

Ayhan YILMAZ

Yrd. Doç. Dr; Bitlis Eren Üniversitesi
Hizan Meslek Yüksek Okulu,
13000 Bitlis
ayilmaz@yyu.edu.tr,
yilayhan658@hotmail.com

Spermatogonial Kök Hücreleri ve Transplantasyonu

Spermatogonial stem cells and transplantation

Alınış (Received): 15.10.2008 Kabul tarihi (Accepted): 05.12.2008

Anahtar Sözcükler:

Spermatogenesis, spermatogonial kök hücreleri, spermatogonial kök transferi

Key Words:

Spermatogenesis, spermatogonia stem cells, spermatogonial stem cell transplantation

ÖZET

Çiftlik hayvanlarında üremenin denetimi hayvanların doğal üreme sistemlerinin sistematik olarak insan eliyle dönüştürülmesini hedeflemekte ve bu amaçla pek çok teknik geliştirilmektedir. Son yıllarda spermatogenesisin temel mekanizmasını anlamaya yönelik pek çok çalışma yapılmakta ve erkeklerde infertilitenin temel nedenleri moleküler düzeyde araştırılmaktadır. Özellikle spermatogonial kök hücreleri spermatogenesisin başlangıç noktasını oluşturan temel bir araç olarak söz konusu amaç için önemli bir materyaldir. Bu hücrelerin tür içinde ve türler arasında transferlerinin başarılması etkinliklerini daha da artırmaktadır. Ancak spermatogonia kök hücrelerinin tanımlanması noktasında uygun belirteçlerin (markers) saptanması konusunda hala ciddi bir ilerleme kaydedilememiştir. Bu bağlamda bir başka önemli konu, artan çalışmalar spermatogenesisin karmaşık bir süreçler bütünü olduğunu göstermekte ve üreme biyolojisi konusundaki bilgilerimizin yeniden gözden geçirilmesi gerektiğini açığa çıkarmaktadır. Sonuç olarak spermatogonial kök hücreleri hem hayvancılıkta hem de tıpta kullanılan olanakları bakımından umut vaat etmektedir.

ABSTRACT

The control of the reproduction in domesticated animals target to be converted by human their natural reproduction systems and for this aim; the many techniques have been developed. In recent years, to understand the basic mechanism of spermatogenesis the many studies have been performed and the main reasons of infertilities in male have been investigated at molecular level. Especially, spermatogonial stem cells are vehicle to research the biology of spermatogenesis because they begin spermatogenesis process. The importance of these cells is enhanced by managing the transplantation within species and between inter-species. At present, the main problem is that there is still not serious progress to characterize the spermatogonia stem cell, except for several markers. In this sense another topic increasing studies has been showed that spermatogenesis is a complicated process and that is came out to be re-evaluated our present biology knowledge. Lastly, spermatogonial stem cells presents the immense promise both domesticated animal breeding and human medicine

GİRİŞ

Çiftlik hayvanlarında üremenin denetimi temelde hayvanların doğal üreme sistemlerinin üretim amaçları noktasında arzu edilen boyutlarının dönüştürülmesini hedeflemekte ve bu amaçla pek çok teknik geliştirilmektedir. Bu bağlamda spermatogonial kök hücreleri ve transferi (transplantasyon) oldukça yeni bir tekniktir. Ancak kök hücrelerine ilişkin çalışmalar yeni değildir. Hatta bazı kök hücreleri, kemik iliği kök hücrelerinde olduğu gibi, uzun

yıllardır tıpta rutin olarak kullanılır. Bilindiği üzere vücudumuzda pek çok organ ve dokuda kök hücre bulunmakta ve gerektiğinde fonksiyonel hale geçerek yenileyici (regenerative) ya da tamir edici (repair) roller üstlenirler. Genel olarak vücudumuzdaki bütün kök hücreleri diğer hücrelerden farklıdır. Farklılıkları, üç ana başlıkta toplanabilir. Birincisi, bütün kök hücreleri uzun periyotlarda kendi kendilerini yenileyebilme ve bölünebilme kapasitesindedirler. İkincisi, özelleşmemiş hücreler olup spesifik hücre tiplerine dönüşebilirler ve son olarak kas, kan ve sinir hücrelerinden farklı olarak pek çok defa tekrarlı olarak bölünebilir. Ancak organ ve dokularda hiçbir aktivite göstermeden öylece kalan ve gerektiğinde yenileyici ya da tamir edici aktivitelerini gösteren bu hücrelerin, aktivasyonunu sağlayan mekanizma ve işaretel ağ (Signaling pathway) hakkında çok az şey bilinmektedir. Genellikle bunların genetik faktörler tarafından tetiklendiği düşünülmektedir. Bununla birlikte, kök hücrelerinin aktivitesinin pek çok iç ve dış faktör tarafından yönlendirildiği ve daha da önemlisi sabit bir etki modeliyle gerçekleşmediği tahmin edilmektedir (Bongso ve Richards, 2004; Nayernia ve ark., 2007).

Kök hücreleri içerisinde de spermatogonial kök hücreleri ayırt edici özelliklere sahiptir. En önemli ayırt edici özelliklerinden biri erkekler tarafından bir sonraki generasyona katkı sağlayan kök hücresi olmalarıdır. Ergin vücutta bu nitelikte başka kök hücresi bulunmamaktadır. Özellikle bu hücrelerin tür içi ve türler arasında transplastasyonunda sağlanan başarının, hem tıba hem de hayvansal üretime katkısının büyük olacağı öngörülmektedir. Öncelikle tıp açısından bakıldığında, bu teknikle kanser tedavisinden dolayı geçici veya kalıcı kısırlık meydana gelen erkeklerde gamet hücrelerinin korunması mümkün olmaktadır. İkincisi transgenik hayvanların üretilmesi ve genetik modifikasyon yapılması diğer tekniklere oranla daha kolaydır. Üçüncüsü, gamet hücrelerinin temel mekanizmasının ve fizyolojisinin anlaşılması, hem gamet hem de somatik hücre düzeyinde genetik kusurların incelenmesi noktasındaki yararı apaçıktır. Son olarak genellikle kök hücre araştırmalarının, özellikle embriyonik kök hücrelerinde olduğu gibi, sürekli olarak etik nedenlerle gündemde tutulmasına karşın spermatogonial kök hücrelerinin bu yönde sorun oluşturmadığı/oluşturmayacağı anla-

