ISSN: 2148-9815

Kök Hücre E-Bülteni

www.kokhucrebulteni.com
info@kokhucrebulteni.com

Sayı: 37
Ocak-Şubat-Mart 2021

Editör'den

Alp Can

Tüm Bilim Alanları COVID-19'a Yoğunlaşmışken...

KHB'nin **37. sayı**sıyla hepinize tekrar merhaba.

Bildiğiniz gibi **KHB**'nin son üç sayısını COVID-19 pandemisinin ülkemizi de fena halde etkileyen küresel çaptaki krizi altında çıkarıyoruz. Ve bir süre daha böyle devam edeceğiz gibi görünüyor. Ülkemizdeki toplam olgu sayısı 2,2 milyona ve ölüm sayısı da 20.000'i geçmiş durumda. Sevindirici haber; artık aşılanmaya yaklaşmış olmamız. Ancak aşılanma süreçleri doğru yönetilmediği takdirde virüsün yayılması ve üstelik bu kez mutasyon geçirerek kontrolden çıkması konuşulmaya başlandı. Doğaya davranışımız bu biçimde sürdüğü ve insan eliyle oluşturulan maddelerin kitlesi doğadaki tüm canlıların kitlesinin üzerine çıktığı müddetçe COVID-19 karşımıza çıkacak son pandemi olmayacaktır.

Bilim alanlarının hemen hepsi COVID-19'a yoğunlaşmış durumda. Söz konusu olan virüs ile hücrelerin moleküler etkileşimi ve aşıların da genetik aşılar olması sebebiyle özellikle hücre ile uğraşan temel ve klinik alanların araştıracağı ve söyleyeceği çok fazla bilgi ortaya çıkıyor. Öyle ki, son bir yılda yayınlanan COVID-19 makalesi sayısı tarihin hiçbir döneminde hiçbir enfeksiyon için bu kadar yoğun olmamıştır.

Bu sayımızda alanımız çok yakından ilgilendiren Nobel-Kimya Ödülü haberiyle başlamak istedik. **Ezel Erkan** bizler için söz CRISPR-Cas9 teknolojisi, getirdiklerini ve üzerindeki endişeleri kaleme aldı. Ardından **Doç. Dr. Sinan Özkavukcu** kendi alanından deneyimleriyle birlikte COVID-19'un üreme sistemi üzerine etkilerini konu alan kapsamlı bir yazı kaleme aldı. Bu sayıda iki yeni konuk yazarı ağırlıyoruz. İlk olarak Norveç Bilim ve Teknoloji Üniversitesinden **Dr. Ezgi Aksu** beyin organoidlerini konu alan tanıtıcı bir yazı ile, ardından İngiltere'den **Dr. Elif Ertem Bekdemir** kök hücrelerin patentlenebilirliğine ilişkin kendi görüşlerini aktardığı yazılarla **KHB**'ye katkı verdiler. Bu vesileyle, bundan sonraki sayımızda COVID-19'un beyin organoidleri üzerinde yapılan çalışmalarına yer vereceğimizi şimdiden duyuralım. Son olarak **Dr. Ekin Baysal**, son yıllarda doğurganlığın korunmasında gündeme gelen dondurulmuş ovaryumların yağ dokusu kökenli kök hücrelerde naklini konu alan ve geçtiğimiz yıl Türkiye'de de ilk doğumunun gerçekleştiği teknolojideki son gelişmeleri ele alan bir yazıyı **KHB** okurlarıyla paylaştı.

Her zamanki gibi son olarak Ayın Fotoğrafı'na yer vererek bültenimizi sonlandırdık. **KHB**'nin 38. sayısında buluşuncaya kadar hoş ve sağlıklı kalın...

Teknik ve Uygulamalar

Ezel Erkan

CRISPR-Cas9 Sistemine Nobel Ödülü Geldi.

2020 Nobel Kimya Ödülü, DNA Kurgulama Araçlarını Geliştiren İki Bilim Kadınına Verildi.

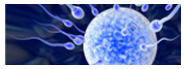
Zaman makinesiyle 1800'lü yılların başına gidebildiğinizi düşünün. O yıllardaki herhangi bir insana günümüzün bilgisayarlarını ve çalışma prensiplerini; bilgiye erişimin ve bilgilerin şekillendirilmesinin ne denli kolaylaştığını anlattığınızda o kişi muhtemelen tam olarak neden söz ettiğinizi anlamaz ve söylediklerinizi görmezden gelirdi. Günümüzden geriye gittiğimizde de aynı tepkinin genom düzenleme alanında yaşandığını söylemek mümkün. Beş on yıl öncesinde bir kişi size insan geninin düzenlenebilir olduğunu ve pek çok hastalığın bu düzenlemeyle iyileştirilebileceğini söylese inanabilir miydiniz? Günümüzün dünyasında bile bunun gerçekleşebilir bir teknoloji olabildiğine inanmak oldukça zor.

2020 yılı Nobel Kimya Ödülü, genomun kurgulanmasına imkân veren **CRISPR-Cas9** adındaki teknolojiyi geliştiren Fransız mikrobiyolog **Emmanuelle Charpentier** ve ABD'li biyokimyacı **Jennifer A. Doudna**'ya verildi. CRISPR-Cas9 teknolojisinin keşfi Nobel tarihinde ilk kez iki kadının ödülü paylaş-

Devamı 4. sayfada

Üreme Hücreleri

Sinan Özkavukcu



SARS-CoV-2'nin Üreme Sistemi Üzerine Etkileri...

Modern dünyanın bir uyarısı ve insanlığın doğaya karşı üstünlük ilanının bir sonucu olarak 2020 yılına damgasını etkin bir biçimde vurdu SARS-CoV-2 virüsü. Virüs, COVID-19 olarak isimlendirilen hastalığa neden olarak, başta akciğer yetmezliği ve sistemik etkiler nedeniyle, özellikle yaşlı nüfusta ölümcül seyretmekte. Solunum yoluyla bulaşan bilindik bir virüsün, görülmedik bir hızla ve sinsilikle bulaşması, daha önce bilmediğimiz sıklıkla ölümlere yol açması büyük endişe yarattı toplumlarda. Dünyanın beşerî kısmı pandemiyle birlikte gündelik sorunlarını bir kenara bırakıp, hayatta kalma mücadelesine bu kadar hızlı alışmaya çalışmanın felsefesini oturtmaya çalışıyor kafasında hâlâ.

Her canlının yaşam felsefesinde temel olarak iki içgüdü ön plana çıkar. Bunlardan birisi hayatta kalmak, diğeri ise üreyebilmek. Neslini sürdürmek pahasına hayatını feda eden nice canlı biliyoruz; canlı canlı yenmeyi göze alan bazı erkek peygamber devesi ve örümcek türleri gibi. Ben insanoğlunun içgüdülerinin derinlerinde COVID-19'a benzer bir salgının üreme yetisini sekteye uğratmasıyla ilgili bir korku olduğunu düşünüyorum. Salgınları konu alan pek çok sinema filmi son dönemde yeniden popüler oldu ama, üreme yetisini yok eden bir hastalığın insanlarda nasıl bir tepkiye yol açacağını belki de en iyi anlatan yapım; **Alfonso Cuarón**'un yazıp yönettiği 2006 yılı filmi **Son Umut** (*Children of Men*), mutlaka izlenmeli. Üreme yetisini yitiren insanoğlunun sosyal tepkileri ölümcül bir pandemiden daha farklı olabilir…

COVID-19'un yayılmasından sonra küresel bir psikolojik kabullenme sürecini yeni yeni geride bırakıyoruz. Üreme sağlığı alanında çalışan bendeniz için algıda seçicilik olabilir; ilk andan itibaren hastalığın üreme hücrelerine ve organlarına zarar verip vermediği üzerine sorular soruldu, yorumlar yapıldı. Oysa ki, bu algıda seçicilik değildi; hızla yayılıp insanoğlunu amansızca öldüren bu virüsün, bu gezegen üzerinde kalabilmemizin tek yolu olan üreme fonksiyonlarımıza saldırıp saldırmayacağı merak ediliyordu.

