, makalede bu son iki bulgu yeterince tartışılmamıştır.

Makalenin son bölümündeyse, araştırmacılar, bu bulguların zigotun gerçekleştirdiği bölünme hatalarının mekanizmasının anlaşılması bakımından önemli olduğunu vurgulamakta ve insanda da konunun araştırılması gerektiğine ve elde edilecek sonucun etik ve yasal düzenlemeleri de etkileyebileceğini belirtmekteler.

Hematoloji-Onkoloji

Nahide Konuk

Graft Versus Host Hastalığı (GVHH)

GVHH, allojeneik hematopoetik kök hücre nakli (Allo-HKHN) sonrasında sık görülen (%25-55) ve bu uygulamaları çok kısıtlayan bir bozukluktur.

GVHH'da mortalite (ölüm) ve morbidite (organ ve doku bozukluğu) oranı yüksektir. Son yıllarda, gelişen yeni ilaçlar ve önlemlerle mortalite ve morbidite azalsa da hâlâ büyük bir sorundur ve GVHH, Allo-HKHN sonrası ikinci önemli ölüm nedenidir. Ancak, ölüm ve çeşitli organ bozukluklarının yanında, hastalığın faydalı bir yönü de vardır; graft versus lösemi (GVL); yani, vericinin hücrelerinin lösemik (kanser) hücrelerine karşı savaşmasıdır ve bu arzu edilen bir sonuçtur. GVHH gelişmeyen kişilerde, esas hastalık nüksü daha sık görülmektedir. GVHH'nın akut ve kronik olmak üzere iki klinik şekli vardır.

AKUT GVHH (aGVHH)

Sıklıkla, Allo-HKHN'den sonraki ilk 100 gün içinde ortaya çıkar. Ancak, daha geç, hatta kronik GVHH ile eşzamanlı da görülmektedir. Akut GVHH ağır sekeller bırakabilir, organ hasarları yapabilir, ölüme yol açabilir.

aGVHH Oluşmasının Temel Nedenleri

- Alıcı ila verici arasında doku uyumsuzluğu (HLA- A, B, C ve DR)
- Alıcının immün sisteminin yetersizliği (baskılanmış olabilir)
- İmmün sistemi normo-aktif bir verici

Alıcı ila verici arasındaki doku uyumu "tam uyumlu (%100) (*fullmatch*)" olsa bile GVHH gelişebilir. Bu duruma minör doku antijenlerinin (HA) neden olduğu düşünülmektedir, 50 kadar HA tanımlanmıştır.

aGVHH'de Risk Faktörleri

Alıcı ila verici arasındaki HLA uyumsuzlukları, cinsiyet farkı (kadından erkeğe nakil), vericinin doğum yapmış (hamile kalmış) olması, alıcı ila vericinin yaş farkı, kök hücrelerin kaynağı, hazırlık rejiminin yoğunluğu, başka ek hastalıkların varlığı (*comorbidity*).

aGVHH mekanizması karmaşıktır, halâ iyi anlaşılmamıştır. Deneysel modellere dayanarak, üç ardışık basamak teorisi ileri sürülmüştür; Aferent Faz, Eferent Faz, Efektör Faz.

Afferent Faz: Normal, fakat çok gürültülü bir inflamatuvar yanıttır. AlloHKHN'den önce, hazırlık evresinde uygulanan yoğun ilaç tedavileri ve esas hastalığın etkisi gibi nedenlerle alıcının dokuları hasar görür, Açığa çıkan hücresel ürünler ve sitokinler alıcının APC'leri üzerinde bulunan, MHC-I ve MHC-II antijen sunumunu ve adezyon moleküllerini artırır. Antijen sunumu; hücrenin, "o kişiye özgü" antijenleri, karşıt tarafa sergilemesi demektir. Alıcı dokularındaki APC aşırı düzeyde MHC-I ve MHC-II antijenleri sergilerler. Bu durumda nakil sonrası, alıcı dokuları, verici kökenli (karşı taraf) T lenfositlerin hedefi haline gelir. Verici T lenfositleri alıcı dokularını yabancı olarak algılar ve aktive olur. Çünkü normal her organizma, kendini tanıma (self recognition), kendinden olmayanı ayırt etme yeteneğine sahiptir; yabancı antijenler olan bakteri, virus, protein vs. tanır ve yok eder. Allo-HKHN'de alıcının vücudu esas hastalık, nakil öncesi hazırlama evresinde kullanılan ilaçlar ve radyoterapi gibi nedenler yüzünden immün yetersizlik içindedir. Yani bağışıklık sistemi yabancı antijenlere karşı savaşamaz. Tersine, vericinin bağışıklık sistemi normaldir; girdiği ortamın yabancı bir ortam olduğunu algılayarak aktifleşir; alıcının hedef dokularına karşı tepki verir. Zaten alıcı APC hücreleri de yoğun antijen sunumuyla, kendini çarpıcı hedef haline getirmiştir. Vericinin T lenfositleri çeşitli sitokinler salgılar; TNF-α, IL-1, IFN-γ, IL-6, IL-2 bunların en önemlileridir. Bu dönem iki taraf arasında bir sitokin fırtınası/savaşıdır. Bu arada, hazırlık tedavisinden zarar gören barsak epitelinden lipopolisakkarit yapısında bakteri kökenli makromoleküller dışarı sızarak aGVHH'e katkıda bulunur.