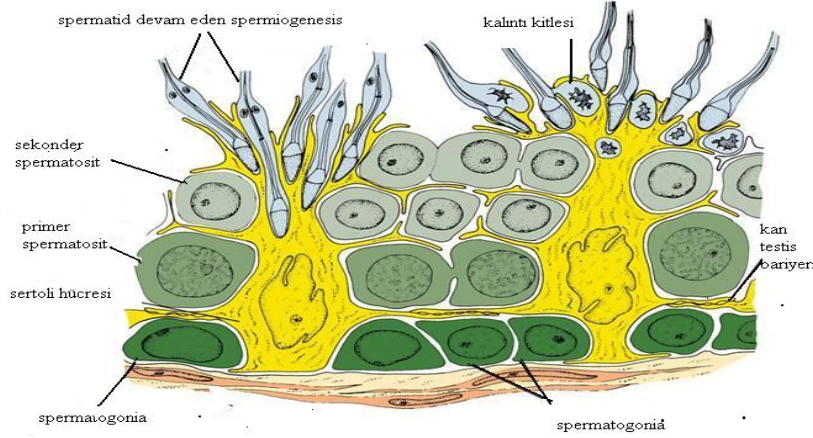
şılmaktadır. Belirtilen yararlarıyla spermatogonial kök hücre çalışmaları veya projeleri son derece ilgi toplamakta ve böylece literatür kapsamı giderek genişlemektedir (de Rooij, 1998; Meachem ve ark., 2001; Ryu ve ark., 2004; Khaira e ark., 2005; Ehmcke ve ark., 2006).

Bu derleme makalesinde spermatogonial kök hücreleri ve transplantasyonu konusundaki gelişmelerin mevcut literatür ışığında özetlenmesi amaçlanmaktadır.

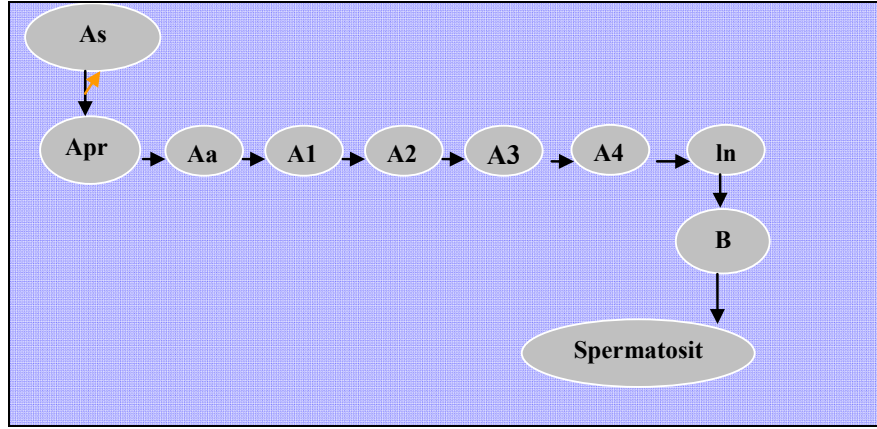
Spermatogonial Kök Hücreleri ve Spermatogenesis

Spermatogonial kök hücreleri seminiferüs tubullerin alt tabakasında bulunur ve puberta öncesinde spermatogonia olarak ifade edilir. Puberta sonrasında üç temel kategoride sınıflandırılır. Bu sınıflandırma **spermatogonia**, **çoğalan spermatogonia** ve **farklılaşan spermatogonia** olarak ifade edilir. Genellikle ilk ikisi farklılaşmamış spermatogonia (undifferentiated spermatogonia) olarak tanımlanır. Diğeri ise olgun spermatozoa oluşturmak üzere spermatogenesis döngüsüne girer. Spermatogonia çok dayanıklı bir hücredir ve yavaş bir bölünme fonksiyonuna sahiptir. Bunun yanı sıra spermatogonia kavramının sadece fonksiyonel bir tanımlama olduğunun belirtilmesinde yarar vardır. Mevcut gelişmeler kapsamında spermatogonianın tanımlanması için çok az sayıda belirteç (markers) bilinmekte ve bilinenleri de, spermatogonianın pek çok alt tipi olduğundan, sadece genel bir tanımlama için sonuç vermektedir. Şekil 1 testis içerisinde hem seminiferous tubullerin tabanında yerleşen spermatogonial kök hücreleri hem de farklılaşma nitelikleri ile spermatogenesis temel katkıları gösterilmektedir. Spermatogenesis, seminiferüs tubullerin tabanına yerleşen bu hücrelerin iç ve dış faktörlerin etkisi altında bölünmesiyle başlayan karmaşık bir süreçtir (Dym ve ark., 1995; de Rooij, 1998; Khaira e ark., 2005; Ehmcke ve ark., 2006; Lin, 2008).

Testiste, spermatogonial kök hücreleri iki temel fonksiyon üstlenirler: birincisi popülasyonlarını korumak için kendi kendilerini yenilemeleri (self-renewal) ikincisi ise spermatogenesisi oluşturmak üzere farklılaşmalarıdır (differentiation). Bu durum kemirgenler için Şekil 2'de gösterilmektedir.



