ISSN: 2148-9815

Kök Hücre E-Bülteni

www.kokhucrebulteni.com
info@kokhucrebulteni.com

Sayı: 31
Temmuz-Ağustos-Eylül 2019

Editör'den

Alp Can

Sigaranın Etkisinden Enfekte Kök Hücrelere...

KHB'nin **31. sayı**sıyla hepinize tekrar merhaba. Bu sayıyla birlikte **KHB** 5. yılını doldurdu ve 6. yıla aynı enerji ve istekle devam ediyor. Bu süreç içinde okuyucu/izleyici sayımız iki bini geçti.

Son sayıdan bu yana kök hücre dünyasında yine önemli gelişmelere tanık olduk; bunlardan sizin için seçtiklerimizi bu sayıda ve önümüzdeki sayılarda paylaşıyor olacağız. Bir yandan da yapılmaya başlanan kök hücre konulu toplantıları da öncesinde ve sonrasında sizlere duyuruyor olacağız.

Bu sayıya ilk olarak 2018 yılının sonlarında ses getiren bir olayın haberini vererek başlamak istedik. ABD'de FDA tarafından onaylanmamış kök hücre girişimleri sonrasında 12 hastada meydana gelen şiddetli sepsis olgularını size duyurmak istedik. Ardından **Dr. İrem İnanç** Lazarov ve ark'nın Haziranda yayınladıkları ilginç çalışmayı **KHB** okurları için özetledi. Buna göre yaşlandığımızda da nöral kök hücrelerin gelişimi sürüyor. **Dr. Fatma Uysal Alaoğlu** pluripotent kök hücrelerin metilasyonuyla çocukluk çapı kanserlerinin metilasyonu arasında bazı benzerliklerin bulunduğuna dikkat çeken araştırmayı derledi. Organoid yazarımız **Dr. İrem İnanç** bu kez talamus-korteks organoizlerini konu alan bir derlemeyi **KHB** okurları için kaleme aldı.

Kısa süre sonra çalışmalarına Harvard Üniversitesinde sürdürecek olan **Dr. Hakan Coşkun** tek hücreden RNA dizileme yöntemiyle nikotinin embriyo gelişiminde ne gibi etkileri olduğunu gösteren bir çalışmayı derledi. Ardından **Dr. Gülben Akcan**, bu kez embriyolojik gelişimde erkek ve dişi gonadlarının ortak ve cinse özgü farklılaşma süreçlerinde hangi genlerin hangi zamanlarda ifadelendiğini insan fetüs materyali üzerinde gösteren bir çalışmayı **KHB** okurları için derledi.

Dr. Betül Tire, 30. sayımızda yer verdiğimiz insan embriyoları üzerinde gen kurgulama çalışmalarını konu alan çalışmaları anımsatan GATTACA isimli bilim kurgu filmini özetledi. Tüm sayılarımızda olduğu gibi son olarak **Kongre, Sempozyum ve Kurs** duyuruları ve **Ayın Fotoğrafı** yer alıyor.

32. sayıda buluşuncaya kadar hoşça kalın...

Haberler

Alp Can

Kanıtlanmamış Kök Hücre Girişimleriyle Oluşan Ölümcül Enfeksiyonlar...

Geçtiğimiz aylar içinde ABD'de kordon kanı kök hücrelerinin nakledilmesiyle kan pıhtılaşması, eklem ve sistemik enfeksiyonlarla öne çıkan toplam 12 hasta bildirildi. **Hastalık Kontrolü ve Önleme Merkezi**nden **Dr. Kiran M. Perkins** bu hastalarda enfeksiyona neden olan kök hücrelerin **Genetech Firması** (San Diego, California) tarafından üretildiğini ve **Liveyon LLC Firması** tarafından dağıtıldığını ifade etmekte. İlk bildirim 17 Eylül 2018'de Teksas'taki Devlet Sağlık Servisi Departmanından geldi. Üç olgunun kanındaki etken mikroorganizmalar *Enterobacter cloacae* ve *Citrobacter freundii* idi. Her üç hastada yapılan analizlerde kaynağın aynı olduğu saptandı. Bundan beş gün sonra, Florida Sağlık Departmanı eklemlerinde *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* ve *Proteus mirabilis* saptanan dört olguyu daha bildirdi. Bu dört olgu da Teksas'taki olaya da neden olan kaynaktan elde edilen kök hücreleri 15 Ocak-30 Ağustos 2018 tarihleri arasında bir ortopedi kliniğinde kanıtlanmamış bir tedavi şeması içinde eklem içine infüzyonla almışlardı. Florida'daki klinikte henüz açılmamış kültürlerde yapılan analizlerde hücre süspansiyonlarının *E. coli* ve *E. faecalis* içerdiği doğrulandı.

Liveyon firması bunun üzerine Genetech firmasından hücre alımını durdurarak 28 Eylül'de ürünleri geri toplama çağrısı yaptı. 4 Ekim'de Hastalık Kontrolü ve Önleme Merkezi ülke çapında bir duyuru yaparak Liveyon ürünlerini satın alanları rapor etmelerini istedi. Toplanan ürünlerde yukarıda adı geçen bakterilerin varlığı doğrulandı. Aralık ayının sonuna doğru Merkez toplam 12 olgunun varlığını raporladı. Tüm enjeksiyonlar eklem içine (inrta artiküler) yapılmıştı ve bunlardan 7 olgudaki neden sadece eklem ağrısını gidermek amacıyla uygulanmıştı. Sepsis ve eklem içi enfeksiyonun yanı sıra bazı olgularda omuz ekleminde enfeksiyon ve epidural abse de bildirildi.

Amerikan İlaç ve Gıda Ajansı (**FDA**) aralık ayının sonuna doğru "biyolojik tehlike" içeren, onaylanmamış ve halen geçerli olan GMP ve GTP standartlarına uymayan kök hücre ürünlerini sattıkları için Genetech firmasına bir uyarı mektubu gönderdi ve firmadan 15 gün içinde bir yazılı açıklama yapmasını talep etti.

