

Androlojinin Yeni Uğraş Alanı: Spermatogonial Kök Hücre Nakli

New Research Area in Andrology: Spermatogonial Stem Cell Transplantation

Dr. Kaan AYDOS^a

^aKadın Hastalıkları ve Doğum AD,
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
ANKARA

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Kaan AYDOS
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,
ANKARA
ksaydos@tr.net

ÖZET Spermatogonial kök hücreler testiste bulunan, doku-spesifik, küçük bir hücre grubudur. Erişkinlerde testislerin sürekli sperm üretiminden sorumlu mekanizma bu spermatogoniumların oluşumu ve farklılaşmasıdır. Spermatogonial kök hücreler hem kendi popülasyonlarını yenileme hem de daha ileri hücre çeşitlerine farklılaşma kapasitesine sahiptirler. Yakın zamanlarda, genç kanser hastalarında fertilitenin sağlanmasında spermatogonial kök hücre nakli umut verir olmuştur. Başarılı bir transplantasyon ve donör kaynaklı spermatogenez, infertil erkeklerde fertilitayı sağlayabilir. Erkeklerde fertilitenin korunmasında bir diğer yöntem ise spermatogonial kök hücrelerin in-vitro kültürüdür. Buradan elde edilen hücrelerin testise nakli transgenetik hayvan elde etmede de kullanılabilir. Fertilitenin sağlanmasında ksenogenik transplantasyon ve greftleme de ileriye yönelik düşünülen başka metodlardır.

Anahtar Kelimeler: Kök hücre, testis

ABSTRACT Spermatogonial stem cells are a small population of adult tissue-specific stem cells present in the testis. Formation and differentiation of spermatogonial stem cells in adults are responsible for continual production of sperm in the testis. Spermatogonial stem cells (SSCs) have the capacity to either renew themselves or to start the differentiation process, namely, spermatogenesis. Currently, spermatogonial stem cell transplantation (SSCT) is considered the most promising tool for fertility restoration, especially in young cancer patients. Successful transplantation and donor-derived spermatogenesis can lead to the restoration of fertility in infertile males. Another alternative to preserve male fertility could be in-vitro culture of SSCs. In combination with spermatogonial stem cell culture, the transplantation technique can also be used for the purpose of generating transgenic animals through the male germline. Xenogeneic transplantation and xenografting are two other hypothetical methods to preserve fertility.

Key Words: Stem cell, testis

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2008;28(Suppl):S122-S124

Kök hücreler (stem cell), hayat boyunca kendi kendilerini yenileyerek, farklılaşma kapasitesine sahip yeni hücre serileri (progenitör hücreler) üreten hücrelerdir. Bu hücre serileri de daha ileri farklılaşmaya uğrayarak, dokuya özgü fonksiyonları olan özgül hücreleri meydana getirirler. Özellikle kemik iliği, epidermis, barsak epiteli ve spermatogenez gibi sistemler, kök hücreler sayesinde kendilerini sürekli olarak yenilerler.

Testislerde spermatozoanın oluşumunda kullanılan kök hücre ise spermatogonium'dur. Spermatogonial kök hücreler vücutta bölünerek ileri jenerasyonlara gen nakledebilen tek hücre grubu olması nedeniyle özellik gösterir. Bununla birlikte, testislerde seminifer tubüller içerisinde yer alan spermatogonial kök hücreler, fe-

tus henüz 3 haftalık iken yolc kesesi endoderminden kaynaklanan ilk germ hücre serisi olan primordial germ hücrelerinden morfolojik olarak farklı bir görünüme sahiptirler ve “prospematogonium” adını alırlar. Dolayısıyla bu hücreler tek yönlü olarak germ hücre serisine farklılaşma özelliği taşımaktadırlar.

