



## **Somit Gelişiminin Moleküler Mekanizması** **Molecular Mechanism of Somite Development**

Gülfidan Coşkun<sup>1</sup>, Hülya Özgür<sup>1</sup>, Sait Polat<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Adana, Turkey

### **ABSTRACT**

From third week of gestation, notochord and the neural folds begin to gather at the center of the embryo to form the paraxial mesoderm. Paraxial mesoderm separates into blocks of cells called somitomeres at the lateral sides of the neural tube of the head region. At the beginning of the third week somitomeres take ring shapes and form blocks of somites from occipital region to caudal region. Although somites are transient structures, they are extremely important in organizing the segmental pattern of vertebrate embryos. Somites give rise to the cells that form the vertebrae and ribs, the dermis of the dorsal skin, the skeletal muscles of the back, and the skeletal muscles of the body wall and limbs. Somitogenesis are formed by a genetic mechanism that is regulated by cyclical expression of genes in the Notch, WNT and fibroblast growth factor signaling pathways. The prevailing model of the mechanism governing somitogenesis is the "clock and wave front". Somitogenesis has components of periodicity, separation, epithelialization and axial specification. According to this model, the clock causes cells to undergo repeated oscillations, with a particular phase of each oscillation defining the competency of cells in the presomitic mesoderm to form a somite. Any disruption in this mechanism can be cause of severe segmentation defects of the vertebrae and congenital anomalies. In this review, we discuss the molecular mechanisms underlying the somitogenesis which is an important part of morphogenesis.

**Key words:** Somite, somitogenesis, embryo, notch, WNT, fibroblast growth factor.

### **ÖZET**

Gestasyonun 3. haftasından itibaren notokord ve nöral tüp şekillenirken, mezodermal germ tabakası hücreleri orta hat çevresinde gevşek bir doku katı olan paraksiyal mezodermi oluştururlar. Baş bölgesinde nöral tüpün her iki yanında paraksiyal mezoderm hücreleri de somitomer denilen hücre



bloklarını meydana getirirler. 3. haftanın başında somitomerler halka şeklini alarak oksipital bölgeden kaudale doğru somit adı verilen doku blokları şeklinde dizilirler. Somitler geçici yapılar olmasına rağmen omurgalı embriolarında vertebranın segmental organizasyonu için oldukça önemlidirler. Vertebra ve kaburgalar, sırt derisi dermisi, sırt iskelet kasları, vücut duvarı iskelet kasları ve ekstremiteler kasları somitlerden köken alan hücrelerden gelişen yapılardır. Somit oluşum süreci olan somitogenezis; Notch, WNT ve fibroblast büyüme faktörü sinyalizasyon genlerinin siklik ekspresyonu tarafından düzenlenen genetik bir mekanizmanın kontrolünde gerçekleşir. Bu mekanizma, "clock and wave front" modeli ile somitogenezisi yönetir. Bu modelde zamana bağlı olarak hücreler tekrarlanan salınımlar gerçekleştirirler. Her bir salınım presomitik mezoderm hücrelerinin somitleri oluşturmadaki yeterliliğini belirleyen birer fazdan ibarettir. Somit oluşumu (somitogenezis); periyodisite, ayrılma, epitelizasyon, aksiyal spesifikasyon ve farklanma komponentlerine sahip bir olaylar zinciri sonucu gerçekleşir. Bu mekanizmadaki herhangi bir bozukluğun vertebrada ciddi segmentasyon defektlerine ve konjenital anomalilere de yol açtığı bilinmektedir. Bu derlemede, morfogenez sürecinin önemli bir parçası olan somitogenezde rol alan moleküller ve bu moleküllerin birbiriyle ilişkileri tartışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Somit, somitogenezis, embriyo, notch, WNT, fibroblast büyüme faktörü .