Dikkatlerin ilk çekildiği nokta sürmekte olan gebelikler oldu. Boğaz sürüntüsü örneği pozitif çıkan ilk gebe olguyu ne kadar büyük bir heyecanla hastane içinde konuştuğumuzu anımsıyorum. Büyük merakla, bu ilk anne adayını ve pandemi sırasında oluşan gebelikler/doğumlar ile ilgili ilk yayınları takip ettik…Neyse ki, bu hastalık gebelerde heyecana, depresyona, ateşe bağlı rahatsızlıklara, damar tıkanıklıklarına yol açıyor olsa da yavru ve anne açısından, gebeliğe özgü artan bir risk söz konusu değil. Antiviral ilaçların gebelerde kullanılamaması [Rizzi ve ark. BMC Res Notes, 2020] ve gebeliğin SARS-CoV-2 pozitif olgularda hastalanma oranını arttırıcı bir durum olarak kabul edilmesi dışında gebeliğin seyriyle ilgili bir endişe bulunmuyor [Api ve ark. J Perinat Med, 2020; DeBolt ve ark. Am J Obstet Gynecol, 2020].

SARS-CoV-2 ile ilgili etki mekanizmaları gün yüzüne çıktıkça, gündeme oturan molekül, virüsün hücreye girerken kullandığı **anjiyotensin dönüştürücü enzim-2** (*ACE2, angiotensin converting enzyme 2*) oldu. Bu molekülün erkek üreme sisteminde de yoğun düzeyde bulunuyor olması, kısırlık benzeri bir durumun ortaya çıkmasına neden olma endişesini arttırdı [Fan ve ark. medRxiv, 2020]. Hatta, COVID-19 nedeniyle ölen hastaların otopsilerinden alınan testis örnekleri düşük yüzdelerde de olsa interstisyumda inflamasyonun ve elektron mikroskopi düzeyinde virüsün varlığını gösterdi ki, bir takım viral enfeksiyonların testis inflamasyonuyla (orşit) birlikte seyrettiği bilindiğinden bu bulgu sürpriz karşılanmadı [Achua ve ark. World J Mens Health, 2020]. RNA-dizileme sonuçlarına dayanarak, ACE2'nin spermatogonya, Leydig ve Sertoli hücrelerinde yüksek oranda ifade edildiği bulundu. Hatta ilginç bir şekilde, Leydig ve Sertoli hücrelerindeki ACE2'nin yoğunluğu, tip-2 alveol epiteli hücrelerinden yaklaşık 3 kat daha yüksek çıktı. İlginç olan bir diğer bulgu da hücreler arası bağlantı kompleksleri ve bağışıklık ile ilgili proteinleri ifade eden testis hücrelerinde, ACE2 reseptörü miktarının da fazla oluşuydu [Wang and Xu. Cells, 2020]. Bu bulgu virüsün hücrelerarasından geçiş yaparak yayılımına yönelik öngörülerin artmasına neden oldu. Kontrollü olmayan bir başka çalışmada da COVID-19 geçiren erkeklerde LH oranlarının yüksek, testosteron oranlarınınsa düşük olduğu ve erken dönem testis yetmezliğinin hormon profiliyle benzerliğine dikkat çekildi [Ma ve ark. medRxiv, 2020]. Sadece testiste değil, son ürün olan spermatozoonlar üzerindeki ACE2 reseptörleri nedeniyle de virüsün bu hücrelere tutunmasının mümkün olduğu vurgulandı ve cinsel yolla bulaş olasılığından söz edilir oldu [Aitken, Andrology, 2020]. Henüz COVID-19'un cinsel yolla bulaşına dair elde veri bulunmamakta.

Literatüre baktığımızda semende virüs tespiti amacıyla yola çıkan, ikisi Türkiye'den olmak üzere, 12 makale göze çarpmakta [Guo ve ark. Andrology, 2020; Holtmann ve ark. Fertil Steril, 2020; Kayaaslan ve ark. Urol Int, 2020; Li ve ark. JAMA Netw Open, 2020; Pan ve ark. Fertil Steril, 2020; Paoli ve ark. J Endocrinol Invest, 2020; Pavone ve ark. Int J Impot Res, 2020; Rawlings ve ark. Open Forum Infect Dis, 2020; Ruan ve ark. Andrology, 2020; Sharun ve ark., Int J Surg, 2020; Song ve ark. Biol Reprod, 2020; Temiz ve ark. Andrologia, 2020]. Bu çalışmalarda COVID-19 tanısı alan akut ya da iyileşme aşamasındaki hastaların semen örnekleri PCR yöntemiyle tarandı. Bu 12 yayındaki olgu sayılarını bir araya getirdiğimizde, 250 civarında hastanın sonuçları karşımıza çıkıyor ve bu 12 çalışmanın sadece bir tanesinde semende SARS-CoV-2 RNA'sı saptanmış durumda [Li ve ark. JAMA Netw Open, 2020]. Semende pozitifliğin gösterildiği bu çalışmada 38 hastanın 6'sında semenin virüsle enfekte olduğu bulunmuş. Tüm çalışmalardaki yöntemlerinin doğru uygulandığı varsayılırsa, semende virüsün bulunma olasılığı %2,4 civarında olduğu kabaca hesaplanabilir ki, bu da cinsel yolla aktarım olasılığının oldukça düşük olduğu anlamına gelir.

Virüsün erkek üreme sistemine olan hasarı ve olası mekanizmaları hâlâ belirsizdir. Eldeki veriler gonadotropin ve testis kaynaklı hormonların düzensizliğiyle ilgili yeterli kanıta henüz ulaşmadı [Xu ve ark. Andrology, 2020]. Ancak hastalığın seyrinde görülen inatçı ateşe bağlı olarak testis sıcaklığının artışı ve bir otoimmün orşite yol açan ikincil bir immün tetikleme testis fonksiyonlarını bozabilecek en olası mekanizmalar gibi görünmekte [Youssef and Abdelhak, Asian J Urol, 2020].