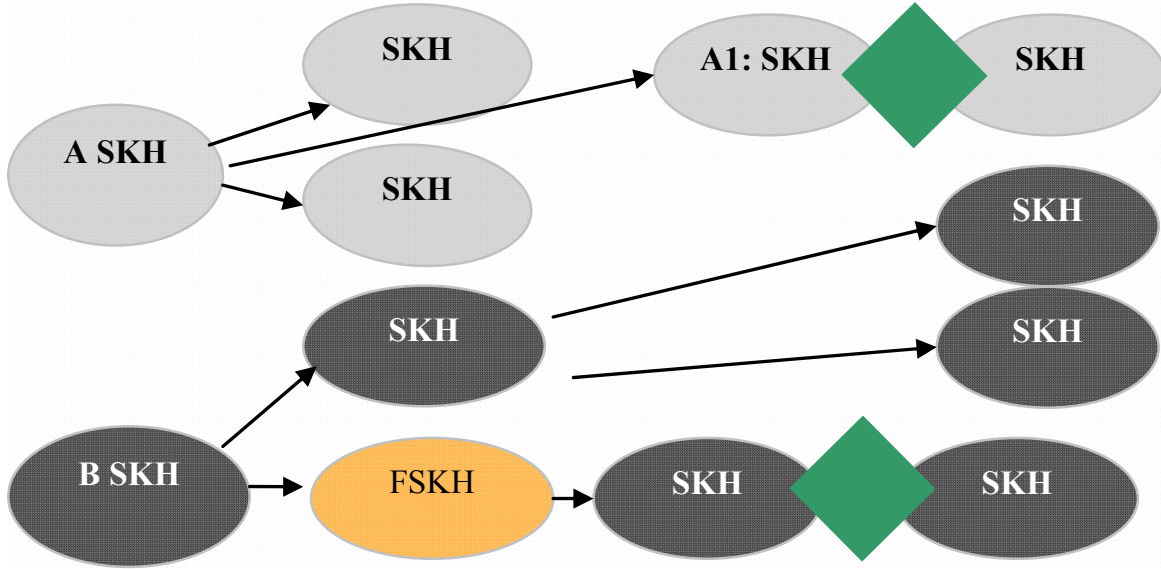
Şekil 1. Spermatogonial kök hücrelerinin lokalizasyonu ve spermatogenezdeki fonksiyonu (<http://web2.clarkson.edu/class/by310/powerpoint/03%20gametogenesis>, 2003)



Şekil 2. Kemirgenlerde spermatogonial kök hücrelerinin kendilerini yenilemesi ve farklılaşmasının şematik olarak gösterimi farklılaşan spermatogonia, A-aligned: A-paired spermatogonia'nın pek çok defa bölünmesiyle meydana gelen 4-8-32 zincirli spermatogonia (de Rooij, 2006).

Mekanizma şöyledir (Şekil 3 A-B). A-tekli spermatogonialar (A-single) bölünerek birbirinden uzaklaşır ve iki yeni kök hücre olurlar (simetrik bölünme-A). Bu spermatogonial kök hücrelerinin kendi kendisini yenilemesi işlemidir (selfrenewal). Bunun tersi de mümkündür. Direk farklılaşması söz konusu olabilir (Şekil 3-A1). Asimetrik bölünmede ise bölünme ürünü hücrelerden biri kök hücre diğeri ise farklılaşan hücredir. Bu farklılaşan hücre A-çift (A-pr) spermatogonia'yı meydana getirir. Burada farklılaşmanın en önemli belirtisi hücreler arası köprüdür (asimetrik bölünme-B). Bu yeni durum A-paired (A-pr) spermatogonia olarak ifade edilir. A-aligned spermatogonia ise hücre özelliklerinin gelişmesiyle karakterize A1, A2, A3, A4 spermatogoniaya

farklılaşmaktadır (Şekil. 2). Bu biçimlenme spermatogonik oluşumun hem başlangıç noktası hem de ilk farklılaşma durumudur. Nihayetinde bu hücreler spermatozoa (olgun erkek gamet hücresi) olurlar. Şekil 2'deki durumun spermatoz evresine kadar olan kısmın türe göre değiştiğini belirtmekte yarar vardır. Bazı türlerde **In** spermatogonia (intermediate spermatogonia evresi) söz konusu değildir. A spermatogonial kök hücrelerinin yenilenme ve farklılaşma davranışları rastgele olarak gerçekleşmemekte tersine, aydınlanmamakla birlikte çok karmaşık bir davranış mekanizmasına sahiptirler (de Rooij ve van Dissel-Emiliani, 1997; de Rooij, 2006; Oatley ve Brinster, 2008).



Şekil 3. Spermatogonial kök hücrelerinin simetrik (A: kendini yenileme veya farklılaşması (A1) ve asimetrik (B) bölünmesi ve farklılaşma belirteci hücreler arası köprü (◆) (SKH: spermatogonial kök hücreleri, FSKH: farklılaşan spermatogonial kök hücre) (Oatley ve Brinster, 2008).

Spermatogonial kök hücreleri bir yandan kendi popülasyonlarını korumak için yenileme öte yandan aşırı kök hücre yoğunluğunu önlemek için farklılaşma davranışı gösterir, böylece tümör oluşumu önlenir. Bu yüzden de spermatogonial kök hücrelerinin yenileme: farklılaşma oranının 1:1 oranında olması gerekmektedir. Bu oranın nasıl dengelendiği bilinmemekle birlikte, sertoli hücreleri tarafından kontrol edildikleri ya da sınırlandırıldıkları tahmin edilmektedir. Bu yüzden testiste spermatogonial kök hücre popülasyonu sınırlı yoğunluktadır. Örneğin, fare ve rat testislerinde toplam kök hücre popülasyonu sırasıyla 35000 ve 350 000 olarak saptanmıştır. Bu popülasyon yoğunluğu, spermatogonial kök hücre çalışmaları için bir engeldir. Ancak buna ilişkin araştırmalar devam etmekte ve deneysel olarak spermatogonial kök hücre zenginleştirme (enrich) yöntemleri geliştirilmektedir. Özellikle vitamin-A bakımından yetersiz beslenme, testisleri aşırı sıcaklığa maruz bırakma ve kriptorşid uygulamaları spermatogonial kök hücre zenginleştirmede önemli uygulamalardır. Vitamin-A bakımından yetersiz beslenme spermatogoniasis

spermatogonia A evresinde durdurmakta ve böylece spermatogoninin mayoza girmesi engellenmektedir. Diğer iki uygulama ise testis sıcaklığının vücut sıcaklığında tutularak spermatogoniasis, spermatogonia A evresinde mayoza girmesinin engellenmesiyle karakterizedir (Griswold ve ark., 1989; van Pelt ve ark., 1992; van Pelt ve ark., 1995; Shinohara ve ark., 2000; McLean et al., 2002; Barqawi et al., 2004)

Organizmada vitamin A'nın etkileri hem doğum öncesinde hem de sonrasında çok önemlidir. Uzun yıllardan beri vitamin A ve türevlerinin büyüme, gelişme, üreme, sağlık ve bazı organ-doku-hücre fonksiyonları için önemi bilinmektedir (Thompson ve ark., 1964; Lufkin ve ark., 1993; Kastner ve ark., 1996). Ancak son yıllarda spermatogonial kök hücreleri üzerine yapılan çalışmalar vitamin A ve türevlerinin spermatogoniasisde çok önemli görevler üstlendiğini açıkça göstermektedir. Öncelikle vitamin A veya türevlerinin eksikliğinde spermatogoniasis, spermatogonia A evresinde durdurulmakta (attesting of spermatogoniasis) ve mayoza girmesi engellenmek-