Terimler Sözlüğü

Graft	: Verici
Versus	: Karşı
Host	: Alıcı (konakçı)
Graft versus host	: Verici alıcıya karşı
Allojeneik	: Bir başka kişiden yapılan doku ve hücre nakli
HA	: Doku antijeni
GVL	: Vericinin alıcıda kanser hücrelerinin savaşması
Allo-HKHN	: Bir kişiye başka bir kişiden hematopoetik kök hücre nakli
APC	: Antijen sunan hücre
MHC	: Temel doku uyumluluğu
NK	: Doğal öldürücü hücre

Efferent Faz: Vericinin T lenfositleri aktive olur, çoğalır ve T lenfositlerin alt gruplarına farklılaşarak kendi topluluklarını oluşturur. Alıcı organizmada, sürekli biçimde verici kökenli immün reaksiyonlar zinciri süregelir.

Ortama çok sayıda, $CD4^+$ T lenfosit, $CD8^+$ sitotoksik T lenfosit, NK, makrofaj ve nötrofiller sevk edilir. Bunlar sürekli çoğalarak alıcıda sistemik, şiddetli bir inflamasyon tablosu oluşturur. Verici kökenli T lenfosit grupları ve diğer hücreler, sitokinler, özellikle, sitotoksik $CD8^+$ lenfositler, alıcının vücudunda yabancı olarak tanıdığı dokulara saldırmaya başlar. Başlıca hedefleri deri, karaciğer ve bağırsaklardır. Bunun dışındaki dokulara da hasar verebilirler.

Özetle; aGVHH alıcının verilen kök hücreyi reddetmesi değildir. Verilen kök hücrelerin geldiği yeri, yabancı antijen olarak algılaması ve normal işlevini yaparak kendine yabancı olanı yok etme savaşıdır; bunu "*Yavuz Hırsız, Ev sahibini Bastırır*" deyimiyle karikatürize edebiliriz.

Effektör Faz: Alıcının vücudunda gelişen, yoğun sitokin ve hücre çatışmaları sonucunda hedef dokularda yıkımın başlaması ve işlevlerin bozulması evresidir.

aGVHH'de Klinik Belirtiler

aGVHH'de klinik bulguların şiddeti hafiften ağıra doğru 1-4 derece arasında değerlendirilir (grade-I, 2, 3, 4).

Deri: En çok rastlanan (%80-85) GVHH bulgusudur. Deride lokal veya sistemik eritem en sık bulgudur (***Bkz. Şekil***). Özellikle el ayası, ayak tabanı, koltuk altı ve dirsek içi gibi bölgelerde gözlenir, tüm vücut cildinde yaygın da olabilir. Hafif bir kırmızılıktan yaygın, koyu kırmızı döküntülere kadar değişir. Deride, büller, veziküller, hatta epitel kaybı ve ülserasyonlar (grade IV) olabilir. Talaş (un) şeklinde deride soyulma, kepeklenme olabilir. Tüm derinin kaybedildiği (epidermolizis) çok ağır olgular vardır.

Karaciğer: Olguların %50'sinde görülür, cilt ile birlikte olabilir. Ciltte hafif veya koyu renk sarılık, idrar renginin koyulaşması karaciğer hasarını işaret eder. Karaciğer testleri bozulur. Bu durum, ilâç toksisitesi ve infeksiyonla karışabilir.