Virüsle etkilenme riski açısından kadınlar erkeklere göre biraz daha şanslı gibi duruyor. COVID-19 nedeniyle ölümler kadınlarda daha düşük oranda görülüyor. Henüz COVID-19'a bağlı ölümlerde kadınlar neden daha düşük bir risk altındalar henüz bilmiyoruz, ancak dişi üreme sistemine bakarsak belki bir ipucu yakalayabiliriz: Yapılan bir çalışmada, insan miyometriyumu, uterusu, ovaryumu, fallop tüpleri veya memede ACE2 veya TMPRSS2'nin anlamlı derecede yüksek ifadesi tespit edilmedi [Goad ve ark. bioRxiv, 2020]. Aynı çalışmada, bu dokulardan hiçbirisinde, SARS2-CoV-2'nin hücreye girişini kolaylaştırdığı bilinen proteazlar olan **TMPRSS2**, **katepsin B (CTSB)** ve **katepsin L (CTSL)**'nin ACE2 ile birlikte ifadesinin olmadığı saptandı. Ancak bunun aksini gösteren yayınlar çoğunlukta. Jing ve ark. tarafından kaleme alınan bir yazıda kadın üreme sisteminde ACE2 reseptörleriyle ilgili yapılan çalışmalar derlenmiş olup bu reseptörlerin ovaryum, uterus, vajina ve plasentada yaygın şekilde bulunduğunu, böylece damlacık enfeksiyonu dışında cinsel bulaş ve anne-fetus arasında dikey geçişin de akılda tutulması gerektiğini vurgulamakta [Jing ve ark. Mol Hum Reprod, 2020]. Tek hücreden RNA dizi analiziyle yapılan kapsamlı bir araştırmaysa testis hücreleri ve spermatozoa üzerinde ACE2 ve TMPRSS2'nin birlikte ifadesine rastlanmadığı, 18 kadından alınan kümülüs hücrelerinde ise TMPRSS2 RNA'sının çok düşük ya da hiç bulunmadığı belirlenmiş. Bu sonuçlarla virüsün cinsiyet hücreleri yoluyla bulaşma ve embriyo gelişimini olumsuz etkileme olasılığının oldukça düşük olduğu ifade ediliyor [Stanley ve ark. Fertil Steril, 2020]. Ancak embriyodaki trofoblast hücreleri, sinsityotrofoblastlar ve feto-maternal bileşkede son derece güçlü ACE2 ve TMPRSS2'nin birlikte ifadesi, anneden bebeğe geçişin imkânsız olmadığını hatırlatmakta [Chen ve ark. Engineering (Beijing), 2020]. Yapılan meta-analizlerde ve derlemelerde bu ihtimalin pratikte o kadar yüksek olmadığı görülüyor; 1316 gebe kadının dahil edildiği bir seride hiçbir anneden bebeğe geçiş görülmedi [Diriba ve ark. Eur J Med Res, 2020]. Başka bir çalışmadaysa, 936 yeni doğanın incelendiği seride yeni doğanların nazofarenks örneklemlerinin sadece ikisinde virüs RNA'sına rastlandığı bildirildi [Kotlyar ve ark. Am J Obstet Gynecol, 2020]. Tüm bu veriler ışığında, anneden bebeğe plasenta yoluyla geçişin mümkün olduğu, bu geçişin olası olduğu ve hücre düzeyinde temellerinin ortaya konduğu halde şu ana kadarki verilerin ışığında bu olasılığın son derece düşük göründüğü söylenebilir.

Diğer taraftan, kadınları ilgilendiren ve SARS-CoV-2 enfeksiyonu açısından önemli olabilecek bir noktaya dikkat çekmeden geçmiyor uzmanlar. **Polikistik over sendromu (PCOS)**, ovaryumda anovülasyon zemininde gelişen, çok sayıda kist yapısının bulunmasıyla tanımlanan, sistemik ve metabolik bileşenlerin de tabloya eklendiği bir durum. Renin-anjiyotensin sisteminin aşırı aktivitesi, metabolik sendrom, tip 2 diyabet ve obezite, PCOS'lu kadınlarda sıklıkla karşılaşılan koşullar. Moin ve ark. PCOS'lu kadınlarda serumdaki renin düzeyinin anlamlı derece yüksek; buna karşın anjiyotensinojen ve ACE2 düzeylerinin de düşük olduğunu saptadılar [Moin ve ark. Metabol Open, 2020]. Bu durum hipertansiyona eğilimi göstermekle birlikte, düşük ACE2 seviyesinin yanıt olarak ACE2 reseptörlerinde bir ifade artışına, böylece COVID-19'a duyarlılığa neden olup olmayacağı henüz bilinmemekte. PCOS hastaları (ve aslında hepimiz) için bir diğer endişe verici durum da izolasyon amacıyla evde geçirilen zamanın, bu hastalarda özellikle dikkat edilmesi gereken; diyet, uyku düzeni, egzersiz gibi yaşamsal iyi olma halinin tersine bir duruma neden olması [Saei Ghare Naz and Ramezani Tehrani, J Pediatr Nurs, 2020]. Sanıyorum sadece PCOS hastaları değil hepimizin bu yeni düzende yeni alışkanlıklarımızı gözden geçirmemizde fayda var.

COVID-19'un ortaya çıkışı, yayılımı, dünya ekonomisine, sosyal yaşama, politik hareketlere yön vermesi açısından doğa ananın bir uyarısı olarak algılanmalıdır. Dünya tarihinde hiçbir sorun bu kadar hızla ve ciddiyetle ele alınmadı; bugün görece kısa bir süre içinde "hangi aşıyı yaptırmalıyız" konusunu konuşmaya başladık. Halbuki, çevre kirliliği, savaşlar, nükleer tehditler, açlık ve yoksulluk gibi insanoğlunun bu gezegende kökten çözmesi gereken daha pek çok sorun mevcut. Bu sorunların etkin çözülmesiyle bu ve benzeri salgınların da bir daha ortaya çıkmasının önüne geçilebilir. Öyle görünüyor ki, önümüzdeki birkaç kuşak maskelerini en vazgeçilmez aksesuvarları olarak takmaya devam edecekler. Hepinize sağlıklı günler dilerim.

Yönetsel Düzenlemeler (Mevzuat)

Elif Ertem Bekdemir

Avrupa'da Kök Hücre Teknolojisinin Patentlenebilirliğine Karşı Olan Kararlarının Araştırma Stratejilerine Olan Etkisi*

Çoğumuzun bildiği üzere, kök hücre ve biyoteknolojik araştırmalar dünya çapında gelişen bir endüstridir. Endüstrinin büyümesi, kök hücre tedavisinin şu anda çaresi olmayan sayısız hastalığı tedavi etme potansiyeline bağlanabilir. Bu alanda yapılan çalışmaların patentlenebilirliği son on yılda tartışılan çok popular bir konu olmuştur. Kök hücre ve biyoteknolojik araştırmalarla üretilen buluşların patentlenmesi ülkeler için de ekonomik bir fırsat kaynağı olabilir. Patentlenebilir bir buluş üretmek araştırma için önemli kaynaklar gerektirdiğinden, yatırımcılar ister ekonomik bir fayda ister statü kazancı veya başka bir fayda olsun, zaman ve paralarının karşılığını garanti altına almayı isterler. Bu nedenle patent koruması, yaşam bilimleri buluşlarının gelişimini ve ticari başarısını etkileyen yaşamsal bir faktördür. Ancak insanda kök hücre temelli buluşlar, özellikle patentlenebilir konular perspektifinde önemli kısıtlamalarla karşılaşmaktadır.