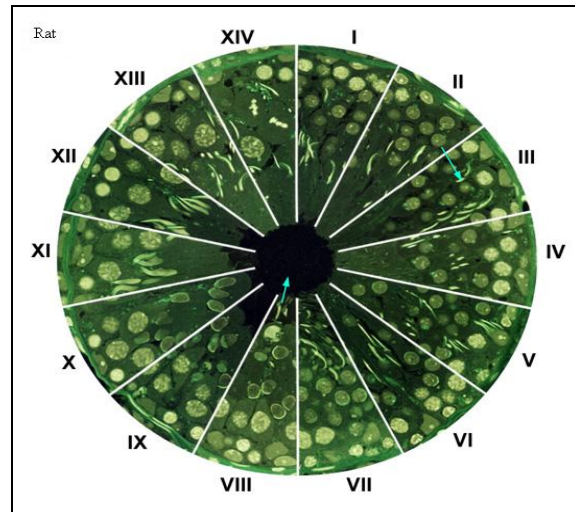
tedir. Dolayısıyla spermatogoninin mayoza girmesi için vitamin A'nın işaretsel ağına (signaling pathway) ihtiyaç duyulmaktadır. Nitekim doğum öncesinde retinoik asitin (vitamin A türevi) fetal ovaryumların tersine fetal testislerde doğum sonrasına kadar spermatogenesisi erken mayotik evrede (spermatogonia A evresinde) durdurduğu hem in vivo hem de in vitro vitamin-A denemelerinde açık bir şekilde gösterilmektedir. Dolayısıyla retinoik asitin (vitamin-A) aktif olarak içinde bulunduğu bir aktivasyon modelinde cinsiyete bağlı olarak dişilerde ömürleri boyunca potansiyel oositlerin tamamı doğum öncesinde meydana getirilirken erkeklerde bu, doğumdan sonraya ertelenmekte ve daha sonra hayatları boyunca sürekli spermatogenesisi aktivitesi meydana getirilmektedir. Retinoik asitin bu etkilerinin (actions) nasıl bir fetal testis/ovaryum mikro-çevresi içinde meydana getirildiği ise hala araştırılmaktadır (Ismail ve ark., 1990; van Pelt ve ark., 1996; Akmal ve ark., 1998; Gaemers ve ark., 1998; Cupp ve ark., 1999; de Rooij et al., 1999; Chung ve ark., 2005; Bowles ve ark., 2006; Koubova ve ark., 2006; Bowles ve Kopman, 2007; Doyle ve ark., 2007; McLean ve ark., 2007; Trautmann ve ark., 2008; Zhou ve ark., 2008). Ancak şimdiye kadar yapılan çalışmalar bu etki modelinin son derece karmaşık bir işaretsel ağ (signaling pathway) içinde gerçekleştiğini göstermektedir. Bunun daha açık olarak anlaşılması için spermatogenesisi rol oynayan pek çok faktörün, genetik faktörler de dâhil olmak üzere, evresel (stage) bağımlı değişen etkilerinin ayrıntılı değerlendirilmesinde yarar bulunmaktadır.

Spermatogenesis ve evresel (stage) bağımlı etkisi

Son yıllarda spermatogonial kök hücreleri üzerinde yapılan çalışmalar spermatogenesisin temel mekanizmasının anlaşılması noktasından önemli gelişmeler sağlamıştır: bu araştırmalar aynı zamanda spermatogenesisi yeni yaklaşımlar ve açılımlar getirmektedir. Öncelikle spermatogenesisi kendisini oluşturan faktörler bakımından çerçevesi apaçık bir olgu değildir. Değişken bir etki modeline sahiptir. Ancak bu durum, söz konusu etki modelinin rastgele gerçekleştiği şeklinde anlaşılmalıdır. Burada lokal faktörler ve aralarındaki interaksyonları önem taşır (mikro-çevre). Bu, açık bir şekilde şöyle ifade edile-

bilir. Spermatogenesisi oluşturan faktörler muazzam bir iç denetim mekanizmasına sahiptirler ve etki biçimleri evresel bir nitelik taşımaktadır. Dolayısıyla ilgili faktörlerin etki biçimleri de evre (stage) bağımlıdır. Başka bir deyişle bu mekanizma içinde yer alan faktörlerin reaksiyonları ve karakteristik özellikleri de evresel (stage) bir nitelik taşır (Moore ve Lemischka, 2006; Ryu ve ark., 2003; Ryu ve ark., 2006; Dadoune, 2007; Zhang ve Li, 2008). Bu bağlamda spermatogenesisin biline gelen hipotalamus-hipofiz-gonad eksenli oluşumu konusundaki biyoloji bilgilerimizi yeniden gözden geçirmemiz gerektiği apaçıktır. Bunun yerine lokal faktörler ve evresel bağımlı (stage-dependent) olarak birlikte oluşturdıkları mikro-çevre (niş) belirleyicidir ve büyük olasılıkla gonadotropin hormonlarının salınımı da bu değişken mikro-çevre (niş) tarafından denetlenmektedir.

Bu bağlamda mikro-çevre (niş) spermatogonial kök hücre araştırmalarında son derece orijinal ve özgün bir kavramdır. Şekil 4 ratlarda spermatogenesisin evresel (stage) aşamalarını gösterir. Toplam 15 evre söz konusudur. Bu, türe göre değişir. Şekilde 4'de dikkat çekilmesi istenen nokta her bir evrenin özgün bir mikro-çevreye (niş) sahip olduğudur. Yukarıda, değişken etki modelinden kastedilen de testis mikro-çevresinin her bir evrede farklılık göstermesidir. Evre bağımlı testis mikro-çevresinde, gen ekspresyonu da evresel bir davranış için de gerçekleşir (stage-dependent-gene expression) (Silva ve ark., 2008)



Şekil 4. Ratlarda spermatogenesisin evresel (stage) karakterizasyonu (Hess, 2004).