Bağırsak: En sık rastlanan belirtisi ishaldir. Ağır olgularda günde 10-20 kez, hatta daha sık, ciddi sıvı ve elektrolit kaybına yol açan, bazen kanlı ishaller olabilir. Tedavisi en zor GVHH sorunudur, ölümle

sonlanabilir. Tek başına bağırsak tutulumu seyrektir, karaciğer veya cilt tutulumu ile beraber olabilir.

Bu sistemlerin yanı sıra; nefes darlığı gibi akciğer bulguları, immün yetersizlik nedeniyle viral, bakteriyel, fungal infeksiyonlar sık görülebilir.

aGVHH'in Tanısı

Anamnez ve fizik muayene başlıca yardımcıdır. Bunların yanında çeşitli laboratuvar testleri, endoskopi ve doku biyopsisi ile tanı konur. Hazırlık evresinde kullanılan ilaçlar, radyoterapi toksisitesi, infeksiyonlar başlıca karıştığı durumlardır.

aGVHH'den Korunma

Nakilden 4-5 gün önce, kemoterapi ajanları, kortikosteroidler, kalsinörin inhibitörleri başta olmak üzere immün baskılama için çoklu ilaç uygulaması yapılır. Bazı durumlarda tüm vücuda radyoterapi uygulanır. Vericinin kök hücreleri içindeki T lenfositlerin ayıklanması (T lenfosit deplesyonu) da uygulamalar arasındadır. Bu yöntemler, alıcının bağışıklığını baskılar, aldığı iliği reddedemez, immün reaksiyon oluşturamaz.

aGVHH'in Tedavisi

aGVHH tanısı konunca tedavide yine immün baskılama yapılır; süregelen immün reaksiyonlar zinciri durdurulur. Kortikosteroidler, siklosporin, mikofenelat mofetil, Cellcept, ATG, monoklonal antikorlar gibi çok sayıda ilaç duruma göre devreye sokulur. Son yıllarda, mezankimal kök hücreler de GVHH tedavisinde yer bulmaktadır. İnfeksiyon varsa antibiyotik, antiviral, antifungal ilaçlar; sitopeni gelişiyorsa eritrosit ve trombosit transfüzyonu yapılır. Yeni tedavi yöntemleriyle ölüm ve organ bozuklukları azalmıştır. Ancak, aGVHH halen sorun olmaya devam etmektedir.

Devamı 28. sayıda

Bilişim, Biyoinformatik

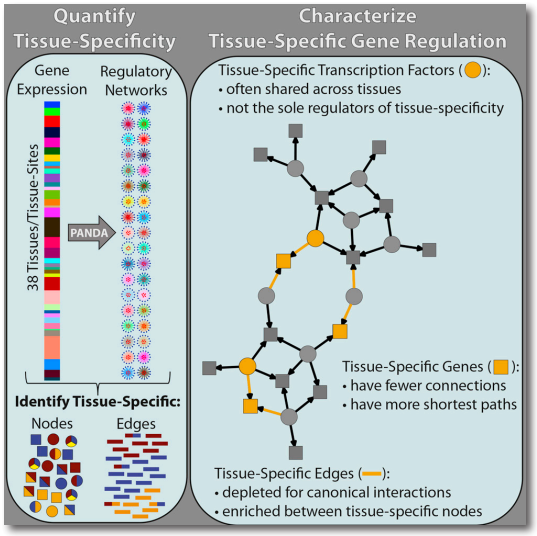
Duygu Kafkasyalı

Kök Hücreler ve Hücre Kimliğinin Evrimi

Kök hücreler, bir organizma içindeki sayısız hücre tipinden bir sınıfı oluşturur. Kendini yenileme potansiyeli ve farklılaşma kapasitesiyle, kök hücreler gelişimin çeşitli aşamalarında önemli rol oynar. Bu özelliklerinden dolayı tek hücre düzeyinde klonal olarak tanımlanmalı ve sonuç olarak yetişkin organizmanın dokuları içindeki hücrelerin küçük bir kısmını temsil etmelidir. Embriyo gelişiminin erken dönemlerinde, pluripotent kök hücreler tüm dokular için progenitör hücreleri temsil ederken, daha sonra gelişim aşamalarında dokuya özgü kök hücreler, oldukça uzmanlaşmış işlevlere sahip hücrelerin ortaya çıkmasına neden olur. Bu bağlamda hücrenin kimliği kavramı giderek evrimleşmekte ve bir hücre türünün bir başkasına dönüştürülmek üzere yeniden programlanması, transkripsiyon faktörleri aracılığıyla biçimlerinin ve hücresel özelliklerinin (her ikisi birden hücrenin kimliği olarak adlandırılabilir) sabit kalmasına ilişkin varsayımları köklü biçimde değiştirmiştir.