Kök hücre ve biyoteknolojik araştırmalar tedavide ümit ışığı olmasına rağmen, Avrupa Birliği'nde bu alandaki yeniliklerin patentlenmesinden kaynaklanabilecek potansiyel uygulamaların sonuçları hakkında endişeler var. Bu endişeler, kök hücre ve biyoteknolojik araştırmaları yöneten önde gelen iki hukuksal platformda dile getirilmiştir; **Avrupa Birliği Direktifi 98/44 /EC** ve **Avrupa Patent Sözleşmesi.**

Avrupa Patent Sözleşmesi (EPC)'nin 53. maddesi, kullanımının veya yayımının kamu düzenine veya ahlaka aykırı olacağı buluşlar için patent verilmeyeceğini belirtir. Buna ek olarak, Avrupa Birliği Direktifinin 6 (2) (c) maddesi insan embriyolarının sınai ve ticari amaçlarla kullanılmasının genel ve ahlaka aykırı olduğunu, bu yüzden de patentlenemeyeceğini söyler. **Avrupa Patent Ofisi (EPO)** ve **Avrupa Birliği Adalet Divanı** bu maddeleri şu şekilde yorumlar; "*insan embriyolarını tahrip ederek elde edilen ve halkın erişimine açık olan insan kök hücreleri patentlenebilir değildir*".

Bu yorumun etkisini gösteren en güzel örneklerden biri **EPO Temyiz Kurulu**nun 2014 yılında verdiği karardır. EPO Temyiz Kurulu, primat kaynaklı pluripotent kök hücrelerden farklılaştırılmış hücreler üretme yöntemine dayalı bir başvuru için red kararı verdi (T 1441/13, Embriyonik kök hücreler, ASTERIAS, Eylül 2014). Reddedilen başvuru, insan embriyonik kök hücrelerini içeriyordu. Kurul, patentin 2001 dosyalama tarihinde, insan embriyonik kök hücrelerinin kültürlerini elde etmek için bilinen ve uygulanan yöntemin (yani, talep edilen yöntemin başlangıç malzemesi), insan embriyolarının yok edilmesini içeren önceki aşamaları zorunlu olarak içerdiği sonucuna vardı ve reddedilen başvuruda başka bir pluripotent hücre kaynağı da belirtilmedi. Kurul, bir insan embriyosunu yok etmeden insan embriyonik kök hücrelerini elde etmek için bir yöntemin halka açık ilk açıklamasının Chung ve ark. [Cell Stem Cell. 2008] tarafından açıklandığını belirtti. Kurul ayrıca, 2008'den önce insan embriyolarının kullanımını içeren bütün başvurulara verilmiş red kararlarının embriyonun tahribatsız yöntemlerle kullanıldığını belirtmediği sürece tekrar değerlendirilmeyeceğini belirtti.

Patentler, tedavi amaçlı kullanılacak insan kök hücrelerine yapılan yatırım için büyük bir teşvik olarak düşünüldüğünden, bu tür yatırımlar Avrupa'da çökmeye başladı ve patentlenebilirliğin dışında

tutuldukları ve teşvikleri kaldırıldığı için Avrupa Birliği dışında gerçekleşti. Türkiye de EPO'nun bir üyesi olduğundan Avrupa'nın bu stratejisinden etkilenmiş oldu. Sonuç olarak, ABD ve Çin gibi diğer ülkelere kıyasla Avrupa'nın kök hücre araştırmaları için ödüllendirilmesinde dezavantajlı olduğu görüldü. Ancak son yıllarda teknolojinin gelişmesiyle ve insan embriyolarından embriyonik kök hücreleri tahribatsız şekilde elde edebildiğinden, önceki kısıtlamalar bu tür yeni yöntemler için geçerliliğini yitirmiştir; dolayısıyla araştırmacılar yeniden kök hücre araştırmaları için patent almaya başlayabilirler. Başka bir deyişle, insan embriyolarının tahrip edilmemesine ilişkin genel bir iddia, diğer kriterler karşılandığı sürece insan embriyonik kök hücrelerine dayanan bir buluş için bir patent elde etmek için yeterli olabilir. Ek olarak, partenogenetik olarak aktive edilmiş insan embriyonik kök hücreleri patentlenebilir olabilir. Son olarak, uyarılmış pluripotent kök hücre araştırmalarının başarılı bir şekilde yeniden programlanması durumunda artık kök hücre üretmek için embriyolara gerek olmayacak olması ihtimali de yeni patent başvurularının kapısını açabilir. Son olarak, kök hücre tabanlı ürün ve yöntem geliştirirken araştırmaların ortaya çıkacak olan ürünün patentlenebiliğini göz önünde bulundurarak şekillendirmesi önemlidir.

**Dr. Elif Ertem Bekdemir kendi görüşlerini paylaşmaktadır. Herhangi bir yasal öneride bulunmamaktadır.*

Doku Mühendisliği

Ezgi Aksu

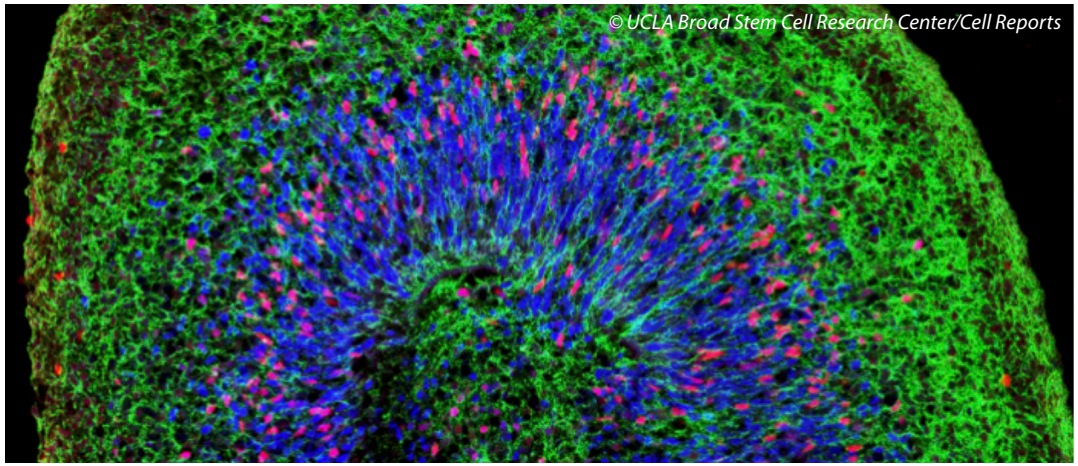
Beyin Organoidleri ve Beyin Tümörü Modellemeleri

Son yılların popüler in vitro üç boyutlu (3B) model sistemi olan **organoid teknolojisi**nin hemen hemen her organ veya organ sistemleri için geliştirilmesi, hem o organları etkileyen hastalıkların araştırılması ve çeşitli tedavilerin etkinliğinin özellikle bireysel anlamda denenebilmesi için oldukça heyecanlandırıcı olmuş, hem de gelecek vadeden bir model sistem imkânı sunmuştur.

Beyin organoidlerinin geliştirilmesiyse özellikle sinir bilimi alanında eksik olan in vitro modellerin yetersizliğine eşsiz bir çözüm sunup daha önce deneysel olarak yanıtlanamamış soruların yanıtlarının bulunmasında kapı aralamıştır. Beyin organoidleri beynin fizyolojik gelişiminin incelenmesi ve nörogelişimdeki bozuklukların çalışabilmesi için eşsiz bir fırsat sağlamaktadır. Beyin organoidleri diğer beyin hastalıklarının mekanizmalarının açıklanmasında da oldukça uygun bir sistem olması nedeniyle Zika virüsü enfeksiyonundan, en agresif beyin tümörlerinden biri olan glioblastomanın modellenmesine kadar birçok farklı patolojide hızla uyarlanıp, araştırma modeli olarak kullanılmaya başlanmıştır [Amin ve Pasca, Neuron, 2018].