## Giriş

Embriyonik gelişim ve farklanma sırasında doku ve organların nerede ve ne zaman gelişeceği türler arasında farklılık göstermekle birlikte indüklenen regülatör mekanizmaların kontrolü altında gerçekleşmektedir. Bu regülatör mekanizmalar birbirini tetikleyen ve inhibe eden olaylar dizininden oluşmaktadır. Embriyoda vertebra, kaburgalar ve kasların oluşum sürecini kapsayan somitogenezis de bu regülatör mekanizmalardan biridir. Notch, WNT ve FGF (Fibroblast Growth Factor) sinyalizasyon genlerinin siklik ekspresyonu somitogenezisin kontrolünde rol oynamaktadır. Sinyalizasyondaki herhangi bir aksaklık geri dönüşümü olmayan konjenital anomalilere neden olabilmektedir. Bu nedenle bu derlemede, embriyonik dönemin en önemli regülatör mekanizmalarından biri olan somitogenezis sırasında gerçekleşen moleküler mekanizmaların güncel literatür kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır.

## Paraksiyal Mezoderm Farklanması

İnsanda, ince-uzun, terlik şekilli nöral plak gestasyonun 20. gününde yavaş yavaş primitif çizgiye doğru genişler. Üçüncü haftanın sonunda, nöral plağın lateral kenarları yükselir ve nöral katlantıları şekillendirir. İlk indüksiyondan sonra nöral plak merkezinde nöral oluk

şekillenir ve katlantılar orta hatta birbiri ile kaynaşır. Kaynaşma önce 4. somitin olduğu servikal bölgede başlar, kranial ve kaudale doğru ilerler. Katlantıların ortada birleşmesi tamamlanınca merkezi sinir sisteminin ilkel taslağı olan nöral tüp ortaya çıkmış olur. Bu tüp, sefalik ve kaudal bölümlerde geçici olarak açıktır. Nöral tüpün sefalik ve kaudal uçları anterior ve posterior nöroporlar yolu ile amnion boşluğu ile ilişkide kalır. Anterior nöropor 25. günde (18-20 somitli dönem) posterior nöropor ise 27.günde (25 somitli dönem) kapanır. Böylece nörolasyon tamamlanır ve merkezi sinir sisteminin ilk taslağı kapalı tübüler bir yapı halinde belirmiş olur. Geniş sefalik bölgeden beyin vezikülleri, dar ve uzun olan kaudal kısımdan ise spinal kord gelişir<sup>1-4</sup>.

Embriyogenez sırasında paraksiyal mezoderm oluşumu, gastrulasyon ile başlar. Notokord ve nöral tüp şekillenirken epiblast hücreleri primitif çizgi boyunca invagine olup epitelyal karakterini yitirirler ve mezenkimal hücrelere dönüşürler<sup>1-4</sup>. WNT, FGF ve BMP (Bone morphogenetic protein) genleri de bu dönüşümü regüle ederler<sup>5</sup>. Böylelikle paraksiyal mezoderm tepe-kuyruk yönünde orta hatta yakın bölgelerde nöral tüp ve notokord boyunca uzanan kalınlaşmış bir plaka halinde şekillenir. Her bir paraksiyal mezoderm kolunu, lateralde ara mezoderm ile devam eder. Ara mezoderm de her iki yanda incelerek lateral mezoderm halini alır. Lateral mezoderm somatik (pariyetal) ve splanknik (visseral) kolları intraembriyonik kaviteyi döşerler. Pariyetal mezoderm amniyonu örten mezoderm ile devam ederken, visseral mezoderm yolk kesesini örten mezoderm ile devam eder. Bu iki tabaka birlikte intraembriyonik kölomik boşluğu çevreler<sup>1-3</sup>.