Spermatogonial Kök Hücrelerinin İzolasyonu ve Kültürü

Spermatogonial kök hücre çalışmalarında en önemli problem spermatogonial kök hücrelerinin karakterizasyonudur. Her ne kadar hücreler arası köprünün varlığı spermatogonianın ayırt edilmesi için önemli bir gösterge olsa da bazı çalışmalarda spermatogonialların da hücreler arası köprüye sahip olduğunu göstermiştir (Şekil 3). Dolayısıyla spermatogonia kök hücrelerinin karakterizasyonu kolay bir işlem değildir. Bu yöndeki çalışmalar devam etmektedir. Genellikle c-kit reseptörü spermatogoniada keşfedilmiş ve karakterizasyonunda uygun bir belirteç (marker) olarak kullanılmaktadır. Ancak spermatogonial kök hücrelerinin pek çok alt tipi bulunduğundan gerçek spermatogonianın tanımlanması veya izolasyonu son derece güçtür. Temelde A-tekli (single) spermatogonia gerçek spermatogonia olarak kabul edilir. Ancak bu, sadece bir yaklaşımdan ya da ön kabulden ibarettir. Bir diğer önemli güçlük ise testiste kök hücrelerinin çok sınırlı miktarda bulunmasıdır. Belirtilen son güçlüğü aşılması için çeşitli yöntemler ve yaklaşımlar geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu yöntemler testiste spermatogonial kök hücre popülasyonunu zenginleştirmeye (enrich) yönelik yöntemlerdir. Yukarıda bunlardan bahsedilmiştir. Ancak sözü edilen yöntemlerin etkili olması noktasında sorunlarla karşılaşmamasına rağmen programlı hücre ölümünün (apoptosis) doğal oluşumu kaçınılmazdır. Bu, vücudumuzda pek çok organ ve dokuda hücre yenilemesinin doğal bir sonucu olarak meydana gelmektedir. Ancak hücre apoptosisinin başka faktörlerin etkisiyle normal ölüm programlarının dışında bir apoptosise uğraması da mümkündür. Bu araştırmaya değer bir konudur. Bir başka strateji spermatogonial kök hücrelerinin elde edilmesinde çalışılan materyalin genç olmasına dikkat edilerek sağlanabilir. Genç hayvanlarda spermatogonial kök hücrelerinin saflaştırılması, yaşlı hayvanlara oranla daha kolaydır (Earnshaw ve ark., 1999; Said ve ark., 2004; Khaira ve ark., 2005).

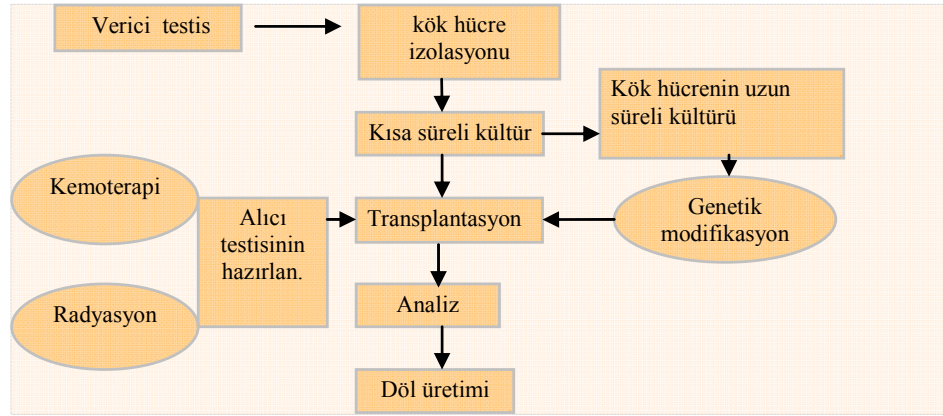
Özellikle spermatogonial kök hücre transplantasyonu bu konudaki araştırmaların etkinliğini artıran güçlü bir tekniktir. Sperma-

togonial kök hücre transplantasyonu hem tür içinde hem de türler arasında yapılabilir. Transplantasyon tekniği şematik olarak Şekil 5'de gösterilen süreç takip edilerek gerçekleştirilmektedir (Brinster ve Avarbock, 1994; Brinster ve Zimmermann, 1994; Nagano ve ark., 2002; Honaramooz ve ark., 2005). Bu, mümkün olduğunca basitleştirilmiştir.

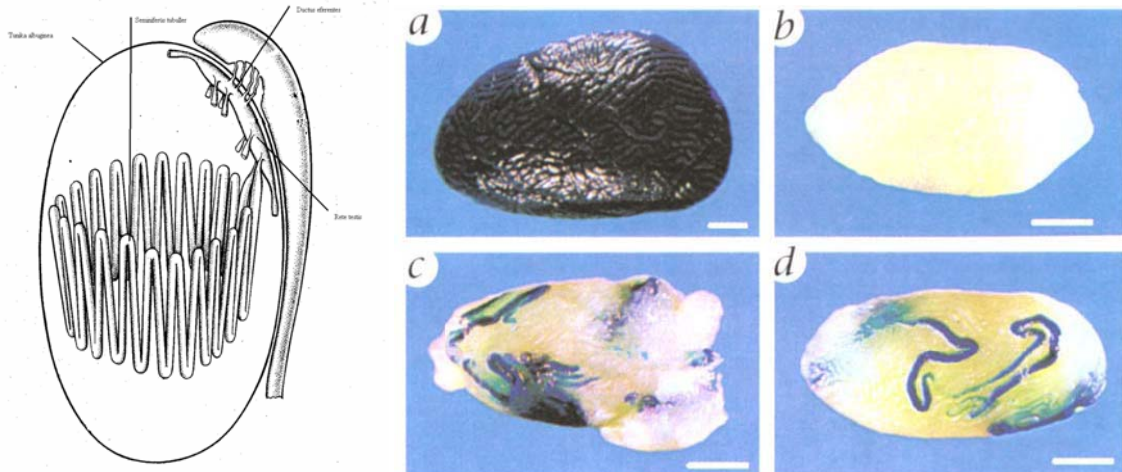
Burada çok basit olarak, verici (donor) hayvanların testislerinin enzimatik izolasyonu ile elde edilen hücrelerin uygun solüsyonlar içinde, kemoterapi veya radyasyon ile spermatogenesisin tamamen durdurulduğu alıcı (recipient-endogen spermatogenesis) hayvanlara transferleri söz konusudur. Böylece alıcı hayvanlarda verici kökenli spermatogenesis (donor-derived spermatogenesis) meydana getirilmektedir. Aynı zamanda transplantasyon öncesinde bu hücrelerin kısa-uzun süreli kültürü veya genetik modifikasyon yapılması mümkündür. Ancak bu yöndeki gelişmeler hala araştırma düzeyindedir. Bu yüzden de spermatogonial kök hücrelerinin hem kültürü hem de genetik modifikasyonu konusunda başka çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle kök hücre kültüründe uygun kültür koşullarının ve kombinasyonlarının sağlanması önemlidir. Olası uygun kombinasyonların sağlanması ise spermatogenesis mekanizmasının ve etki faktörlerinin aydınlanmasına bağlıdır (Ogawa ve ark., 1999; Kanatsu-Shinohara ve ark., 2005; Montoya ve ark., 2005).