Söz konusu durumda mağdur olan 12 hastadan 11'inde FDA'nın kök hücre tedavileri için uygunluğunu onaylamadığı bir durum söz konusuydu. FDA'nın kordon kanı hücrelerinin kullanımını onayladığı tek durum hematopoetik ve immünolojik geri kazanımı sağlamak amacıyla yapılan uygulamalardı. Neyse ki, yukarıda sözü edilen 12 hasta tedavi edildi ve yaşama geri döndürüldü.

Yapılan ileri araştırmalarla Teksas'ta henüz açılmamış ve *E. cloacae* içeren 6 şişe hücre daha bulundu.

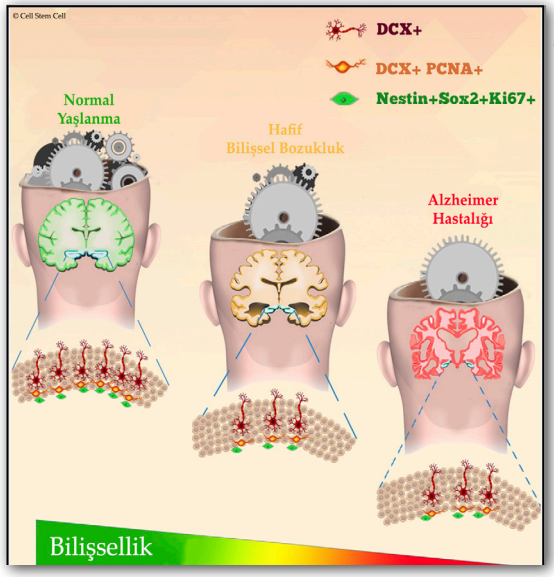
Devamı 3. sayfada

Haberler

İrem İnanç

Sinir Hücresinin Şaşırtıcı Gelişim Süreci...

Erişkinlerde nörogenezin yaşla birlikte azaldığı kemirgenlerde [Demars ve ark. Neurobiol Aging 34:2431-40, 2013], primatlarda [Aizawa ve ark. Neurobiol Aging 32: 140-50, 2011] ve insanlarda [Bergmann ve ark. Perspect Biol 7: a018994, 2015] açık bir biçimde ortaya konmasına rağmen insan beyninin hipokampüs bölgesinde nörogenezin yetişkinde de sürdüğü düşünülmektedir [Kempermann ve ark. Cell Stem Cell 23: 25-30, 2018]. 2018 yılında Sorrells ve ark.'nın yaptığı çalışmada [Sorrells ve ark, Nature 555: 377-381, 2018] hipokampüs bölgesindeki nörogenezin ergenlikten sonra sürüp sürmediğinin ortaya konması "nörogenez" konusunun halen tartışmaya ve gelişmeye açık olduğunun kanıtıdır. Son olarak Haziran 2019'da *Cell Stem Cell*'de yayınlanan **Lazarov ve ark**.'nın yapmış olduğu araştırma [Tobin ve ark. Cell Stem Cell 24: 974-982, 2019] bu tartışmaları farklı bir noktaya taşımış gibi gözükmekte.



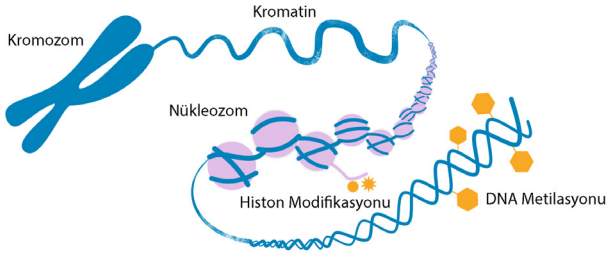
Araştırmada 79-99 yaş aralığındaki 18 kişinin ölüm sonrası hipokampüs dokuları alınmış ve bilişsel bozukluğu olmayan, orta derecede bilişsel bozukluğu olan ve Alzheimer hastalığı olan yaşlı bireyler üç gruba ayrılarak bu gruplarda nörogenezin sürüp sürmediği belirlenmeye çalışılmış. Hipokampüs, bu amaçla nöral progenitör hücreler, prolifere olan nöral progenitör hücreler, nöroblastlar ve immatür nöronlar açısından değerlendirilmiş. Araştırmanın en çarpıcı yanı orta derecede bilişsel bozukluğu ve Alzheimer hastalığı olan gruplarda hipokampüste nörogenezin sürdüğünün ortaya konması. Çalışmanın önemli yanlarından diğeriyse; orta derecede bozukluğu olan bireyle- bozukluğu olmayan göre nöroblast hücre daha az olması ve bilişsel bozukluğu olmayan kişilerin çok daha işlevsel sinaptik proteinlere sahip olduğunun belirlenmesidir. Bu araştırma nörogenezin derecesinin bilişsel durumla ilişkili olduğunu ve nörogenezdeki azalmanın Alzheimer hastalığının erken döneminde gerçekleşen bir olay olabileceğine dair kanıtlar sunmakta.

Pluripotent Hücreler

Fatma Uysal Alaoğlu

Yeniden Programlama Sırasındaki DNA Metilasyonu Tümör Gelişimine Işık Tutabilir!

Pluripotent kök hücreler (PKH) kendini yenileyebilme ve çeşitli hücrelere dönüşebilme özelliğine sahip olmasından dolayı rejeneratif tıp ve hastalık modellemelerinde kullanılan eşsiz hücrelerdir. Farede PKH, naif (*naive*) ve uyarılmış (*primed*) olmak üzere iki düzeyde bulunur. Naif PKH iç hücre kütlesinden türerken, uyarılmış PKH ise implantasyon sonrası epiblasttan köken alır. Naif ve uyarılmış PKH farklı transkripsiyon, epigenetik ve gelişme potensiyeline sahiptir. Genomun damgalanması (*imprinting*), parental genlerden sadece paternal ya da maternal olanların ifade edilmesi anlamına gelir ve DNA'nın metilasyonu tarafından kontrol edilir. DNA metilasyonu genel olarak Sitozin-fosfat-Guanin (CpG) adacıklarında yerleşik olan sitozin uzantılarının beşinci karbon atomuna metil grubu takılmasıyla gerçekleştirilir. DNA metilasyonu, sürdürme (*maintenance*) ve yeni baştan (*de novo*) metilasyon olmak üzere iki farklı şekilde meydana gelir. Her iki mekanizma da DNA metiltransferaz (DNMT) enzimleri tarafından katalizlenir. DNMT1 sürdürme metilasyonunda görevliyken DNMT3A ise yeni baştan metilasyonda önemli ve öncül göreve sahiptir [Uysal ve ark. Biochimie 116: 103-13, 2015]. DNA metilasyonu her süreç için doğru kurulması gereken ana şalter niteliğindedir. Çünkü, hiper ya da hipometilasyonun özellikle damgalanan genlerin ifadesinde bozulmaya ve bunun da gelişim bozukluğu ya da tümör oluşumuna sebep olduğu uzun yıllar önce gösterilmiştir [Kato ve ark. Development 126: 1823-32, 1999; Steenman ve ark. Nat Genet 7: 433-9, 1994]. Somatik hücrelerde CpG adacıkları yeni baştan metilasyondan korunurken kanser hücrelerinde ise DNA hipermetilasyonu bulunmuştur.