## Somitogenesis

Paraksiyal mezoderm; nöral tüpün her iki yanında baş bölgesinde somitomerleri oluşturur. Üçüncü haftanın başında "somitomer" denilen bu paraksiyal mezoderm hücreleri halka şeklini alarak oksipital bölgeden kaudale doğru "somit" adı verilen doku bloklarını meydana getirir<sup>1-3</sup>. Somitler geçici yapılar olmasına rağmen omurgalı embriyolarında vertebranın segmental organizasyonunu için önemlidir. Vertebra ve kaburgalar, sırt derisi dermisi, sırt iskelet kasları, vücut duvarı iskelet kasları ve ekstremiteler kasları somitlerden köken alan hücrelerden gelişen yapılardır<sup>3</sup>. WNT, FGF ve BMP'den oluşan genetik regülatör kompleks, PSM (Presomitic mesoderm)'den tomurcuklanan somit boyutunu ve bu somitlerin rostral-kaudal düzenini kontrol eder<sup>5</sup>.

İlk somit çifti 20. gün civarında embriyonun oksipital bölgesinde gelişir. Kraniokaudal yönde her gün 3 yeni somit çifti gelişir. 5. haftanın sonuna kadar 4 oksipital, 8 servikal, 12 torasik, 5 lomber, 5 sakral ve 8-10 koksigeal çift olmak üzere toplam 42-44 çift somit meydana gelir. İlk oksipital ve son 5-7 koksigeal çift kaybolur, kalanlardan iskelet eksenini şekillenir<sup>1,2</sup>. Yeni somitler paraksiyal mezodermin rostral son kısmından düzenli aralıklarla tomurcuklanarak sefalokaudal yönde gelişir. Yoğunlaşan somitler, epitel aracılığıyla birbirlerine bağlı durumdadır. Toplam somit sayısı türlere göre değişmektedir; tavuklarda 50, farelerde 65 ve bazı yılanlarda 500 kadardır<sup>3</sup>.

Gelişimin bu döneminde embriyonun yaşı sahip olduğu somit sayısı ile ifade edilir. Bu yüzden gestasyonun 20.-30. günleri arası "somit dönemi" olarak kabul edilir. Baş bölgesinde ki ilk 7 somitomer çifti nöral plağın segmentasyonu ile "nöromer" haline dönüşür. Nöromerler; kafatasının tabanı, oksipital bölgenin küçük bir kısmı, kraniofasial bölgedeki istemli kaslar (dil ve iris kasları dışında göz ve faringeal arkuslarla ilgili kaslar), başın arkasındaki deri ile bağ dokusu ve prosensefalonun kaudalindeki beyin zarlarının oluşumunu sağlar<sup>1,2</sup>.

Somit oluşumu (somitogenezis); embriyonun anterior-posterior aksisi boyunca segmentlere ayrılma süreci olup periyodisite, ayrılma, epitelizasyon, aksiyal spesifikasyon ve farklılaşma bileşenlerine sahiptir<sup>3</sup>.

### Periyodisite

Segmentasyon saati denilen salınım mekanizmasıyla periyodisite ortaya çıkar. Somit gelişim mekanizması için bugün en geçerli model; Cooke ve Zeeman (1976)'ın "clock and wavefront" modelidir. Bu modele göre zamana bağlı olarak hücreler tekrarlayan salınımlara maruz kalırlar. Her bir salınımda presomitik mezoderm (Segmentersiz paraksiyal mezoderm) hücreleri somit oluşturma yeteneği kazanırlar<sup>3,5-8</sup>. Oluşan döngüsel (siklik) dalgalar, somitin pozisyonunu düzenleyip embriyonun posterior gelişimini kontrol ederler. Bu modelde somit fissurları ancak uygun zamanda döngüsel dalga ile gelen bir grup hücre tarafından oluşturulur<sup>7</sup>. Somit oluşumu sırasında bu periyodikliğin kontrolünü sağlayan mekanizma hakkında çok fazla şey bilinmemesine rağmen bu yolda görev alan anahtar ajanlardan birinin "Hairy gen" olduğu bilinmektedir. Hairy geni (Hairy1) bu kadar ilgi çekici yapan dinamik bir model gösterilmiştir. Tüm omurgalılarda segmentasyonda görev alan Notch'un aktivitesindeki salınım ile indüklenen Hairy gen önce her bir somitin kaudal yarısında ekspresyona uğrar<sup>5,8,9</sup>. Kaudal bölgedeki bu ekspresyon 15 saat sürmektedir. Sonrasında da Hairy gen presomitik