Spermatogoniumların eksperimental ortamda uygun şartlar sağlandığında daha ileri farklılaşma göstererek spermatozoid ve spermatozoa'ya farklılaşıyor olmaları, germ hücre transplantasyonu için bir umut doğurmuştur. Daha da ilginç, germ hücre transplantasyonunun son zamanlarda ortaya konulan bir diğer kullanım alanıdır. Buna göre, “*multipotent adult germline stem cells* (maGSCs)” olarak adlandırılan, testislerden izole edilmiş bir grup spermatogonium popülasyonu tanımlanmıştır.¹ maGSCs, embriyonun 3 tabakasını da oluşturacak şekilde farklılaşabilme kapasitesine sahiptir. Dolayısıyla bu spermatogonium hücreleri, embriyonik kök hücreler gibi etik ya da immünolojik bir problem yaratmaksızın, kök hücre tedavisinde ümit vermektedir. Testiküler kök hücrelerin multipotansiyel kapasiteleri, testis dokusunda *Anterior gradient-2*, *BMP*, *Epimorphin*, *Flightless*, *Frizzled*, *Notch*, *Tiarin*, *Twisted gastrulation* ve *Wnt* gibi morfogjenlerin varlığının gösterilmesiyle daha da vurgulanır duruma gelmiştir.² Bilindiği gibi morfogjenler, vücudun doku şekillenmesi ve büyümesi işlevlerinde rol alan gelişimsel regülatörlerdir. Vücuttaki ortak morfogjenlerin testiste de bulunması, testiküler kök hücrelerin hayati öneme sahip olabilecekleri konusunda destek sağlamaktadır.

Mezansimal hücrelerin kas, sinir dokusu gibi farklılaşmaları üzerine, aynı mezansimal kök hücrelerin acaba testislerde de germ serisine ait kök hücrelere farklılaşma potansiyellerinin olup olmadığı düşünülebilir. Hemopoetik seri “*side population*” hücreleri ile testislerde spermatogonial bir grup hücre, ortak *Bcrp1* gen ekspresyonu göstermektedirler.³ Her ne kadar kemik iliği transplantasyonunu takiben değişik oranlarda spermatogenez yeniden başlayabilmekteyse de,⁴ mezansimal hücrelerin germ serisi kök hücreler ile ilişkisi gösterilmiş değildir. Yakın tarihli eksperimental bir çalışmada, işaretlenmiş kemik iliği mezansimal kök hücreleri izole edilerek ksenogenik fare testisine transplante edilmiştir. Sonuçta bu hücrelerin testiste canlılığını sürdürebileceği gösterilmiş, ama herhangi bir farklılaşma izlenmemiştir.⁵

Spermatogonium transplantasyonu günümüzde eksperimental temelde geniş olarak araştırılmaktadır. Bu teknikten beklenen yararlar 1) spermatogenezin daha

iyi anlaşılabilmesi; 2) transgenetik hayvanların elde edilmesi; ve 3) erkek infertilitesinin tedavidir.

Spermatogoniumların transplante edilmelerinden önce germ hücreleri içerisine bazı genlerin katılması (transfeksiyon), gen naklinde önemli bir aşama olacaktır. Bu konuda henüz az sayıda çalışma mevcuttur. Primordial germ hücreleri içerisine gen nakli için çeşitli metodlar tanımlanmıştır. Bu amaçla elektroporasyon yapılmış ama, germ hücrelerinde ciddi hasar meydana getirdiği gözlenmiştir.⁶ Lipozom aracılığıyla transfeksiyonun ise etkinliği düşük bulunmuştur. Bir diğer gen nakil yöntemi olan $CaPO_4$ kopresipitasyon metodu %18'lik transfeksiyon etkinliği ile en iyi sonuç veren yöntem özelliğindedir. Bu yöntemle tip B spermatogonium, spermatozoid ve spermatidlere başarılı gen aşılama yapılabilmektedir.⁷

Sadece aynı türde değil, farklı türler arasında da kök hücre nakilleri başarılı olmuştur.⁸ Örneğin rat kök hücreleri fare testislerinde seminifer tübüller içerisine transplante edildiklerinde germ hücre çoğalması başarılmıştır. Benzer şekilde, hamster kök hücreleri de fare testisine başarıyla nakledilmiştir. Bu çalışmalar, değişik türlere ait spermatogonial kök hücrelerinin transplantasyonlarının mümkün olabileceğini ortaya koymaktadır (*xenogeneic* spermatogenez). Tavşan spermatogoniumlarının, spermatogenezini bloke edilmiş fare testisine nakledilmesiyle de spermatogenezin %90 oranında başladığı, hatta bu hücreler ile IVF yapıldığında, anne tavşanın kendi genetik yapısında yavru doğurduğu görülmüştür.⁹

İnsanda, türler arası germ hücrelerinin transplantasyonu başarılı sonuçlar vermemiştir.¹⁰ İnsanda testis biyopsilerinden ya da orkiektomi materyallerinden izole edilen spermatogonium, spermatozoid ve spermatidlerden oluşan miks hücre popülasyonları W/Wv fare testislerine (sadece birkaç primitif evre germ hücrelerinin bulunduğu steril fareler) transfer edilmişlerdir. Bu şekilde insan donör germ hücrelerinin enjeksiyonu yapılan fareler, 48-230 gün takip edildiklerinde, farelerin testisleri içerisinde son maturasyon evresine ulaşabilen spermatogenez yeniden başlatılamamıştır. İnsan spermatogoniumunun başka hayvanlara transplantasyonunun başarılı olabilmesi için, uygun bir alıcı hayvan türünün bulunması gerekmektedir.