Multipotent kök hücreler yetişkin organizmanın dokularında söz konusu olan doğal rejenerasyon veya gerektiğinde rejeneratif tedaviler için oldukça değerli kaynaktır. Fakat sınırlı doğaları nedeniyle yetişkinlerdeki tüm potansiyel doku tedavileri için bir kaynak sağlayamazlar. Erişkinlerde kök hücre havuzlarından kalp, böbrek, pankreasın beta hücreleri ve beynin büyük bir kısmı gibi kolayca yenilenemeyen dokularda, sadece embriyonik gelişmeyi sağlayabilen farklılaşmaya yönelik ortaya çıkan pluripotent kök hücreler, gelecekteki hücre çalışmaları için bir umut olmayı sağlarlar. İlk kez Yamanaka'nın ortaya koyduğu yeniden programlama kök hücre biyolojisine ilişkin kavramları ve bakış açılarımızı değiştirmiş ve farklı hücresel durumların insan hastalıklarını modellemek ve yeni ilaçların uygulanmasıyla hücre temelli tedaviler geliştirmek için sonsuz olasılıklara dayalı pluripotensinin etkin bir şekilde yeniden programlanabilineceği fikrini ortaya çıkarmıştır.

Yeniden programlama teknolojisi; rejenerasyonun yanı sıra immün yetmezlik, Down sendromu ve Huntington hastalığı gibi genetik hastalıkların tedavisinde hastadan elde edilen uyarılmış pluripotent kök hücrenin gücünü anlamak için de kullanılmıştır. Gerçekten de; bu tür deneyler, bir hücrenin moleküler imzasının ve dolayısıyla işlevinin terapötik amaçlar için değiştirilebileceği kavramını daha da genişletmiştir. Ancak bu hücrelerin kendi doğal ortamlarına eşdeğer işlev gösterip göstermedikleri kök hücre biyologları arasında önemli bir soru olarak güncelliğini korumaktadır.



CellNet gibi algoritmalar (http://cellnet.hms.harvard.edu/) insan gelişimi için transkripsiyon yol haritasını tanımlayabilir. Böyle bir platform, hücre tiplerinin in vitro olarak farklılaştırılmasına yönelik çabaları büyük ölçüde kolaylaştıracak ve tıbbi uygulamalar için kök hücrelerin şifrelerinin çözülmesini sağlayarak kapasiteyi hızlandıracaktır. Diğer yandan kök hücreler için **GRN**'ler (*tissue-specific gene regulatory networks (GRNs)* arasındaki formasyon, stabilizasyon ve geçişleri tanımlayan moleküler mekanizmaların anlaşılması, hücre yapısına daha uygun biçimde in vitro mühendisliği gerçekleştirme, hücresel patolojiyi teşhis etme, tedavi ederek in vivo onarımı ve rejenerasyonu teşvik etme konusundaki gelecekteki çabalara yol açmayı vaat etmektedir (***Bkz. Şekil***). Dahası, GRN'lerin hücresel işlevlerin modülleri olarak anlaşılması, biyomedikal alan için yüksek derecede mühendislik işlevine sahip, yeni hibrit hücrelerin üretilebilme olasılığını da bizlere sunmaktadır.

Sizlerden Gelen...

Merhaba Alp Hocam,

Öncelikle Bültenin yeni sayısını aldım, çok güzel olmuş her zamanki gibi. 4. yıla geldiğimize inanamadım. En başta sizin ve diğer tüm katkı sağlayanlara teşekkür ederim. Kök hücre biliminde olanları güncel takip edebilme, yoğunluklar arasında kaybolmuş beynimizi boşaltmamıza yardımcı olup daha farklı açılardan düşünebilme şansı verdiğiniz için teşekkür ederim. ***Doç.Dr. Açelya Yılmazer***

Dear Alp;

Congratulations! 4th year!. Going very strong. Many more succesful years!. ***Kursad Turksen***

KONGRE, SEMPOZYUM ve KURSLAR

6th Cambridge International Stem Cell Symposium
19-21 Eylül 2018 - Cambridge, İngiltere

Alliance for Regenerative Medicine: Cell & Gene Meeting on the Mesa
3-5 Ekim 2018 - La Jolla, California, A.B.D.