Beyin organoidlerin geliştirilmesi, embriyonik kök hücre ve indüklenmiş pluripotent kök hücrelerde bulunan iki ana özellik olan kendiliğinden organize olma ve diğer hücre tiplerine farklılaşabilmesiyle mümkün olmuştur. Pluripotent kök hücreler sürekli kendilerini yenileyebilen ve diğer tüm hücre tiplerine farklılaşabilen hücrelerdir. Bu hücreler kültür ortamında kendiliğinden bir araya gelerek embriyonumsu cisimcikler adı verilen üç boyutlu (3B) hücre kümelerini oluşturur. Embryonumsu cisimciklerin oluşumu ve farklılaşması embriyonik gelişimin ilk adımlarından biri olan, üç farklı germ tabakasının (endoderm, ektoderm ve mezoderm) oluştuğu gastrülasyona benzer. Merkezi sinir sistemi ektoderm tabakasından oluştuğu için beyin organoidlerinin oluşturulması için bu aşamada embryonumsu cisimciklerin sadece nöroektoderm tabakasının farklılaşmasının desteklenmesi gerekir. Pluripotent kök hücre araştırmalarından edinilen bilgiler eşliğindeki çalışmalar, bu yaklaşımı temel almıştır ve beyin organoidleri, ilki 2013 yılında yayınlanan bir makale [Lancaster ve ark., Nature, 2013] ile bilim dünyasına tanıtılmıştır. Aynı makalenin yazarları tarafından 2014 yılında detaylı bir Nature Protocol makalesi [Lancaster ve Knoblich, Nat Protoc, 2014] yayınlanmış ve önerilen yöntem 2017 yılında son halini almıştır [Lancaster ve ark. Nat Biotechnol, 2017]. Bu çalışmalarda nöroektoderm tabakasının oluşumu için basit farklılaştırılmış besiyeri formülasyonlarının kullanılmasının yanı sıra beyin organoidleri oluşumunun fiziksel olarak desteklenmesi ve in vivo oluşumunu taklit etmesi için genellikle Matrigel® gibi bir hücrelerarası maddeden yardım alınmaktadır. Bu makalelerde, oluşturulan organoidler **tüm beyin organoidleri** ya da kısaca **beyin organoidleri** olarak adlandırılmıştır ve tüm beyin oluşumunu yansıtmaktadır. Bu yöntemle oluşturulan organoidler birden fazla beyin bölgesini temsil eden heterojen bir hücre topluluğunu gösterir. Daha sonraki yıllarda ise beynin farklı bölgelerine özgü ve sadece çalışılmak istenen bölümlerin oluşumu için yönlendirilmiş protokoller geliştirilmiş ve bilimsel çalışmalarda başarıyla yer almıştır. Yapılan bu çalışmalar sonucunda ön beyin [Kadoshima ve ark. Proc Natl Acad Sci USA, 2013], orta beyin ve hipotalamik organoidleri [Qian ve ark. Cell, 2016] oluşturulmuştur.

Beyin organoidleri biyoreaktörde 1 yıla kadar korunabilmelerine rağmen, damar sisteminin eksikliğinden ötürü, artan boyutlarına uygun olarak besinlerin dokunun her yerine eşit şekilde ulaştırılabilmesi zorlaşmaktadır. Bu nedenle, beyin organoidlerinin büyümesi 2. aydan sonra durur ve 5-6. aylar itibariyle doku kayıpları başlar. Beyin organoidlerinin yaşam süresi göz önüne alınarak nöronların oluşumu ve bağlantıların sağlanması, hücre kültürüne kıyasla uzun sayılabilecek bir süre boyunca izlenebilir. Beyin organoidlerindeki nöronlar, oligodendrositler ve astrositler gibi hücrelerin yanı sıra insan beyni oluşumunda önemli bir yeri bulunan ve hayvan modelleriyle gösterilemeyen dış radyal gliya hücrelerini barındırması açısından önemlidir.


© UCLA Broad Stem Cell Research Center/Cell Reports

Beyin organoidlerinin farklı alanlardaki potansiyelini daha iyi anlayabilmek için en agresif primer beyin tümörü olan glioblastoma modeli çalışmalarına bakmak yerinde bir örnek olur. Glioblastoma tümörleri oldukça heterojen ve kompleks bir yapıya sahiptir. Bu nedenle in vitro ortamda modellenmeleri oldukça zordur. Standart tedavi koşulları ve teşhis sonrası ortalama hayatta kalma oranı uzun yıllardır büyük ölçüde değişmeden kalmıştır. Glioblastoma tümörlerinin hücre kültürü ortamında 2B modellenmesi tümör mikroçevresinin eksikliği nedeniyle özellikle ilaç tarama çalışmaları için eksik bir model sistemi sunmaktadır. Aynı şekilde hastalardan alınan tümör biyopsileriyle oluşturulabilen 3D tümör kürecikleri teknolojisi de normal ve hastalıklı doku arasındaki etkileşimi göstermekte yetersiz kalmaktadır. Beyin organoidlerinin geliştirilmesiyle glioblastoma modelleme çalışmaları hız kazanmıştır. Bu modellemelerde iki temel yaklaşım vardır. İlki "sağlıklı" beyin organoidlerine farklı tümörojenik mutasyonların tanıştırılmasıyla tümör oluşumunun uyarılmasıdır. Örneğin CRISPR/Cas9 yöntemiyle ile TP53 gibi onkojenlerin manipülasyonunun sağlıklı beyin organoidlerinde tümör oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir [Ogawa ve ark. Cell Rep, 2018]. Benzer bir çalışmada glioblastomada en sık görülen 15 farklı gen mutasyonu ve amplifikasyonlarının tümör gelişimindeki yeri beyin organoidleri modellemesiyle gösterilmiştir [Bian ve ark. Nature Methods, 2018]. Bu modeller belli bir mutasyona veya mutasyon kombinasyonuna bağlı tümör başlangıcını ve gelişim süreçlerini çalışmak için ideal bir platform sunmaktadır.

Bu yöntemin temel eksiklerinden biriyse parental tümörlerde gözlenen heterojen mutasyonlara sahip kanser hücre kombinasyonlarıyla beraber vasküler ve immün sistem hücreleri gibi tümör mikroçevrelerini oluşturan hücre topluluklarının eksikliğidir. İkinci yaklaşım ise hastalardan elde edilen biyopsilerden oluşturulan beyin organoidleridir [Linkous ve ark. Cell Rep, 2019]. Hasta tümörleri esas alınan bu organoidler bireyselleştirilmiş tedaviler için oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Bu 'hastalıklı' organoidler kullanılarak tümörün bireysel genomik varyasyon analizleri yapılıp farklı tedavi koşullarına verilen yanıtlar laboratuvar ortamında analiz edilebilir ve hastaya en uygun tedavi yöntemi seçilerek daha etkili bir tedaviye başlanabilir. Hastalardan elde edilen biyopsilerle geliştirilen organoidler,

hücre kültürü ortamında da parental tümörlerle eşleşen gen ifadeleri, gen kopya sayısı, somatik varyantlar ve benzer tümör mikroçevresi özellikleri göstermiştir [Jacob ve ark. Cell, 2020].