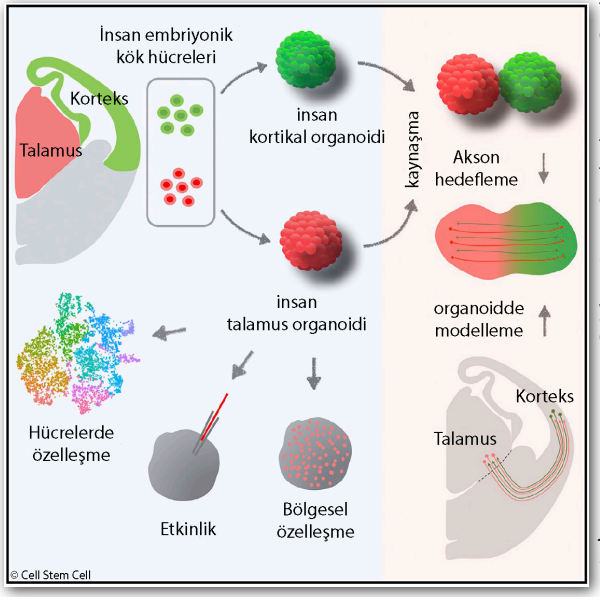
Geçtiğimiz aylarda **Yagi ve ark.**'nın *Stem Cell Reports* dergisinde yayınladıkları çalışmada somatik hücrenin yeniden programlanmasıyla naif ve uyarılmış PKH düzeyine dönüşüm sırasında epigenetik kararlılığı aydınlatan kapsamlı metilasyon analizi yapılmıştır [Yagi ve ark. Stem Cell Reports 12: 1113-1128, 2019]. Sonuçlar, bu süreçte genel olarak yeni baştan metilasyonun hâkim olduğunu göstermiş; bununla uyumlu olarak, paternal genomun metile bölgelerindeki anormal yeni baştan metilasyon, hem indüklenmiş pluripotent kök hücrelerde (iPKH) hem de indüklenmiş epiblast kök hücrelerinde (iEKH) bulunmuştur. Buna karşın, uyarılmış düzeydeki iEKH'de maternal genom bölgelerinde de DNA hipermetilasyonu bulunmuştur. Buna ek olarak, insan iPKH'de de CpG bölgelerinde anormal metilasyon gözlenmiştir. Anormal metilasyon özellikle damgalanmış genlerin yanlış ifadelenmesine neden olduğu için oldukça önemlidir. Örneğin H19 geni normal gelişim için kritik bir gendir [Kono ve ark. Nature 428; 860-4, 2004]; bu genin anormal metilasyonu hastalıklara neden olur. Damgalanma bölgelerindeki metilasyonda varyasyonların olabileceği dikkate alınmalıdır Araştırmacılar bazı iPKH de hipometilasyon gözlemleseler de genel olarak yeni baştan metilasyonun hâkim olduğunu ve yeniden programlama genlerinin susturulmasına neden olduğunu göstermektedir. DNMT3A'nın hem fare hem de insanlarda damgalanma bölgelerindeki metilasyona katkıda bulunduğu gösterilse de yeni baştan metilasyonda kesin mekanizma hâlâ belirsizdir. Araştırmacılar aynı zamanda çocukluk çağı kanserlerinde de anormal metilasyonun varlığını göstermişlerdir. Erişkin kanserlerde de anormal epigenetik değişimler görülse de çocukluk çağı kanserlerle arasında farklılıkların olduğu saptanmıştır. Çocukluk çağı kanserleriyle iPKH'ler arasında epigenetik değişim açısından benzerliklerin olduğu dikkat çekmektedir. Dolayısıyla yeniden programla sırasında epigenetik sapmalar çocukluk çağı kanserlerinin gelişimine neden olabilir. Bu bulgular, bu tür kanserlerin patogenezini anlamada ve PKH'in uygulanmasında önemli etkiye sahiptir.

Haber-Yorum

İrem İnanç

Organoid Teknolojisinde Son Perde: Talamus-Korteks Organoidleri.

Son yıllarda ortaya çıkan organoid teknolojisiyle in vitro koşullarda bir Petri kabında organ gelişiminin derinliklerini inceleyebiliyor ve hastalıkları modelleyebiliyoruz. "Daha ne yapılabilir?" derken 21 Şubat 2019'da Cell Stem Cell dergisinde Xiang ve ark.'nın yayınladığı çalışmayla [Xiang ve ark, Cell Stem Cells 24: 487-497, 2019] bir üst düzeye çıkıldığına tanık olduk. Pekâlâ; bu çalışmayı bu kadar önemli kılan ne? İnsan beyin organoidleri de tıpkı diğer organoidler gibi hem gelişimsel süreçleri hem de hastalıkları modellemede oldukça önemli bir noktada. Özellikle ön beyin hastalıklarıyla ilişkisinden dolayı telensefalonun in vitro koşullarda modellenmesi üzerinde oldukça büyük bir çaba bulunmakta. Korteks ile çevre dokular arasında önemli bir aktarım alanı olan talamus ise üç boyutlu (3D) organoid teknolojisiyle bugüne dek modellenmemişti; ta ki, bu çalışmaya kadar! Araştırmacıların öncelikli hedefi insan embriyonik kök hücrelerinden talamus benzeri beyin organoidlerini geliştirebilmekti. Bu organoidleri geliştirebilmek için durağan (statik)-döner (spinning) kültür stratejisi uygulanmış. Öncelikli olarak embriyonik kök hücrelerden embriyonumsu cisimler geliştirip ikili SMAD baskılamasıyla erken nöroektoderm gelişimi sağlanmış. Talamus ön beynin arkasından geliştiği için beynin bölümlerinin embriyolojik süreçte yerleşimiyle ilgili farklılaşmalar da (kaudalizasyon) oldukça önemli. Bu süreci in vitro koşullarda taklit edebilmek için kültür ortamına insülin eklenmiş.