Spermatogonial kök hücre transplantasyonu, seminiferüs tubullere, ductus deferentesler ve rete testise yapılabilir (Şekil, 6). Bu, hayvan türüne göre değişir. Özellikle büyük testisli hayvanlarda bu işlemin yapılması kemirgenlere oranla daha zordur ve ultrason desteğine ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca çok yüksek miktarda enjeksiyon ve spermatogonial kök hücre gerektirmektedir. Ancak gelinen noktada transplantasyon tekniğinin uygulanması açısından ciddi bir sorunla karşılaşılmakta ve pek çok hayvan türünde bu rutin olarak gerçekleştirilmektedir (Honaramooz ve ark., 2005).

Şimdiye kadar, kemirgenler dışında, çiftlik hayvanlarından domuz, keçi, sığır, maymun, balık ve tavukta spermatogonial kök hücre



Şekil 5. Spermatogonial kök hücrelerinin verici testisten elde edilmesinden transplantasyonuna kadar geçen aşamalar şematik olarak gösterimi (Hill ve Dobrinski, 2006).



Şekil 6. Spermatogonial kök hücre transplantasyonu ve transplantasyon sonrası testisin şematik görünümü (a: C57BL/6XSJL inkubasyonu ile spermatogenezin ileri evrelerindeki hücreler kalıtsal olarak maviye boyanmaktadır b: alıcı (recipient) testis, c,d: transplantasyon sonrası alıcı testisinin görünümü (Avarbock ve ark., 1996; Jiang ve Short, 1998)

transplantasyonunun başarılı olduğu bildirilmektedir. (Honaramooz ve ark., 2002; Izadyar et al, 2003; Schlatt et al., 2002; Okustu et al, 2006; Lee et al, 2006). Yukarıda belirtildiği gibi çiftlik hayvanlarında en uygun enjeksiyon tekniği ve yeri ultrason destekli kanül ile rete testise yapılması ile elde edilmektedir. Transplantasyonun başarılması tek başına verici kökenli spermatogenesis sağlanması için yeterli koşul değildir. Alıcı testis mikro-çevresi ile verici kökenli spermatogenesisin üretilmesi birbiriyle ilişkilidir. Özellikle alıcı (recipient) hayvanların testislerinin transplantasyon için hazırlanmasında kullanılan kimyasalların yan etkileri bulunmakta ve bu, verici kökenli

spermatogenesis üretilmesini etkileyebilmektedir. Bu problemi aşma noktasında genetik olarak kısır genotipler elde edilmektedir. Söz konusu genotiplerde spermatogenesis genetik olarak engellenmektedir (Ogawa ve ark., 1999).

SONUÇ

Spermatogenesis pek çok yönüyle karmaşık bir olgudur ve mekanizmasının aydınlatılmasında spermatogonial kök hücreleri eşsiz özelliklere sahiptirler. Özellikle tür içi ve türler arası transplantasyonunun başarılması, bu hücrelerden etkili bir şekilde yararlanılması açısından büyük bir gelişmedir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar spermatogonial kök

hücrelerinin hem tıp alanına hem de hayvansal üretime katkıları konusundaki öngörülerin yersiz olmadığını göstermektedir. Ancak spermatogonia kök hücrelerinin karakterizasyonu başta olmak üzere kültürü, uygun kültür kombinasyonlarının seçilmesi (özellikle büyüme faktörleri bakımından), genetik modifikasyonu konuları bakımlarından sağlanacak ilerlemelerle etkinliklerinin daha da artırılması beklenmektedir.

TEŞEKKÜR

Washington State Üniversitesi'nde Dr. Derek J. McLean danışmanlığında spermatogonial kök hücre transferi tekniğini çalışmalarımı destekleyen TÜBİTAK'na teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