mezoderm de siklik dalgalar şeklinde eksprese olmaktadır. Presomitik mezodermin önce en kaudalinde başlayan ekspresyon, anteriore kayar ve yeni oluşacak somit formuna ulaşır. Daha sonra bu dalga şeklindeki ekspresyon anterior ekspresyon bölgesi kalacak şekilde geriler. Kaudal bölgenin anterior ekspresyon bölgesi ise bir sonraki somiti oluşturacaktır. Her bir somitin oluşması 90 dakika sürmektedir<sup>3,5,7-10</sup>. Notch sinyalizasyonu Hairy1 negatif geri besleme mekanizmasıyla regüle edilmektedir. Fare ve tavuklarda yapılan çalışmalarda diğer bir önemli salınım geni olan Lfng (Lunatic fringe)'nin de Notch aktivitesini modifiye eden bir glikoziltransferazı kodladığı rapor edilmiştir. Aşırı notch üretimi Lfng tarafından negatif geri besleme mekanizmasıyla baskılanmaktadır. Fare ve tavuk embriyolarında yapılan çalışmalarda Snail1 ve Snail2 ekspresyonunda bir hatanın Lfng salınımını durdurarak epitelyal somit oluşumunda hataya neden olduğu gösterilmiştir<sup>11,12</sup>.

FGF ve WNT proteinlerinin embriyonun posterioründen başlayan gradient artışı presomitik mezodermin anterior ucuna doğru azalır. FGF/WNT sinyalizasyonları somit oluşumu için gereken morfogenetik programı başlatamazlar. Anterior presomitik mezoderm hücrelerine ulaşan dalgalar; FGF/WNT etkisi dışında somit oluşumunu sağlayan gen ekspresyonlarına izin verirler. Notch modülatörü olarak WNT ve FGF sinyalizasyonunun da memelilerde somitlerin segmentasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir. Notch ve WNT sinyalizasyonu FGF sinyalizasyonuna bağımlı şekilde regüle olurken, FGF sinyalizasyon üyelerindeki salınım Notch sinyalizasyonundan bağımsız olarak gerçekleşir. FGF ve WNT karşılıklı olarak birbirini regüle ederler. İkisi de PSM'de progenitör hücre popülasyonunun devamlılığına yardımcı olur. FGF sinyalizasyonu somitik farklanmayı inhibe eder bu nedenle PSM hücreleri FGF sinyalizasyonun azaldığı bölge olan anterior yöne eksen boyunca yer değiştirir. WNT, FGF veya Notch sinyalizasyonundan hiç biri tek tek segmentasyon için primer yürütücü değildir ancak bir arada fonksiyonel anlamda iş görürler<sup>13,14</sup>.

Vitamin A türevi olan retinoik asit, birçok açıdan omurgalı embriyogenezi için gereklidir. Embriyoda rostrale doğru azalan RA (Retinoik asit) gradienti de anterior posterior hattın belirlenmesini sağlar. Uygun RA seviyesi presomitik mezoderimde asimetric Snail1 ekspresyonunu engeller. RA, esas olarak laterilizasyonda kritik öneme sahiptir ve paraksiyal mezodermi laterilizasyon sinyallerine karşı tamponlar. RA eksikliğinde somitogeneze asimetric gözlenir. RA, Raldh2 (Retinaldehid dehidrogenaz-2) tarafından katalizlenirken Cyp26 (Cytochrome P450 26A) enzimi tarafından hidrolize edilir. Cyp26 enzimi aracılı RA hidrolizasyonu Fgf8 (Fibroblast growth factor 8) ekspresyonunu baskılanır. Fgf8 süpresyonu,

Fgf reseptör-1'i aktive ederek tekrar Cyp26 geninin ekspresyonunu indükleyerek rostral yönde retinoik asit konsantrasyonunda azalmaya neden olur. Fgf reseptör-1 tarafından indüklenen Notch sinyalizasyon geni olan Hes7 (Hairy enhancer of split), hem kendinin hem de Lfng'nin süpresyonuna neden olarak Notch aktivasyonunu sağlar<sup>5,15</sup>.