Beyin organoidleri bireysel tıp alanında güçlü bir model sistemi sağlamasına rağmen birtakım dezavantajlara da sahiptir. Özellikle uzun süreli hücre kültürü koşullarında yukarıda bahsedilen tümör mikroçevresini oluşturan immün ve vasküler sistem hücre popülasyonlarının zamanla kaybedildiği görülmüştür. Bunun temel nedenlerinden birisi kültür koşullarının bu hücre popülasyonlarının aksine beyin hücrelerini destekleyici özellikte tasarlanmış olmasıdır. Aynı şekilde hücre popülasyonlarının dağılımı, bazı alt popülasyonların proliferasyon ve ölüm hızlarındaki farklılıklarından ötürü de meydana gelmektedir.

Beyin organoidleri yeni sayılabilecek bir model sistemi olmasına rağmen hem insan beyninin gelişimine hem de birçok beyin merkezli hastalık mekanizmasının çözülmesine ışık tutacak potansiyele sahip güçlü bir araçtır. Birçok avantajının yanı sıra dezavantajlarının da göz önünde bulundurulması bu model sisteminin daha da ileri düzeyde gelişimi için önemlidir. Bu dezavantajların başında bu model sisteminin sadece nöronları içerdiği, in vivo düzeyde immün sistem ve vasküler sistem hücrelerinde eksiklikleri olduğu unutulmamalıdır. Özellikle vasküler sistemin geliştirilmesi ve model sisteme eklenmesi gelecekte kan-beyin bariyeri çalışmaları ve uygulanan ilaçların beyne penetrasyonu açısından oldukça önemlidir. Bu problemlerin çözümüne dair araştırmalar hızla sürmekle beraber beyin organoidlerinde vasküler benzeri sistemlerin oluşumuna dair ilk olumlu haberler [Cakir ve ark. Nature Methods, 2019] gelmektedir.

Teknik ve Uygulamalar

Ezel Erkan

masına da olanak sağladı. Türkçe açılımı "**Düzenli Aralıklarla Bölünmüş Palindromik Tekrar Kümeleri**" olan CRISPR-Cas9, bir genomda ifade gösteren kodun kesilmesi ve yerine istenilen kodun yerleştirilmesini sağlıyor. Fransız mikrobiyolog Emmanuelle Charpentier bu tekniği bakteriler ve virüsler arasındaki ilişkiyi anlamak amacıyla yaptığı çalışmalar sırasında geliştirdi. CRISPR'ın bakterilerde özellikle virüslere karşı savunma sağlamak amacıyla doğal olarak bulunduğunu ve Cas9 enzimini kullanarak da bakterilerin virüslere karşı savunma sistemi oluşturabildiği bir gen bölgesi olduğunu keşfetti. Bakterinin bağışıklık sistemindeki CRISPR-Cas9 sisteminin kullanıldığı ve bu sayede de bakterinin virüs DNA'sını keserek etkisiz hale getirebildiği görüldü. Bu çalışma sonucunda CRISPR-Cas9 sisteminin nükleik asit ve genom temelli bir bağışıklık mekanizması olabileceği sonucuna varıldı. 2012 yılında ise Jennifer A. Doudna bu teknolojiyi canlının DNA'sını kesebilecek ve düzenleyebilecek bir uygulama geliştirmek amacıyla geliştirmeye karar verdi. Bakterinin bağışıklık sisteminde genetik bir makas olarak görev alan CRISPR-Cas9 sistemindeki makasın yeniden programlanması ve DNA'nın belirli bölümlerini arayıp bularak kesmesi üzerine çalışmalar yapıldı. Kısacası makasın canlının kendi DNA'sını virüsten ayırt etme görevi DNA'nın belirlenmiş noktalarının kesimi görevine evrilleştirildi ve diğer canlılardaki kullanımları üzerinde duruldu.

Jennifer A. Doudna Emmanuelle Charpentier

CRISPR-Cas9 sistemi, halen mevcut olan daha önce keşfedilmiş genom düzenleme yöntemlerine göre daha hızlı, daha ucuz, daha doğru ve daha verimli olduğu için bilim arenasında çok heyecan yaratan bir genom düzenleme yöntemi oldu. Öncesinde sadece DNA'yı virüsten ayırt etme görevine sahip olan ve çeşitli moleküler parçaları birleştirerek tasarlanmış bir genetik makas halini alan CRISPR-Cas9 sistemi, genom düzenlemesinin tek bir tüp içerisinde gerçekleştirilebiliyor olması özelliği sayesinde büyük kolaylık sağlamakta. Genom üzerinde hasarlı olan bölgenin bulunması; değiştirilme amacıyla kesilmesi ve yerine doğru ve hasarsız olanının konması olarak çalışan bu **genetik makas mekanizması** yaşamın içsel çalışmasına müdahale olanağı sunmakta. CRISPR-Cas9 genom düzenleme yönteminin kullanılması ile bazı genler susturulabilir; çeşitli epigenetik modifikasyonları düzenleyebilir, genom üzerinde homolojiye yönelik onarım mekanizmalarını kullanarak hassas değişiklikler, çift zincir kırıkları oluşturmadan baz eklemeleri yapılabilir ve son olarak bazı genlerin aktivasyonu ya da represyonu sağlanabilir. Bütün bu değişiklikler mutasyonların doğal süreçlerde rastgele olarak değil tasarlanmış olarak gerçekleşmesini; seleksiyonun doğal değil yapay ve seçilmiş olmasını sağlayarak evrim sürecinde aktif bir kontrol sağlayabilir.

CRISPR-Cas9 sistemi DNA'yı veya RNA'yı hedefleyerek hücrenin virüslerden ya da çeşitli mobil genetik elementlere karşı hücreyi korumayı amaçlar; yani diziye özelleşmiş adaptif bağışıklık sağlar ve temel olarak virüs ve konak arasındaki ilişkinin anlaşılmasını kolaylaştırır. CRISPR tabanlı bağışıklık, hücrenin CRISPR lokusuna kısa virüs dizilerinin entegre edilmesiyle enfeksiyonların tanınmasına, hatırlanmasına ve daha sonra da temizlemesine izin vererek hareket eden bir sistemdir.

Tasarlanmış CRISPR sistemlerinde kullanılması gerekli olan iki tür molekül vardır: Cas9 proteini ve rehber RNA (guideRNA). Cas9 proteini rehber RNA'yı izleyerek DNA'da ilgili yere giderek diziyi kesen ve bu sayede bazı parçaların DNA'dan çıkarılarak yerlerine yenilerinin konmasına olanak sağlayan proteindir. gRNA ise hedeflenen DNA dizisi ile uyumlu, yaklaşık 20 bazdan oluşan RNA dizisidir. gRNA molekülü DNA dizisine bağlanır ve Cas9 proteininin genomun hedeflenen ve doğru noktasında kesim yapılmasını sağlar. Sarmal yapının açılmasının ardından gRNA yerleşir ve dizi kesilebilir. CRISPR aktivitesi; bağışıklık yanıtı için protein kodlayan CAS genleri (*CRISPR-Associated System*) gibi CRISPR ilişkili genlere ihtiyaç duyar [Science. CRISPR-Cas9: Engineering a Revolution in Gene Editing, 2013].