Yaklaşık bir hafta boyunca durağan kültür ortamında sinir hücrelerinin uyarımı sağlandıktan sonra döner kültür ortamına geçilmiş. Aşırı kaudalizasyon engellenip kemik morfogenetik protein 7 (BMP7) ile talamus farklılaşması sağlanmış. Gelişmekte olan beyin organoidleri son olarak farklılaşma ve olgunlaşma sürecine bırakılmış. Benzer bir stratejiyle mediyan gangliyonik eminens ve korteks benzeri organoidler de geliştirilmiş. Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonuyla kaudal ön beyin belirteci olan OTX2'nin talamus organoidlerinde hem erken (18. gün) hem de geç (41. gün) dönem gelişimleri aşamasında diğer organoidlere göre daha fazla olduğu belirlenmiş. Benzer şekilde ventral talamus belirteci olan DBX1'in talamus benzeri organoidlerde belirgin olarak arttığı gözlenmiş. Talamusun marjinal bölgesi için bir belirteç olan GBX2 ise daha uzun süreli kültür (41. gün) ortamında talamus organoidlerinde ortaya çıkması bu organoidlerin in vivo koşullara benzer özellikler gösterdiğini işaret etmekte. Aynı zamanda talamus benzeri organoidlerde glutamaterjik nöronların baskın olduğu belirlenmiş. Bir sonraki aşamada in vivo koşullarda talamustan kortekse, korteksten talamusa karşılıklı akson uzantılarının gelişimini in vitro koşullarda taklit edebilmek için geliştirilen korteks benzeri ve talamus benzeri organoidler birleştirilmiş. Birleştirilen bu yapılara talamus-korteks organoidleri adı verilmiş. Peki ya sonuç? Sonuç bu güne kadar kemirgenler üzerinde yapılan birkaç modelleme haricinde ilk kez in vitro koşullarda insan embriyonik kök hücreleriyle talamus-korteks arasında karşılıklı akson uzantıları organoid teknolojisiyle bilim dünyasına sunuldu. Bu çalışmanın doğrultusunda bir sonraki aşamada talamus ilişkili nörolojik bozukluklar, otizm spektrum bozukluğu, şizofreni ve epilepsi gibi hastalıkların modellenmesi beklentiler arasında.

Kök Hücre Biyolojisi

Hakan Coşkun

Nikotin Yaşamı Erken Dönemden Başlayarak Etkiliyor!...

Gebelik süresince tütün ve tütün ürünleri kullanımının fetüste bazı gelişim sorunlarına yol açtığı, düşük ve erken doğum gibi olaylara neden olduğu bilinmekte [Jaddoe ve ark. Paediatr Perinat Epidemiol 22:162-171, 2008]. Yetişkin dönemdeyse sinir sistemi, kalp-damar, solunum, endokrin ve metabolizmada görülen problemlerle doğrudan ilişkisi olduğu gösterilmiştir [Holbrook. Birth Defects Res C Embryo Today 108:181-192, 2016]. Tütünün temel kimyasal bileşenlerinden biri olan nikotin, yukarıda sayılan risk faktörlerinin oluşumunda baş rolü oynamakta. Tütünün kullanımı azaltmak için günümüzde sıkça kullanılan elektronik sigaralar da ne yazık ki nikotin içermekte. Nikotinin insan sağlığı üzerine etkilerini araştıran farklı çalışmalar olmakla birlikte, insan embriyosu gelişimi üzerine olan etkileri daha az bilinmekte. Geçtiğimiz ay ***Stem Cell Reports***'ta Stansford Üniversitesinden Dr. **H. Guo ve ark.** tarafından yapılan çalışmada insan embriyonu kök hücrelerinden geliştirilen embriyonik yapılar (iEKH-EY) üzerine nikotinin etkileri, günümüzün en popüler tekniklerinden biri olan tek hücreden elde edilen RNA'ların dizilenmesi ve analizi yöntemi kullanılarak araştırılmış [Guo ve ark. Stem Cell Reports 12: 772-786, 2019]. Nikotinli ve nikotinsiz ortamlarda 21 gün boyunca kültür edilen iEKH-EY'lardan elde edilen toplamda 12.500 hücrenin RNA dizi analizini yapan araştırmacılar çarpıcı sonuçlar elde etmişler.

İlk olarak nikotinli veya kontrol ortamında geliştirilen embriyonik yapılardan hücreleri ayrıştıran ve daha sonra tek hücre boyutunda RNA izolasyonunu gerçekleştiren araştırmacılar, elde ettikleri verileri farklı kümeler oluşturarak analiz etmişler. Yapılan analizler sonucunda sinir, karaciğer, stroma, endotel, epitel ve kas hücresi olmak üzere altı temel tipte öncül hücre belirlemişler. Biyoinfomatik analizlerin ardından yapılan deneylerde ilk olarak nitokinin hücre tipine özgü verdiği etkileri saptamaya çalışan araştırmacılar, farklılaşan embriyonik yapılarda farklı hücrelerin çeşitli şekillerde etkilediğini gözlemlemişler. Yaptıkları analizlerde nikotin artışıyla birlikte embriyonik yapılarda epitel öncüsü hücrelerde %5 azalma gözlemlenirken, karaciğer öncüsü hücrelerde %4'lük artış saptamışlar. Yine nikotin artışı ile birlikte sinir öncüsü hücrelerde sinaps bağlantıları ve beyin hasarları oluşumuyla ilişkili olduğu bilinen genlerden APOE, TUBA1A ve NDUFC2 genlerinin ifadesinin anormal derecede arttığını gözlemlemişler. Kas öncüsü hücrelerdeyse nikotine bağlı olarak artan HSP90AA1 ifadesinin kas gelişimini etkilediği ve kas hastalıklarına neden olduğu daha önce yapılan çalışmalar tarafından gösterilmiş [Armant ve ark. Data Brief 8: 61-68, 2016; Etard ve ark. Genome Biol 16: 267, 2015].