### Ayrılma

Hedefi tam olarak bilinmemekle birlikte hairy gen bir transkripsiyon faktörü kodlamaktadır. Direkt veya indirekt olarak olası hedefi Ephrin geni ve reseptörüdür. Eph reseptör proteinleri ve onların ligandları; membran bağlayıcı proteinler olup, somitler ve göç eden nöral krest hücreleri arasında işmeye neden olur. Ayrıca ephrin (Ephrin ligandı) ve Eph (Ephrin reseptörü), somitlerin ayrılmasında da kritik role sahiptir<sup>5</sup>. Memelilerdeki MesP2 (Mesoderm posterior protein 2), kuşlardaki cMeso1 (chicken homolog of mouse Mesp2) ve Tbx18 (T-box transcription factor 18) posterior sınır hücrelerinde Eph yükseltgenmesinde rol alan regülatörlerdir. İntersomitik fissur oluşturmak üzere hücre içi sinyallerle birlikte bu regülatörler anterior sınır hücrelerinde Eph ekspresyonuna neden olurlar. Anterior sınır hücrelerindeki Eph tarafından ephrin sinyalleri aktive edilirler<sup>16</sup>. Her bir somitin anterioründe Eph ekspresyonu ve posterioründe ise ephrin ekspresyonu gerçekleşir. Bu ekspresyonlar somitler PSM'den uzaklaştıkça azalır. Presomitik mezodermden somitin ayrılması; somitin posterioründeki EphrinB2 ve presomitik mezodermin anterioründeki EphA4 arasında meydana gelir. Presomitik mezodermden oluşacak yeni somitlerde ise bir önceki somit ayrılana kadar ephrin ekspresyonu gerçekleşmemektedir. Bu sinyalizasyonda bir hata anormal somit oluşumuna neden olmaktadır<sup>3,5,16</sup>.

Morfolojik somit oluşumu presomitik mezodermin anterior ucunda başlarken, moleküler segmentasyon presomitik mezodermin anterior 1/3'lük kısmına ilerlemiştir. Anterior-posterior kutuplaşmasında MesP2 ve Delta/Notch sinyalizasyonu önemli rol oynamaktadır. Notch-WNT aktivasyon yolağı geri besleme mekanizması kontrolü altında Lfng ve Hes7 salınımını indükler. Presomitik mezodermin 1/3'lük rostral kısmında eksprese olan Dll1 (Delta like gene-1) ve Notch1 bir sonraki somitin posterior sınırını, MesP2 ise anterior sınırını oluşumunu sağlar. MesP2; Dll2'yi baskılar ve geri besleme mekanizmasıyla Notch aktivasyonunu inhibe eden Lfng ekspresyonunu indükler<sup>5,6</sup>.

Somitlerde anterior-posterior kutuplaşma ile ilgili olarak iki olasılık kabul edilmektedir<sup>5,6</sup>. Anterior-posterior kutuplaşması ya fissur oluşumundan önce ya da fissur oluşumu sırasında

gerçekleşmektedir. İlk olasılığı destekleyen kanıt ise fissur sınırının oluşumundan önce somitin anterior yarısında MesP2 ekspresyonunun başlamasıdır. Farelerle yapılan çalışmalarda Mesp2'de ki fonksiyonel bir delesyonun somitlerde anterior karakter kaybına neden olduğu rapor edilmiştir. İkinci olasılığı destekleyen kanıtlar ise tavuklarda yapılan doku transplantasyon analizleriyle ortaya konmuştur. Morfolojik olarak fissurun ektopik formasyonunun orijinal Anterior-Posterior kutuplaşmasını yeniden düzenlediği gözlenmiştir<sup>17</sup>.