CRISPR-Cas9 sisteminin kısa vadede planlanan bazı kullanımları arasında orak hücre anemisinin ve bilinen diğer genetik hastalıkların tedavisi, bitki ıslahı ve yeni kanser tedavilerine yönelik deneylerdir. CRISPR-Cas9 sisteminin kullanılmasıyla çeşitli kalıtsal hastalıkların tedavisi sağlanabilir, kanserin metastazı engellenebilir, biyoyakıt üretimleri daha elverişli hale getirilebilir. Uzun vadede bu teknolojinin nelere yol açabileceği ise düşünülmesi ve tartışılması gereken bir konudur. Bu teknolojinin bir canlıda kullanılması o canlıda bazı hastalıkların ortaya çıkmasına ve erken ölüme yol açabilir. Öncelikle ekolojik sistemin görebileceği zararlar değerlendirilmelidir. Ancak CRISPR-Cas9 sistemi kullanılarak düzenlenmiş olan yeni ve mutasyonlu genler organizmada hemen ifade edilmeyebilir. Bu nedenle, ekolojik bir zarar oluşabilir ve insan sağlığını etkileyecek çeşitli salgınlara karşı alınabilecek önlemlerin değerlendirilmesi gerekir. Bütün bunlar bir kenara konursa, sadece birkaç dakikalığına bu teknolojinin insan yararına değil de tamamen genetik determinizm amaçlı olarak üstün ve istenilen yönde insan ırkı yaratmak için kullanıldığını düşünün. Embriyoların ebeveynlerinin veya bir başka gücün isteğine göre tasarlanabileceği bir dünya hayal edildiğinde bu yöntemin insanlar üzerinde biyolojik bir silah etkisinin olabileceğini anlamak hiç de güç olmayan bir durumdur. Fenotipik özellikler, çevresel koşullardan farklı olarak müdahale edilebilecek bir genetik bileşene sahip olduğundan CRISPR-Cas9 sisteminin gen terapisi alanında kullanılması ne kadar yararlı olacak sonuçlar veriyor gibi görünüyor olsa da yapılan genetik değişiklikler ayrımcılığın ve genetik ayıklamanın toplum düzeyleri arasındaki farkın açılmasına ve belli eşitsizliklere sebep olacaktır. Böyle bir durumda bireyler arasında adaletten söz etmek mümkün olmayacağından genetik ayıklamanın etik bir işlem olduğundan söz etmek olası değildir.

CRISPR yönteminin dezavantajlarının ve yan etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda çeşitli mutasyon testlerinin uygulanması ve analiz edilmesi sonucunda CRISPR-Cas9 sisteminin hedeflenen bölgeden birkaç bin DNA bazı uzaklıkta bile çeşitli etkilere sahip olduğu görülebilmektedir. Bu bölgelerde meydana gelmiş mutasyonlar ve delesyonlar olduğu gözlemlenebilir ve DNA'da meydana gelen bu önemli ve zararlı mutasyonlar, hücre türleri arasında farklı düzeyde etkili olarak hücresel işlevlerin bozulmasına ve dolayısıyla canlılığa zarar vermede etkin bir role sahip olabilir. Temel olarak istenmeyen bölgelerin hedeflenmesi hücre ölümünü tetikleyebilir veya transformasyona sebep olabilecek mutasyonlar yaratabilir. Bu tip mutasyonların azaltılması amacıyla hedef dışı bölgelerin hedeflenmesi ihtimallerinden mümkün olduğunca uzak durulmalıdır. Hedeflenen bölge dışında sistemin çalışması sonucunda gerçekleşen mutasyonlar eğer

negatif etkiye sahipse fenotipe yansıyabilen ve ilerleyen nesillere aktarılabilen özelliktedir. Fakat eğer nötr veya pozitif bir etkiye sahipse istenen özellik sorunsuzca ortaya çıkabilmektedir. Cas9'un çalışma mekanizması her çalışmaya göre mutlaka optimize edilmelidir ya da kullanılacak rehber RNA'lar çeşitli yazılımların kullanılmasıyla sadece belirlenen bölgeyi hedeflemesi için yüksek özgünlükte (spesifite) tasarlanabilir. Bu durum tasarlanmış Cas9'ların kullanılmasıyla da arttırılabilir ve bu sayede çeşitli yan etkilerin; riskli ve zararlı mutasyonların oluşması engellenebilir [Omodamilola and Ibrahim. J Biomedical and Pharmaceutical Sciences, 2018].

Sonuç olarak; bir DNA devrimi olan CRISPR-Cas9 yöntemi 6 milyar baz çiftinden oluşan insan genomunda **bul-değiştir** ya da **bul-sil** yaklaşımına dayanan **bul teknolojisi**ni kullanarak değişiklik yapabilecek bir yöntemdir. Bu teknolojinin uzun vadedeki yan etkilerini azaltmak ve çeşitli zararlarını önlemek amacıyla mutlaka çalışmalar yapılmalı ve **DNA üzerinde ameliyat yapabilen teknoloji** olarak adlandırılan CRISPR-Cas9 genom düzenleme sisteminin hangi durumlarda kullanılabileceği kesin yargılarla kararlaştırılmalı; bu sayede de hali hazırda tehlikede olan doğal dengenin bozulması ve zarar görmesi engellenmelidir. Kısacası, sistemin ileride biyolojik seçicilik ya da genetik determinizm gibi alanlarda kullanılması evrensel etik yasalarının da korunması sağlanarak engellenmeli ve ancak yan etkisi olmadığından ya da uzun sürede büyük yıkımlara yol açmadığından emin olunduktan sonra hastalıkların tedavisi gibi alanlarda kullanılmalıdır.

Hücresel Tedavi ve Rejeneratif Tıp

Ekin Baysal

Ovaryum Naklinde Yağ Dokusu Kök Hücrelerinin Kullanımı Gündemde...

Ovaryum nakli doğurganlığın korunmasında kanser hastaları için önem kazanıyor.

Geçtiğimiz yıllarda kanser insidansı çevresel faktörler nedeniyle arttı, ancak başarılı tedaviler sayesinde kansere bağlı ölümler azaldı. Bu nedenle kanser hastalarının yaşam kalitesini iyileştirmek ön plana çıkmaya başladı. Bu alanlardan biri de kanser hastalarının doğurganlığının korunması. Çünkü kanser tedavileri gonadlara toksik etkiler göstererek kısırlığa yol açabiliyor. Olgun ovosit toplanamayan, özellikle ergenlik öncesi yaş grubundaki hastalarda henüz tek seçenek ovaryum foliküllerinin bulunduğu korteks bölümünün dondurarak saklanmasıdır. Bunun için kanser tedavisi öncesinde hastanın ovaryumundan alınan korteks parçası dondurulup sıvı nitrojen tankında düşük sıcaklıklarda saklanır. Hasta kanseri yenip yıllar sonra çocuk sahibi olmak istediğinde bu parçalar çözülüp hastaya nakledilir. Ovaryum dokusu kriyoprezervasyonu ve nakli günümüzde deneysel olmaktan öteye geçip kliniklerde yerini almış bir yöntemdir. Geçtiğimiz yıl, **Ankara Üniversitenin Üremeye Yardımcı Tedaviler Ünites**inde bu yöntemin uygulanmasıyla gerçekleşen Türkiye'deki ilk gebelik ve canlı doğum bildirilmiştir [Sönmezer ve ark. J Assit Reprod Genet, 2020].