Sonrasında, embriyonik yapının gelişimi boyunca farklı aşamalarda ifade olan genlerin analiziyle uzun dönem nikotin etkisinde kalmanın apopitoz ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu artırdığını bulan araştırmacılar, nikotin ile karşılaşmış olan embriyonik yapıların kontrol grubundan daha küçük olduğunu ve hücre canlılığının anlamlı biçimde azaldığını göstermişler. Bununla birlikte, nikotin verilen grupta mitozun evrelerini incelediklerinde endotel hücrelerinde G1 fazında %12 kısalma, G2/M ve S fazlarında %6 uzama gözlenmiş. Stromal hücrelerde ise G1 fazında %11 kısalma, S fazında %12 uzama görülürken, kas öncüsü hücrelerdeyse ilginç biçimde G1 fazında %20 kısalma, S fazında %15 uzama gözlenmiş. Sonuç olarak, nikotine maruz kalmak, ROS oluşumunu ve hücre ölümünü artırırken, endotel, stromal ve kas hücrelerinde hücre döngüsünü etkilemekte.

Sigara içmek ve nikotin kullanımının daha önce sözünü ettiğimiz bazı patolojik olguların nedeni olarak bilinmesiyle birlikte, hücre-hücre iletişimi üzerine etkileri henüz tam

olarak anlaşılmış değil. Bu çalışmada, kontrol ve nikotine maruz kalmış gruplarda hücre-hücre bağlantılarını inceleyen Gou ve ark. nikotinli gruptaki embriyonik yapılarda hücreler arasındaki iletişimin arttığını gözlemlemişler. Örneğin, kas öncü hücrelerde bulunan otokrin etkileşimi sağlayan ligand-reseptör çiftleri 51'den 85'e yükselirken, kas dokusu ile sinir dokusu arasındaki iletişimde rol oynayan ligand-reseptör çiftlerinin sayısı 47'den 71'e yükselmiş. Buna göre nikotin, farklılaşan embriyonik yapılarda hücre-hücre bağlantılarını bozmakta.

Hayvan modelinde yapılan çalışmalarda, nikotinin hücre içindeki kalsiyum dengesini bozduğu bilenmekte [Hu ve ark. PLoS One 8:e57151, 2013]. İnsan kökenli model kullanarak, hücre içi sinyal yolaklarında rol alan gen gruplarını da ele alan bilim insanları yaptıkları analizler sonucunda, nikotinin HMBG1-TLR4 sinyal yolağını etkileyerek kalp kası hücrelerindeki kalsiyum dengesini bozduğunu göstermişler. Yaptıkları analizlerde, nikotine maruz kalan insan embriyosu kök hücresinden farklılaşmış olan kalp kası hücrelerinde HMGB1 geninin ifadesinin 90 kat arttığını göstermişler. Buna göre nikotin alımı, hücrelerdeki kalsiyum oranını anormal düzeyde artırarak kalsiyuma bağlı ritim bozukluğuna neden olmakta.

Günümüzde tütün ve tütün ürünlerinin insan sağlığı üzerine etkileri farklı model ve teknikler kullanılarak araştırılmakta. Tütün içerisinde bulunan çeşitli kimyasallar hücrenin en korunaklı yapısı olan DNA üzerinde bile hasara neden olurken, RNA, proteinlerin yapı ve görevlerini de olumsuz yönde etkilemekte. Bu kimyasallardan birisi de nikotin. Bu yazıda ele aldığımız araştırmada, ilk kez insan hücreleri kullanılarak nikotinin erken embriyonik dönemde farklılaşan öncü hücreler üzerine etkileri tek hücre RNA dizileme teknolojisi kullanılarak yüksek düzeyde bilgi çözünürlüğüyle bizlere sunulmuş durumda. Nikotinin, hücre farklılaşması, hücre çoğalması, hücre-hücre ilişkileri ve hücre içinde kalsiyum bağımlı sinyal yolakları üzerine olan etkileri gösterilmiştir. Bu bağlamda; bizlerin, özellikle de anne ve anne adaylarının bu sonuçları düşünerek kendi sağlığına ve bebeğinin sağlığına dikkat etmesi önem arz etmekte. Hatırlatmak isteriz ki, "Sağlıklı birey sağlıklı aileyi, sağlıklı aile sağlıklı toplumu oluşturur."

Baş tarafı 1. sayfada

Kanıtlanmamış Kök Hücre Girişimleriyle Oluşan Ölümcül Enfeksiyonlar...

Bunlardan beşi *C. freundii* de içermekteydi. Bunlara ek olarak Florida'da başka bir vericiden alınan dört şişe kök hücre süspansiyonunda da *E. coli* ve *E. faecalis* saptandı.

İlk veriler bakteri kontaminasyonunun hücrelerin dağıtılmadan meydana geldiğini göstermekte. Bunun olası nedenleri kordon kanının toplandıktan sonra steril edilmemesi veya kontamine ürünlerle karıştırılması olarak belirtilmekte. Her iki firmanın FDA tarafından yapılan kayıtları ürünlerin onaylandığı anlamına gelmemekte.

Konu ülkede ve kök hücre çevrelerinde tartışma yarattı ve özellikle polikliniklerde ortopedik, nörolojik ve romatolojik nedenlerle FDA onayının bulunmadığı çok sayıda kök hücre girişiminin yapılabildiğine dikkat çekildi. FDA de hastalara bu tür tedavi girişimlerine rağbet etmemelerini, sadece kontrollü klinik çalışmalarda yer almaları yönünde tavsiyede bulundu.