### Epitelizasyon

Tavuklarda yapılan birçok çalışmada, mezenkimal dokunun epitelyal bloklara dönüşümünün somitlerin ayrılmasından hemen önce gerçekleştiği gösterilmiştir. Anterior sınır hücreleri epitelizasyona giderken, posterior sınır hücreleri bir süre daha mezenkimal yapıda kalırlar. Somitomer hücreleri rastgele mezenkimal yığın şeklinde organize olurlar. Fibronektin ve N-cadherin iki ekstrasellüler matriks proteinin senteziyle sıkı bağlantılar oluşur ve kendi bazal laminaları meydana gelir. Presomitik mezoderm bu matriks ile sarılır. Bu ekstrasellüler proteinleri Paraxis geni ekspresyonu regüle eder. Paraxis yoksunu farelerde epitelyal hiçbir yapının oluşmadığı görülmüştür. Bu yüzden Paraxis geni mezenşimden epitele dönüşüm için esastır, henüz epitelizasyon başlamamışken somit tomurcuklarını oluşumunu indükler. Tavuklarda yapılan birçok çalışmada, mezenkimal dokunun epitelyal bloklara dönüşümünün somitlerin ayrılmasından hemen önce gerçekleştiği gösterilmiştir. Ayrıca anterior sınır hücreleri epitelizasyona giderken, posterior sınır hücreleri bir süre daha mezenkimal yapıda kalmaktadırlar<sup>3,17-19</sup>.

Hücre kültürü çalışmalarında Rac1 (Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1) ve Cdc42 (cell division control protei 42)'nin üyesi olduğu glikoziltransferazlardan Rho ailesinin sitoskelet düzenlenmesinde rol aldığı gösterilmiştir. Rac1'in aktivasyon veya süpresyonu mezenkimal hücrelerin normal epitelizasyonuna engel olmaktadır. Bu yüzden epitelizasyon sırasında Rac1 aktivitesi hassas bir seviyede ayarlanmalıdır. Ayrıca Rac1 aktivitesi bir bHLH (Basic helix-loop-helix) transkripsiyonel faktör olan Paraxis indirgenmesine de gerek duymaktadır. Cdc42'nin endojen aktivitesinin süpresyonu epitelizasyon gerçekleşmektedir. Ancak hiperaktivasyonu ise epitelizasyonda hataya ve sonuçta somitin orta kısmında mezenkimal bir tabaka kalmasına neden olur. Fissur oluşumunda gerekli olmasa da somitik hücrelerin epitelizasyonunda ektodermden yayılan parakrin faktörler Cdc42 süpresyonunda rol oynar. Bu olası parakrin faktörler WNT ailesine ait moleküllerdir. Fissur oluşumu ve parakrin penetrasyon arasındaki

koordinasyonun olduğu bir gerçektir. Ancak bu bağlantının anlaşılması yapılacak moleküler çalışmalara bağlıdır<sup>18-20</sup>.

### Aksiyal Spesifikasyon

Tüm somitler oluştuktan sonra anterior-posterior eksen boyunca farklı pozisyonlarda farklı yapılar meydana gelir. Örneğin kaburgalar torasik vertebrayı oluşturan somitlerden gelişir. Boyun bölgesindeki servikal vertebra ve abdomende lomber vertebrayı oluşturan somitler kaburgayı oluşturmaz. Tavuklarda yapılan bir çalışmada tavuk embriyosundan alınan torasik somit daha genç bir başka tavuk embriyosunun servikal mezodermine transplante edilince bu embriyonun boyun bölgesinde kaburga geliştiği gözlenmiştir<sup>3,21</sup>.