CSHL Germ Cells
9-19 Ekim 2018 - New York, A.B.D.

Regenerative Biology and Applications: Cell Differentiation, Tissue Organization and Biomedical Engineering
15-19 Ekim - Hong Kong

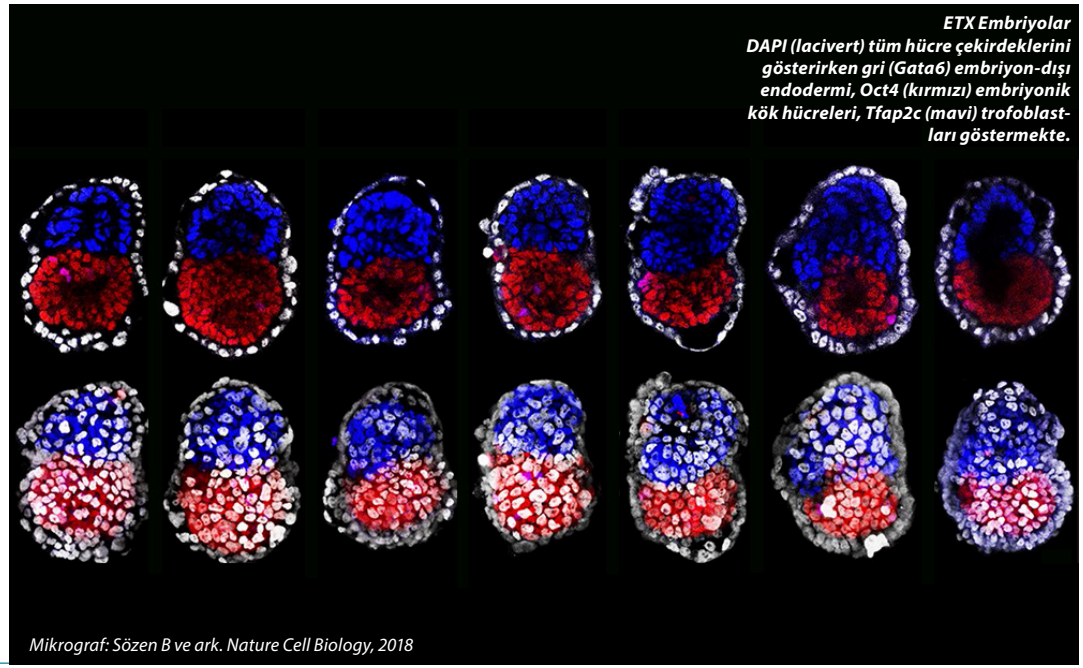
2018 Stem Cell Conference, New York Stem Cell Foundation
23-24 Ekim 2018 - New York, A.B.D.

Kök Hücre E-Bülteni **Sayı: 27 (Eylül-Ekim 2018)**
İki ayda bir yayınlanır. *www.kokhucrebulteni.com*
Yayınlananların sorumluluğu yazarlarına aittir.

Editör: Prof.Dr. Alp Can (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD.)

Bu sayıya katkıda bulunanlar; *(yazıların geliş sırasına göre)*
Prof.Dr. Nahide Konuk (Yaşam Bankası, FamiCord Group, Ankara)
Yrd. Doç.Dr. Açelya Yılmazer (Ankara Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Ankara)
Dr. Berna Sözen (Cambridge Üniversitesi , Fizyoloji, Gelişim ve Sinir Bilimleri Departmanı, Memeli Embriyo ve Kök Hücre Araştırma Laboratuvarı, İngiltere)
Prof. Dr. Özgür Çınar (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD.)
Duygu Kafkasyalı (Başkent Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü)

AYIN FOTOĞRAFI



ETX Embriyolar
DAPI (lacivert) tüm hücre çekirdeklerini gösterirken gri (Gata6) embriyon-dışı endodermi, Oct4 (kırmızı) embriyonik kök hücreleri, Tfap2c (mavi) trofoblastları göstermekte.

Mikrograf: Sözen B ve ark. Nature Cell Biology, 2018