- Akmal, K.M., J.M. Dufour, M. Vo, S. Higginson ve K.H., Kim. 1998. Ligand-dependent regulation of retinoic acid receptor α in rat testis: in vivo response to depletion and repletion of vitamin A. *Endocrinology*, 139: 1239-1248.
- Avarbock, M.R., C.J. Brinster ve R.L. Brinster. 1996. Reconstitution of spermatogenesis from frozen spermatogonial stem cells. *Nature Medicine*, 2: 693-696.
- Barqawi, A., H. Trummer ve R. Meacham. 2004. Effect of prolonged cryptorchidism on germ cell apoptosis and testicular sperm count. *Asian J. Androl.* 6: 47-51.
- Bongso, A. ve M. Richards. 2004. History and perspective of stem cell research. *Clin. Obstet. and Gynaecol.*, 18: 827-842
- Bowles, J., D. Knight, C. Smith, D. Wilhelm, J. Richman, S. Mamiya, K. Yashiro, K. Chawengsaksophak, M.J. Wilson, J. Rossant, H. Hamada ve P. Koopman. 2006. Retinoid signaling determines germ cell fate in mice. *Science*, 312: 596-600.
- Bowles, J. ve P. Koopman. 2007. Retinoic acid, meiosis and germ cell fate in mammals. *Development* 134: 3401-3411.
- Brinster, R.L. ve M.R. Avarbock. 1994. Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. *Proc Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 11303-11302.
- Brinster, R.L. ve J.W. Zimmermann. 1994. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci.*, 91: 11298-11302.
- Chung, S.S.W., X. Wang ve D.J. Wolgemuth. 2005. Male sterility in mice lacking acid receptor α involves specific abnormalities in spermatogenesis. *Differentiation*, 73: 188-198.
- Cupp, A.S., J.M. Dufour, G. Kim, M.K. Skinner ve K.H. Kim. 1999. Action of retinoids on embryonic and early postnatal testis development. *Endocrinology* 140: 2343-2352.
- Dadoune, J.P. 2007. New insights into male gametogenesis: what about the spermatogonial stem cell niche. *Folia Histochemica Et Cytobiologica* 45: 141-147.
- de Rooij, D.G. 1998. Stem cells in testis. *Int. J. Exp. Pathol.*, 79: 67-80.
- de Rooij, D.G. ve F. van-Dissel-Emiliani. 1997. Regulation of proliferation and differentiation of stem cells in the germ line. In: Potten C, ed. *stem cells*, San Diego, Calif: Academic press; 283-313.
- de Rooij, D.G., M. Okabe ve Y. Nishimune. 1999. Arrest of spermatogonial differentiation in *jsd/jsd*, *Sl17H*, and cryptorchid mice. *Biol. Reprod.* 61: 842-847.
- de Rooij, D.G. 2006. Regulation of spermatogonial stem cell behavior in vivo and in vitro. *Anim. Reprod.* 3: 130-134.
- Doyle, T.J., K.W. Braun, D.J. McLean, R.W. Wright, M.D. Griswold ve K.H. Kim. 2007. Potential functions of retinoic acid receptor A in Sertoli cells and germ cells during spermatogenesis. *N.Y. Acad. Sci.*, 1120: 114-130.
- Dym, M., M. Jia, G. Dirami, J. Price, S. Rabin, I. Mocchetti ve N. Ravindranath. 1995. Expression of c-kit receptor and its autophosphorylation in immature rat type A spermatogonia. *Biol. Reprod.* 52: 8-19.
- Earnshaw, W.C., L.M. Martins ve S.H. Kaufmann. 1999. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu. Rev. Biochem.* 68: 383-559.
- Ehmcke, J., J. Wistuba ve S. Schlatt. 2006. Spermatogonial stem cells: questions, models and perspectives. *Human Reprod.* 12: 275-282.
- Gaemers, I.C., A.M.M. van Pelt, A.P.N. Themmen ve D.G. de Rooij. 1998. Isolation and Characterization of All-trans-Retinoic acid-responsive genes in the rat testis. *Mol. Reprod. and Dev.*, 50: 1-6.
- Griswold, M.D., P.D. Bishop, K.H. Kim, R. Ping, J.E. Siiteri ve C. Morales. 1989. Function of vitamin A in normal and synchronized seminiferous tubules. *Ann N Y Acad Sci*, 546: 154-172.
- Hess, R.A., 2004. Stages-photos <http://vetmed.illinois.edu/~rexhess/Images/testis/stgwhel.JPG>. Erişim: November 2004.