Soruşturma halen sürmekte. Bu süreç içinde sağlık hizmetleri sunanların Genetech/Liveyon firmalarının ürünlerinden kaynaklanan istemeyen yan etkileri FDA'ya raporlamaları tekrar hatırlatıldı.

Kök Hücre Biyolojisi

Gülben Akcan

Erkek ve Dişide Gonadların Gelişim Zamanlaması Haritalandı...

İnsan embriyosunun ve ardından gelişen fetüsün gonadlarında cinsiyete özgü farklılaşmanın ve steroid hormonların (erkekte testosteron, kadında östrojen) sentezinin başlamasını düzenleyen kilit genlerin zamana bağlı ifade bulmaları hâlâ araştırılması beklenen konular arasındadır. Kopenhag Üniversitesinden **Dr. Linn S. Mamsen ve ark.**, ilk kez ayrıntılı bir haritayla bu konuya açıklık getirmiş ve çalışmaları Kasım 2017'de **Scientific Reports** dergisinde yer almıştır [Mamsen ve ark. Stem Cell Rep, 7: 15961, 2017]. Bu çalışmada cinsiyete göre farklılaşmanın ve buna bağlı gelişimde önemi olan yeni genler (*GLI1*, *ETV5* ve *WNT2B*) tanımlanmış; embriyodaki gonadların gelişimi sırasında annenin sigara tüketiminin fetüsteki germ hücresi sayısını ve ileride doğurganlığı etkileyip etkilemediği de irdelenmiştir. Daha önce farede yapılan çalışmalarda önemli bilgiler elde edilmiş ve cinsiyet farklılaşmasına ilişkin insandakine benzer mekanizmalar görülmüştür [Breschi ve ark., Nat Rev Genet, 18: 425-440, 2017]. Artan kanıtlar, türler arasındaki farklılıkların cinsiyet farklılaşması mekanizmalarında da bulunduğunu ve insan üzerinde yapılan çalışmaların, diğer türlerde görülen sonuçları doğrulamak için gerekli olduğunu ortaya koymakta. Örneğin; *DAX1* genindeki bir mutasyon, insanda, böbreküstü bezi hipoplazisine ve hipogonadotropik hipogonadizme yol açarken [Muscatelli ve ark. Nature 372: 672-6, 1994], farede gonad gelişimine ve spermatogenez üzerine hiçbir etkisi yoktur [Yu ve ark. Nat Genet 20: 353-7, 1998]. Gonadların cinsiyete özgü farklılaşmasında rol oynayan mekanizmaların, insanda kesin zamanlaması hâlâ belirsizdir. Bu nedenle bu çalışmada, 67 adet insan embriyosu ve fetüsünde elde edilen ovaryumda (birinci trimesterde düşük yapan kişilerden) ve testislerinde tüm genom ifadelenmesi değerlendirilmiş, bulgular kantitatif PCR ve immünohistokimya ile doğrulanmıştır.

Çalışmanın ayrıntısına geçmeden önce gonad gelişimine kısaca bakacak olursak; özelikle gelişimin 7. haftasından sonra en önemli belirleyici faktör, Y kromozomunun kısa kolundaki *SRY* (Sex belirleyici bölge) genidir [Jeske ve ark. Nat Genet 10: 480-2, 1995]. Bu genin protein ürünü olan testis belirleyici faktör (TBF-*Testis Determining Factor-TDF*) gelişmemiş durumdaki cinsiyet organlarını farklılaştıran genleri harekete geçiren bir transkripsiyon faktörüdür. Bu faktörün varlığında fetüsün cinsiyeti erkek yönünde, yokluğunda ise dişi yönde gelişir. Testis gelişimi için önemli bir transkripsiyon faktörü olan SOX9 *SRY* geni tarafından uyarılınca testisin farklılaşması başlar ve böylece ilk kez Sertoli hücrelerinde, AMH (Müllerian inhibitör madde, Anti Müllerian hormonu) ifadesi uyarılır [Behringer ve ark. Nature 345: 167-70, 1990]. Wilms Tümör 1 (Wt1), LIM homeobox proteini 9 (Lhx9), DAX1 ve Steroidogenik faktör 1 (SF1) her iki cinsiyette de gonad oluşumu için gerekli olan proteinler olarak bilinmektedir. Bunlara ek olarak, FGF9'un (Fibroblast Büyüme Faktörü 9) testis gelişimi sırasında epitel hücrelerinin çoğalmasını uyararak Sertoli hücrelerinin farklılaşmasını ve gelişmesini sağladığı gösterilmiştir [Ross ve Capel, Trends Endocrinol Metab 16: 19-25, 2005]. Dahası farede gen kapatma çalışmaları sonucunda Lhx9, Emx2, Wt1, Cbx2, Nr5a1, Six1/4 ve insülin reseptörlerini kodlayan genler olan *Igf1r/Irr/Ir* dâhil olmak üzere birçok genin, her iki cinsiyette de gonad kabartısının gelişmesinde rol oynadığı gösterilmiştir [Svingen ve Koopman, Genes Dev 27: 2409-26, 2013].

Dr. Mamsen ve ark.'nın sonuçları, her iki cinsiyette de gonad gelişimini sağlayan genlerin (*WT1* ve *SF1*) ifadesinin cinsiyetten bağımsız olarak gonadlarda yüksek oranda ifade edildiğini göstermiştir. *WT1* geni, ovaryum da sürekli olarak ifade edilirken, testisteki ifadesi zaman içinde önemli ölçüde azalmaktadır. *SF1* ise cinsiyet ve yaştan bağımsız olarak sabit biçimde ifade edilmektedir. Testisteki *SRY*'nin ifadesinin postkoital (cinsel birleşme sonrası) 44. günde oldukça yüksek olduğu ve ovaryumda ifade edilmediği gözlenmiştir. Buna karşın testiste *SOX9* geninin ifadesinin 48. günde yükseldiği ve testiste ovaryumdan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu bilgileri literatürden de biliyor olmamıza karşın bu genlerin insan gonadlarında ilk defa gün bazında ifadeleri çıkarılmış olup, çalışmada belirlenen yeni genlerin immünohistokimyasal analizlerine de yer verilmiştir.