Ancak, yakın tarihte insan spermatogonial kök hücrelerinin fare testislerine nakledildiklerinde, uzun süre çoğalarak canlılıklarını devam ettirdikleri izlenmiştir.¹¹ Alıcı testislerin %73'ünde donör spermatogoniumların sağlıklı biçimde çoğalabildikleri ve 6 ay canlı kalabildikleri ortaya konmuştur. Ne yazık ki, burada

farklılaşmamış spermatogonial kök hücreler 1 ay sonra farklılaşmışlarsa da, daha ileri basamaklara geçememişler, mayozu oluşturmamışlar ve neticede olasılıkla apoptoza uğramışlardır. Ancak bu çalışmalardan bazı önemli sonuçlar da elde edilmiştir: 1) nakledilen insan spermatogoniumları fare Sertoli hücreleri tarafından tanınmaktadırlar; 2) nakledilen hücreler doğru yere göç

ederek seminifer tubüller içerisinde bazal membran üzerinde yerlerini almaktadır; 3) kısa süreli de olsa çoğalabilmekte; ve 4) bir kısım kök hücre 6 ay süreyle yaşayabilmektedir. Belki insan kaynaklı bazı büyüme faktörlerinin ya da insan Sertoli hücrelerinin de alıcı testis içerisine verilmeleri, sonucu daha başarılı hale getirebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Guan K, Nayernia K, Maier LS, Wagner S, Dressel R, Lee JH, et al. Pluripotency of spermatogonial stem cells from adult mouse testis. *Nature* 2006;440:1199-203.
2. von Schalburg KR, McCarthy SP, Rise ML, Hutson JC, Davidson WS, Koop BF. Expression of morphogenic genes in mature ovarian and testicular tissues: potential stem-cell niche markers and patterning factors. *Mol Reprod Dev* 2006;73:142-52.
3. Lassalle B, Bastos H, Louis JP, Riou L, Testart J, Dutrillaux B, et al. 'Side Population' cells in adult mouse testis express Bcrp1 gene and are enriched in spermatogonia and germinal stem cells. *Development* 2004;131:479-87.
4. Jacob A, Barker H, Goodman A, Holmes J. Recovery of spermatogenesis following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:277-9.
5. Liu FH, Yang DZ, Wang YF, Liang XP, Peng WM, Cao CA, et al. [Transplantation of mouse bone marrow mesenchymal stem cells into the xenogeneic testis] *Zhonghua Nan Ke Xue* 2005;11:499-502.
6. Watanabe M, Shirayoshi Y, Koshimizu U, Hashimoto S, Yonehara S, Eguchi Y, et al. Gene transfection of mouse primordial germ cells in vitro and analysis of their survival and growth control. *Exp Cell Res* 1997;230:76-83.
7. Hofmann MC, Hess RA, Goldberg E, Millán JL. Immortalized germ cells undergo meiosis in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:5533-7.
8. Ogawa T, Dobrinski I, Avarbock MR, Brinster RL. Xenogeneic spermatogenesis following transplantation of hamster germ cells to mouse testes. *Biol Reprod* 1999;60:515-21.
9. Shinohara T, Inoue K, Ogonuki N, Kanatsu-Shinohara M, Miki H, Nakata K, et al. Birth of offspring following transplantation of cryopreserved immature testicular pieces and in vitro microinsemination. *Hum Reprod* 2002;17:3039-45.
10. Reis MM, Tsai MC, Schlegel PN, Feliciano M, Raffaelli R, Rosenwaks Z, et al. Xenogeneic transplantation of human spermatogonia. *Zygote* 2000;8:97-105.
11. Nagano M, Patrizio P, Brinster RL. Long-term survival of human spermatogonial stem cells in mouse testes. *Fertil Steril* 2002;78:1225-33.