- Hill, J.R. ve I.Dobrinski. 2006. Male germ cell transplantation in livestock. *Reproduction, Fertility And Development*, 2006, 18,13-18.
- Honaramooz, A., S.O. Megee ve I. Dobrinski. 2002. Germ cell transplantation in pig. *Biol. Reprod.*, 60: 2128.
- Honaramooz, A., E., Behboodi, C.L. Hausler, S. Blash, S.L. Ayres, C. Azuma, Y. Echelard ve I. Dobrinski. 2005. Depletion of endogenous germ cells in male pigs and goats in preparation for germ cell transplantation. *J. Androl.*, 26: 698-705.
- Ismail, N., C. Morales ve Y Clermont. 1990. Role of spermatogonia in the stage-synchronization of the seminiferous epithelium in Vitamin A deficient rats. *Am J Anat.*, 188 (1): 57-63.
- Izadyar, F., K., T.A.E. den Ouden, Stout, J. Stout, J. Coret, D.P.K. Lankveld, T.J.P. Spoormakers, B. Colenbrander, J.K. Oldenbroek, K.D. Van der Ploeg, H. Woelders, H.B. Kal ve D.G. de Rooij. 2004. Aoutlogous and homologous transplantation of bovine spermatogonial stem cells. *Reproduction*, 126: 765-774.
- Jiang, F.X. ve R.V. Short. 1998. Male germ cell transplantation: present achievements and future prospects. *Int. J. Dev. Biol.* 42: 1067-1073.
- Kanatsu-Shinohara M. Miki, K. Inoue, N. Ogonuki, S. Toyokuni ve A. Ogura. 2005. Longterm culture of mouse male germline stem cells under serum-or feeder-free conditions. *Biol. Reprod.*, 72: 985-91.
- Kastner, P., M. Mark, M. Leid, A. Gansmuller, W. Chin, J.M. Grondona, D. Decimo, W. Krezel, A. Dierich ve P. Champon. 1996. Abnormal spermatogenesis in RXR β mutant mice. *Genes and Dev.*, 10: 80-92.,
- Khaira, H., D. McLean, D.A. Ohl ve G.D. Smith. 2005. Spermatogonial stem cell isolation, storage, and transplantation. *J. Androl.*, 26: 442-450.
- Koubova, J., D.B. Menke, Q. Zhou, B. Capel, M.D. Griswold ve D.C. Page. 2006. Retinoic acid regulates sex-specific timing of meiotic initiation in mice. *PNAS*, 103 (8): 2474-2479.
- Lee, Y.M., J.G. Jung, J.N. Kim, T.S. Park, T.M. Kim, S.S. Shin, D.K. Kang, J.M. Lim ve J.Y. Han. 2006. A testis-mediated germline chimera production based on transfer of chicken testicular cells directly into heterologous testes. *Biol. reprod.* 75: 380-386.
- Lin, H. 2008. Cell biology of stem cells: an enigma of asymmetry and self-renewal. *J. Cell Biol.*, 180: 257-260.
- Lufkin, T., D. Lohnes, M. Mark, A. Dierich, P. Gorry, M.P. Gaup, M. LeMeur ve P. Champon. 1993. High postnatal lethality and testis degeneration in retinoic acid receptor α mutant mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.Dev. Biol.*, 90: 7225-7229.
- Meiosis is the first step in gametogenesis: separation of homologous chromosomes into haploid daughter cells, 2003. <http://web2.clarkson.edu/class/by310/powerpoint/03%20gametogenesis.ppt>. Erişim: 2003
- McLean, D.J., L.D. Russel, M.D. Griswold. 2002. Biological activity and enrichment of spermatogonia stem cells in vitamin A-Deficient and Hyperthermia-exposed testes from mice based on colonization following germ cell transplantation. *Biol. Reprod.*, 66: 1347-1379.
- McLean, G., H. Li, D. Metzger, P. Champon ve M. Petkovich. 2007. Apoptotic extinction of germ cells in testes of Cyp26b1 knockout mice. *Endocrinology* 148 (10): 4560-4567.
- Meachem, S., V. von Schönfeldt ve S. Schlatt. 2001. Spermatogonia: stem cells its a great perspective. *Reproduction* 121: 825-634.
- Montaya, F.U., C.M. Verfaillie ve W.S. Hu. 2005. Culture systems for pluripotent stem cells. *J. Biosci. and Bioeng.* 100: 12-27.
- Moore, K.A. ve I.R. Lemischka. 2006. Stem cells and their Niches. *Science*, 311: 1880-1884.
- Nagano, M., P. Patrizio ve R.L. Brinster. 2002. Long-term survival of human spermatogonial stem cellsin mouse testes. *Fertil.and Steril.*, 78: 1225-1233.
- Nayernia, K., J.H. Lee, W. Engel, J. Nolte, N. Drusenheimer, K. Rathsack, A. Dev, G. Wulf, I.E. Ehrmann, D. David Elliott, U. Zechner, T. Haaf, A. Meinhardt, H.W. Michelmann, G. Hasenfuss ve K. Guan. 2007. From stem cells to germ cells nnd from germ cells to stem cells. *Iranian J. Reprod. Med.*, Vol. 5. No.2. pp:41-44.
- Oatley, J.M. ve R.L. Brinster. 2008. Regulation of spermatogonial stem cll self-renewal in mammals. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 24: 263-286.
- Ogawa, T., I. Dobrinski ve R.L. Brinster. 1999. Recipient preparation is critical for spermatogonial transplantation in the rat. *Tissue Cell*, 31: 461-472.
- Okustu, T., K., Suzuki, Y. Takeuchi, T., Takeuchi ve G. Yoshizaki. 2006. Testicular grm cells can colonize sexually undifferentiated embryonic gonag and produce functional egges in fish. *Proc Natl acad Sci., USA*, 103: 2725-2729
- Ryu, B.Y, K.E. Orwig, M.R. Avarbock ve R.L Brinster. 2003. Stem cell and niche development in the postnatal rat testis. *Dev. Biol.*, 63: 253-263.
- Ryu, B.Y, K.E. Orwig, H. Kubota, M.R. Avarbock ve R.L. Brinster. 2004. Phenotypic and functional characteristics of spermatogonial stem cell in rats. *Dev. Biol.*, 274: 158-170.
- Ryu, B.Y., K.E. Orwig, J.M. Oatley, M.R. Avarbock ve R.L. Brinster. 2006 Effect of aging and niche microenvironment on spermatogonial stem cell self-renewal. *Stem Cells*, 24: 1505-1511
- Said, T.M., U. Paasch, H.J. Glander ve A. Agarwal. 2004. Role of caspases in male infertility. *Human Reprod.*, 10: 39-51.

- Schlatt, S., L., Foppiani, L., C. Rolf, G.F., Weinbauer ve E., Nieschlag. 2002. Germ cell transplantation into X-irradiated monkey testes. *Hum. Reprod.*, 17: 55-62.
- Shinohara, T., M.R. Avarbock ve R.L Brinster. 2000. Functional analyses of spermatogonial stem cells in steel and cryptorchid infertile mouse models. *Dev. Biol.*, 220: 401-411.
- Silva, C., J.R. Wood, L. Salvador, Z. Zhang, I. Kostetskii, C.J. Williams, J.F. Strauss III. 2008. Expression profile of male germ cell-associated genes in embryonic stem cell cultures treated with all-trans retinoic acid and testosterone. *Mol. Reprod. Dev.* Wiley-Liss, Inc., www.interscience.wiley.com. Erişim: 2008
- van Pelt, A.M.M., C.E. Van Den Brink, D.G. de Rooij ve P. T Van Der Saag. 1992. Changes in retinoic acid receptor Messenger Ribonucleic acid levels in the vitamin A-deficient rat testis after administration of retinoids. *Endocrinology*, 131: 344-350.
- van Pelt, A.M.M., F.M.F. Van Dissel-Emiliani, I.C. Gaemers, M.J.M. Van Der Burg, H.J. Tanke ve D.G. de Rooij 1995. Characteristics of A spermatogonia and preleptotene spermatocytes in the vitamin A-deficient rat testis. *Biol. Reprod.*, 53: 570-578.
- van Pelt, A.M.M., A.R. Morena, F.M.F. Van Dissel-Emiliani, C. Boitani, I.C. Gaemers, D.G. de Rooij ve M. Stefanini. 1996. Isolation of the synchronized A spermatogonia from adult vitamin A-deficient rat testes. *Biol. Reprod.*, 55: 439-444.
- Thompson, J.N., J.M. Howell ve G.A.J. Pitt. 1964. Vitamin A and reproduction in rats. *Proc. R.Soc. Lond. Ser. B. Biol. Sci.* 195: 510.
- Trautmann, E., M.J. Guerquin, C. Duquenne, B. Lahaye, R. Habert ve G. Livera. 2008. Retinoic acid prevents germ cell mitotic arrest in mouse fetal testes. *Cell Cycle* 7(5): 656-66.
- Zhang, J. ve L. Li, 2008. Stem cell Niche: Microenvironment and Beyond. *J. Biol. Chemist.* 283: 9499-9503.
- Zhou, Q., Y. Li, R. Nie, P. Friel, D. Mitchell, R.M. Evanoff, D. Pouchnik, B. Banasik, J.R. McCarrey, C. Small ve M.D. Griswold. 2008. Expression of stimulated by retinoic acid gene 8 (Stra8) and maturation of murine gonocytes and spermatonia induced by retinoic acid in vitro. *Biol. Reprod.*, 78: 537-545.