Yeni cinsiyet belirleyici genler olan *GLI1*, *PTCH1*, *WNT2B* ve *ETV5*'in ifadeleri de saptanmış olup, özellikle memelilerde embriyogenez sırasında Hedgehog (Hh) molekül ailesinden olmaları ilginç olarak değerlendirilmiştir. Hh reseptör proteini PTCH1 ve GLI1 (transkripsiyon faktörü glioma-ilişkili onkojen homoloğu) ovaryumda anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuş, hem erkek hem de kadında yaşla ters oranda olduğu görülmüştür. Oysa, ovaryumda *ETV5* (ETS Varyant 5)'nin ifadesi, testise göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş ve yaşla pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. *RSPO1* ve *FOXL2* de postkoital 44. günde ovaryumda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. *KIT*, *OCT4* ve *LIN28A*'nın mRNA düzeyleri, bu genlerin güvenilir germ hücresi belirleyicileri olduğunu doğrulamaktadır.

Steroid sentezi ise kanda bulunan kolesterolden testosteron/östrojen sentezlenmesidir. Bu süreçte testiste yer alan Leydig hücrelerindeki ve ovaryumda yer alan folikül hücrelerindeki mitokondriyonlarda STAR (STeroidogenik Akut Regülatör) proteini, CYP/sitokrom enzimleri ve düz endoplazma retikulumlarında bulunan HSD (HidrokSteroid Dehidrogenaz enzimleri) rol oynamaktadır (13). Bu bilgiler ışığında steroid sentezinde rol oynayan genler olan *POR*, *STAR*, *CYP11A1*, *CYP17A1*, *HSD3β2*, *HSD17β3*, *HSD17β7* ve *LHCGR*'nin hepsi ovaryum ile karşılaştırıldığında testiste daha yüksek düzeylerde ifade edilmektedir. *CYP17A1*'nın 54. günden itibaren bazı Leydig hücrelerinde ifadelenmesi görülmüş; 60-64 günlük embriyodaki Leydig hücrelerinde daha yaygın olarak ifade edilmiş, ancak ovaryumda gözlenmemiştir. Östrojen reseptörleri α ve β (ERα ve ERβ), her iki cinsiyetin gonadlarında sürekli olarak eşit olarak ifade edilmiştir. Östrojenlerin öncü Leydig hücrelerinin çoğalmasını engellediği öne sürülmüştür.

GAGE ve *LIN28* germ hücrelerinde; *AMH* ve *SOX9* Sertoli hücrelerinde saptanmıştır. *WNT2B*, 6-7. haftalarda Sertoli hücrelerinde, 8-9. haftalarda Leydig hücrelerine saptanmıştır. *GLI1* ise testisteki germ hücrelerinde, Sertoli ve Leydig hücrelerinde görülmüştür. *ETV5* testiste nispeten düşük bir gen ifadesi gösterirken germ hücrelerinde somatik hücrelerden daha yoğun boyandığı gözlenmiştir.

WNT2B, *GLI1* ve *ETV5*, ovaryum ve testiste ifade edilmiş, 48-54 günlük testislerde *WNT2B*, *GLI1* ve *ETV5* testis kordonlarıyla sınırlı kalırken, daha sonra 60-64 günlerde *WNT2B* ve *GLI1* de Leydig hücrelerinde yerini almıştır. Buna karşılık, ETV5'in 60-64. günlerde testis kordonları içinde germ hücrelerinde artan yoğunlukta bulunduğu fark edilmiştir. WNT2B özellikle ovaryumun yüzey epitelinde ve somatik hücrelerinde 45-73. günler arasında görülmüştür. Mezenkimal stromada mezonefrik tübüllerde ve ovaryumda GLI1 ve ETV5 saptanmış olup, ETV5 45. günde medulladan kortekse ve yüzey epiteline doğru ifadesini artırmıştır.

Mikroarray analizleriyle belirlenen cinsiyet farklılaşması sırasında fare ve insan fetüslerinde gonadlardaki gen ifade biçimi karşılaştırıldığında, gonadların her iki cinse uygun farklılaşmasının, farede 11.5 günde, insanda ise 44. günde gerçekleştiği bulunmuştur. Cinsiyete özgü farklılaşma ise SRY ve SOX9'nin farede 12,5. günde, insanda ise 44-48. günde; ardından AMH'nın farede 16,5. günde insanda 50-60. günde ve steroid sentezinde yer alan genlerin ifadesinin de farede 14,5-18,5 günlerde, insandaysa 54. günde başladığı gösterilmiştir.

Hem erkek hem de dişi gonadlarının yarısı hamilelikleri sırasında sigara içen annelerden elde edilmiştir. Annenin sigara içiciliğinin embriyoda ve fetüste gonad gelişiminde rol oynayan genlerin ifadesi üzerine etkisi daha önceki çalışmalarda da bildirilmiş olsa da bu çalışmada ele alınan bir genin ifadesinde anlamlı bir değişiklik olmamıştır.

Çok İzlenenler

Betül Tire

Bilim Kurgu Gerçek mi Oluyor?...