### Farklanma

Nöral tüpün her iki yanındaki paraksiyal mezoderm hücreleri önce küçük bir kavite çevresinde dizilir. Dördüncü haftanın başında çevre dokulardan gelen sinyaller sonucu somitlerin dorsal duvarlarındaki hücreler epitelyal düzeni korurken, ventral ve medial duvarlarındaki hücreler sıkı epitelyal düzenlerini kaybederek daha gevşek bir yapı kazanır ve mitoz girerler. Prolifere olan bu mezenkimal hücreler notokord yönünde göç ederler ve notokordu çevrelemeye başlarlar<sup>1</sup>. Bu sklerotom (dermasklerotom) denilen ventraldeki mezenkimal hücre topluluğu, mezenşim olarak bilinen dokuyu oluştururken dorsaldeki epitelyal hücre topluluğu dermomiyotomu oluşturur. Sklerotom hücrelerinin, kıkırdak ve kemik dokusuna farklanma yetenekleri vardır ve notokordu çevirerek omurgaları oluşturacaklardır.

Dermomiyotom vücut iskelet kası prokürsörlerini içerir ve sırt dermisinin oluşumuna katkıda bulunur. Gövde iskelet kası prokürsör hücreleri dermomiyotomdan ayrılır ve somitin dorsal epitelinin altına göç ederek "miyotom"u oluşturmak üzere organize olurlar. Miyotom, kasın prekürsör hücreleri olan myoblastları dolayısıyla ekstremite ve vücut duvarının kaslarının öncülerini yapar. Miyotom oluştuktan sonra geride kalan dorsal epitel dermatomu oluşturur. Dermatome epitelyal düzenini kaybederek dermis ve hipodermisi oluşturmak üzere yüzeyel ektodermin altına yayılır. Herbir somitin anterior ve posterior sınırındaki sklerotom hücrelerinden tendon progenitörleri bulunan sindetom gelişir. Böylece her somit kendi sklerotomunu (kıkırdak kemik elemanları), kendi miyotomunu (kas elemanları) ve kendi dermatomunu (deri elemanları) oluşturmuş olur. Baş bölgesindeki yer alan 7 adet somitomer ise hiçbir zaman sklerotom ve dermomiyotom segmentlerine ayrılmaz<sup>1-3</sup>.



Oluşmaya başlayan somit ilk olarak epitelyal somittir. Merkezi mezenşimal hücrelerin çevresini saran epitelyal hücrelerden meydana gelir. Olgunlaştıkça epitelyal somitin ventralindeki epitelyal hücreler mezenşimal hücrelere dönüşür. Presomitik mezoderm, epitelyal somite ve epitelyal somit de medial ve lateral somit kompartmanlarına ayrılırlar. Dermomiyotomun dorsomedialindeki hücreler epaksiyal miyotomu oluştururken, dermomiyotomun merkezindeki hücreler dorsal dermisi meydana getirir. Ventromedial dermomiyotom ise aksiyal seviyeye göre davranır; ekstremitte seviyesinde ise tabakalara ayrılır ve ekstremitelere farkanacakları lateral plak mezodermine göç eder. Ekstremiteler arasındaki bir seviye de ise ventrolateral dermomiyotom, hipaksiyal miyotomu oluşturmak üzere alta doğru yer değiştirir<sup>21-23</sup>.

Beşinci. haftanın sonunda her bir miyotom epimer denilen dorsal bir bölüme ve hipomer denilen ventral bölüme ayrılır. Nöral tüpe yakın epimerlerin (epaksiyal miyotom) myoblastları sırt kaslarını ve kaburga orta kısmını oluştururken, nöral tüpten uzaktaki hipomerlerin (hipaksiyal miyotom) miyoblastları vücut duvarı, ekstremitte ve dil kaslarını (lateral ve ventral fleksör kaslar) ve interkostal kaslar ile kaburgaların distallerini oluşturur. Kaburgaların proksimal kısımları ise sklerotom hücrelerinden meydana gelir<sup>1-3</sup>.