Nakil Sonrası Erken Döneminde Primordiyal Foliküllerin Hızla Azalması Başarıyı Azaltıyor.

Dondurulup çözüldükten sonra hastaya nakledilen ovaryum dokusunun damarlanması zaman alır. Bu nedenle doku yaklaşık 5-10 gün hipoksik koşullarda kalır. Bozulan doku metabolizması yeniden dengeye gelene kadar foliküllerin yaklaşık %50'si %90'ı kaybedilir. Bu kaybın başlıca nedenleri hipoksiye bağlı nekroz/apopitoz ve folikülün aşırı aktivasyonudur. Normalde sessiz kalması gereken çok sayıdaki primordiyal folikül olgunlaşmaya başlar ve sonunda atreziye gider. Folikülün aşırı aktivasyonu hücrelerde başlıca fosfoinozitol-3-kinaz (PI3K)/Akt yolağının aktivasyonu ve Hippo yolağının engellenmesiyle gerçekleşir.

Nakil Sonrasıda Folikül Kaybını Engellemek için Yağ Dokusu Kökenli Kök Hücrelerden Faydalanılabilir.

Yağ dokusu kökenli kök hücreler yağ dokusundan elde edilen multipotent farklılaşma yetisine sahip, tipik mezenkimal kök hücre özellikleri gösteren yetişkin kök hücrelerdir. Hipoksik ortamda VEGF salgılayarak ve endotel hücrelerine dönüşerek doku damarlanmasını arttırırlar.

Manavella ve ark. [Hum Reprod, 2018] birkaç kez dondurulup çözülmüş insan ovaryumu dokusunun ksenonakli (insandan fareye) çalışmalarında bu hücrelerin özelliklerinden faydalandı. Önce yüksek dozda (1.5×10^5) insan yağ dokusu kökenli kök hücre, fibrin iskele üzerinde ovaryum parçasının farede naklediliceği bölgeye yerleştirildi ve böylece bu bölgenin nakil öncesinde damarlanması sağlandı. On dört gün sonra da insandan alınan ovaryum dokusu nakledilerek iki basamaklı bir ameliyat gerçekleştirildi. Nakil sonrasındaki 3. ve 7. günlerde ovaryum parçaları farelerden çıkartılarak incelendi. Kök hücrenin kullanılmadığı standart nakil yapılan kontrol gruplarına kıyasla damarlanma belirgin olarak artmıştı ve folikül havuzu daha iyi korunmuştu. Yeşil flöresan proteiniyle işaretlenmiş yağ dokusu kök hücrelerinin CD34 ifade eden damar endoteli hücrelerine farklılaştığı ve ortamda VEGF ifadesini arttırdığı saptandı. Ayrıca bu damarların ovaryum dokusunu sarıp infiltre ettiği, alıcı farenin damarlarıyla yer yer anastomozlar yaparak kimerik damarlar oluşturduğu gözlendi. Hipoksik süreç kısalmış, foliküllerde apopitoz ve atrezi azalmıştı [Manavella ve ark. Human Reprod, 2018; Manavella ve ark. Mol Human Reprod, 2019].

Cacciottola ve ark. tarafından rapor edilen bir başka çalışmada bu yöntemin uzun dönem etkilerini incelemek için iki basamaklı nakil sonrası ovaryum dokusu alıcının vücudunda 6 ay bekletildi [J Clin Med, 2020]. Yine, primordiyal folikül havuzunun daha iyi korunduğu ve daha fizyolojik folikül evresi dağılımının sağlandığı görüldü.

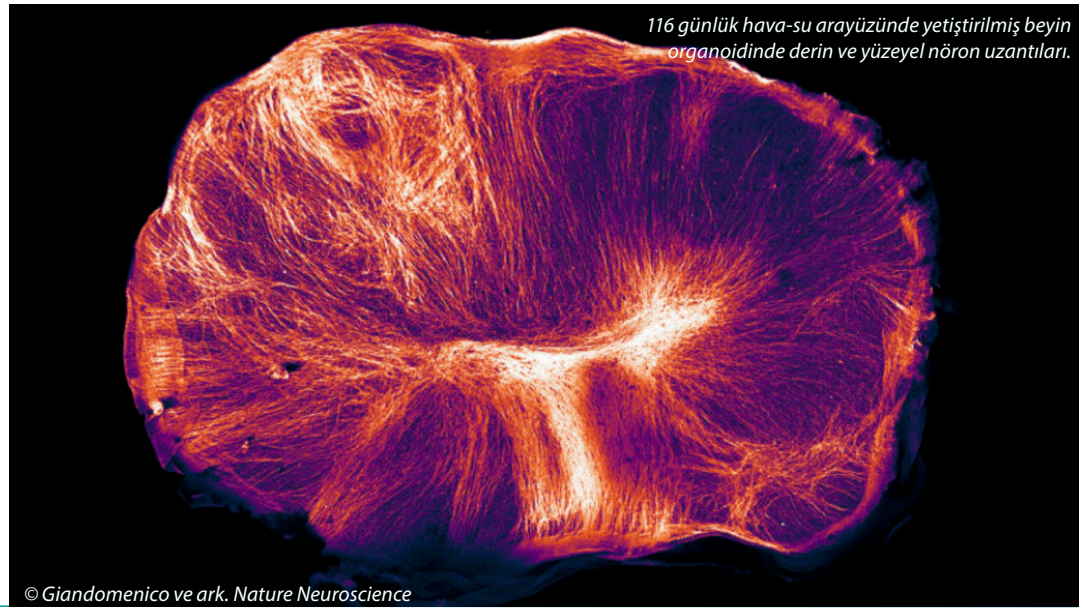
Bu araştırmacı grubunun geçtiğimiz Kasım ayında yayınlanan en son çalışmalarında yöntemlerinin folikül aktivasyonuyla ilişkili yolaklar üzerine etkisi incelendi [Cacciottola ver ark. J Assist Reprod Genet, 2020]. Özellikle PI3K/Akt yolağının kök hücreli nakil grubunun primordiyal foliküllerinde aktive olmadığı görüldü. Yani yöntemlerinin folikül aktivasyonu yolaklarını düzenleyerek folikül kaybını önlediği kanıtlandı. Ancak daha önceki çalışmalarında yağ dokusu kök hücrelerin kullanımıyla ifadesinin arttığı gösterilen VEGF'in bir büyüme faktörü olarak Akt'nin fosforilasyonuna yol açması da mümkündü. Kök hücrelerin doku graftına etkisinin daha doğru değerlendirilebilmesi için bundan sonraki çalışmalarda VEGF de dahil olmak üzere kök hücrelerin sekretom analizinin yapılması gerekiyor.

Kök Hücre E-Bülteni Sayı: 37 (Ocak-Şubat-Mart 2021)

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)*
Doç.Dr. Sinan Ökavukcu (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, Ankara)
Dr. Ekin Baysal (Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, Ankara)
Dr. Elif Ertem Bekdemir (Bilim Danışmanı; Womble Bond Dickinson (US) LLP Hukuk Firması, İngiltere
Dr. M. Ezgi Aksu, Biyomühendis, Norveç Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Norveç
Ezel Erkan (Başkent Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara)

AYIN FOTOĞRAFI



116 günlük hava-su arayüzünde yetiştirilmiş beyin organoidinde derin ve yüzeyel nöron uzantıları.

© Giandomenico ve ark. Nature Neuroscience