NASA tarafından en gerçekçi bilim kurgu filmlerden birisi olarak kabul edilen ve Oscar ödülü adayı **GATTACA** isimli film, 1997 yılında **Andrew M. Nicol** tarafından yazılıp yönetilmiştir. Film adından da belli olacağı gibi DNA'nın yapısında bulunan nükleotidlerin (guanine, adenine, timin, cytosine) baş harflerinin kombinasyonu ile oluşmuştur. Film 'pek yakın olan gelecekte' diye değerlendirilen zaman diliminde geçmekte. Filmde ilerleyen teknoloji ve genetik bilimi sayesinde insanlar bebeklerini istendiği gibi önceden belirlenen genetik özelliklere göre tasarlamakta. Doğal olmayan yöntemlerle ve mükemmelleştirilen bebeklerde hiçbir genetik hastalık görülmemekte ve 'GEÇERLİ' olarak değerlendirilmekte. Buna karşın, normal yollarla dünyaya gelmiş bireyler genetik özelliklerine göre 'GEÇERSİZ' olarak değerlendirilmekte. Ayrıca normal bireylerin tahmini yaşam süresi ve ölüm sebebi olasılıkları doğum anından itibaren bilinmekte. İnsanlar, bir iş için yeterli olduğunu gösteren yeteneklerine ve genetik özelliklerine göre değerlendirilmekte. Gattaca, ırk, cinsiyet, din ayrımından sonra gen ayrımcılığı olacağına ilişkin öngörüde bulunmakta. Normal doğan insanlar ikinci sınıf insan olarak görülürken tasarlanmış genoma sahip olan bireyler daha prestijli bir yaşam sürmekte. Filmde, biri tasarlanmış genlere sahip, diğeri normal doğumlu olan iki kardeşin öyküsü anlatılmakta. Normal doğumlu kardeş, gen ayrımcılığına rağmen hayalleri peşinden gitmeye karar verir. Mükemmel gen haritasına sahip fakat kaza sonucu sakat kalmış bir bireyin genetik bilgilerini kullanarak sadece mükemmel bireylerin çalıştığı uzay şirketinde çalışmaya başlar ve uzak yolculuğuna gider. İzleyenlere asıl kararlılığın ve umudun gücünü gösterir. Henüz insan genom projesinin bile tamamlanmadığı 1997 yılına ait bu filmde geçen yakın geleceğe, 2018 yılında tasarlanmış bebekler olan Nana ve Lulu'nun doğumuyla daha da yaklaşılmış olabilir miyiz? Mükemmel genlere sahip insanların dünyası nasıl olur diye düşünmeden edemeyenlere farklı bir bakış açısı kazandıran bu filmi izlemesini öneririm. İyi seyirler.

2019 yılında ülkemizde düzenlenecek olan kök hücre konulu tüm etkinlikleri duyurmak için lütfen bize ulaşınız.

info@kokhucrebulteni.com

KONGRE, SEMPOZYUM ve KURSLAR

Engineering Organoids and Organs, A Cell Symposium
25-27 Ağustos 2019 - San Diego, CA, A.B.D.

Harvard: Business of Regenerative Medicine Meeting
15-16 Temmuz 2019 - Boston, MA, ABD

ISCT North America 2019 Regional Meeting
13-15 Eylül 2019 - Madison, WI, ABD

Stem Cell Biology
17-21 Eylül 2019 - Cold Spring Harbor Laboratory NY, ABD

7th Annual Conference of the German Stem Cell Network (GSCN)
23-25 Eylül 2019 - Berlin, Almanya

ISSCR meeting: Stem Cell Research: Present and Future
26-27 Eylül 2019 - Seul, Güney Kore

New York Stem Cell Foundation Research Institute's 2019 Stem Cell Conference
22-23 Ekim - Rockefeller University, NY, ABD

International Symposium on Cellular Therapy and Cardiovascular Medicine
30 Ekim - 1 Kasım 2019 - Ankara

ISSCR International Symposium (co-sponsored by BlueRock Therapeutics) focused on the clinical translation of stem cells: "From Stem Cell Biology to New Therapies"
6-8 Kasım 2019 - Toronto, Kanada

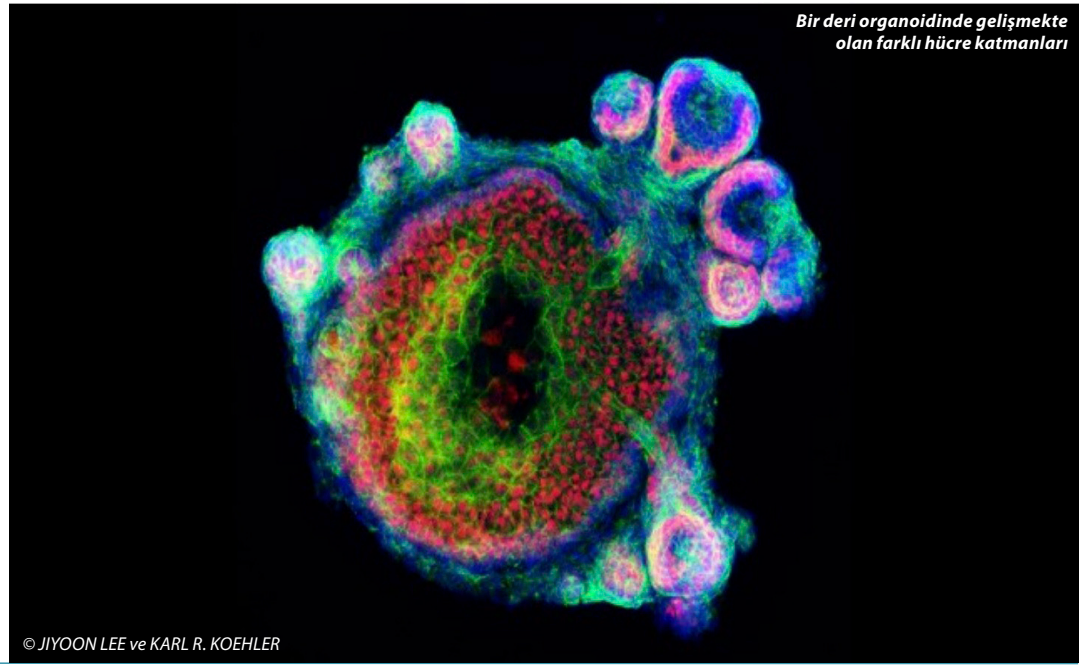
Kök Hücre E-Bülteni Sayı: 31 (Temmuz-Ağustos-Eylül 2019)
Üç ayda bir yayınlanır. www.kokhucrebulteni.com
Yayınlananların sorumluluğu yazarlarına aittir.

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

Bu sayıya katkıda bulunanlar; *(yazıların geliş sırasına göre)*

Dr. Gülben Akcan (Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı)
Bio. İrem İnanç (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD.)
Betül Tire (İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü)
Dr. Fatma Uysal Alaoğlu (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD.)
Dr. Hakan Coşkun (Harvard Üniversitesi, Boston, ABD)

AYIN FOTOĞRAFI



Bir deri organoidinde gelişmekte olan farklı hücre katmanları

© JIYOON LEE ve KARL R. KOEHLER