### Somit Farklanmasının Moleküler Denetimi

Somitlerin farklanmasını sağlayan sinyaller; notokord, nöral tüp, epidermis ve lateral plak mezoderminden gelir. Notokord kökenli Shh (Sonic hedgehog) ve Noggin ile yüzey ektodermi ve dorsal nöral tüp kökenli WNT sinyalizasyonu somitlerin dorsal-ventral farklanmasında rol oynar. Medial-lateral farklanma ise lateral plak mezodermi kökenli BMP ile notokord kökenli proteinler arasındaki sinyalizasyon ile gerçekleşir<sup>22</sup>. Somitlerin ventral ve medial kısımları parakrin faktörlerle indüklenir ve sklerotomu oluşturur. Özellikle Shh ve Noggin, notokord ve nöral tüp tabanından salınır ve somitin ventromedial bölümünün sklerotoma dönüşmesini ve sklerotomun devamlılığını sağlar<sup>5,25</sup>. Eğer notokord somite yakın bir bölgeye transplante edilirse o bölgede somit gelişimi gözlenir. Oluşan sklerotom hücreleri, yeni bir transkripsiyon faktör olan Pax1 (Paired box protein-1)'i eksprese eder. Omurga ve kıkırdak farklanması için bu ekspresyon şarttır. Ayrıca I-mf (Inhibitor of myogenic determination factor family) ekspresyonu kas oluşumunu başlatır. Dorsal nöral tüpten salınan BMP4; WNT1 ve WNT3'ü indükler<sup>24,25</sup>. Lateral plak mezodermine eksprese olan BMP'nin Noggin ve Gremlin1

tarafından inhibe edilmesi somatik tomurcuklarda hasara ve distal kaburga oluşumunda defekte neden olur<sup>26</sup>.

Medial dermomyotom oluşumu; dorsal nöral tüpte ve lateral dermomyotomda WNT1 ve WNT3 ekspresyonuna bağlı olarak gerçekleşir. WNT indüksiyonu yüzey ektoderminde WNT4, WNT6 ve WNT7 sinyalizasyonu aracılığıyla gerçekleşir. İndüklenen WNT proteinleri, dermomyotomun gelişimini sağlayan Pax3'ü aktive eder. Pax3, somitin vücut duvarı ve abdominal kaslarının kökenini oluşturan dermomyotom bölgesini işaretler<sup>27</sup>. Miyotom oluşumu; hem ventral orta hatta Mrf (Myogenic regulatory factor), MyoD (Myogenic determination factor) ve Myf (Myogenic factor) ekspresyonunu sağlayan Shh sinyalizasyonuna hem de Mrf ekspresyonunun devamlılığını sağlayan WNT sinyalizasyonuna bağlı olarak gerçekleşir. Somitin dorsoventral modeli, salınan Shh ve WNT moleküllerinin dorsalize ve ventralize gradienti arasındaki denge sonucu oluşur. Yüksek konsantrasyonda ventralize sinyal yani Shh; sklerotom oluşumunu indüklerken, yüksek oranda dorsalize sinyal yani WNT; dermomyotom oluşumunu sağlar. Ventralize ve dorsalize sinyaller dengede ise miyotom oluşumu indüklenir. WNT antagonisti olan Strp2 (Secreted frizzled-related protein 2) sklerotomda eksprese olur. Strp2; Shh tarafından ventral somitte aktive edilerek ventral somitin dorsalize olmasını engeller<sup>28</sup>. Benzer şekilde Shh antagonisti olan Gas1 (Growth-arrest specific gene 1) WNT tarafından dorsal somitte aktive edilir ve dermomyotomun ventralize olmasını bloke eder<sup>29</sup>. Shh, ventromedial sklerotomdan gelişen ventral vertebral yapıların indüksiyonunun yanı sıra aksial kıkırdak farklanmasında da rol alır. Pax1 eksprese eden ventromedial sklerotom ventral yönde göç ederken dorsomedial sklerotomdan gelişen dorsal vertebral yapılarda BMP4; Pax1 ekspresyonunu durdurur ve dorsal yönde göç eder<sup>21,25,26</sup>.

Kuşlar ve memelilerde dermomyotomun dorsomedial kenarında yerleşim gösteren miyogenik progenitör hücre kökenli hücreler dermomyotom ve sklerotom arasındaki alana göç ederek prolifer olurlar ve miyotomun miyositlerine farklılaşırlar. Miyositler birleşerek yetişkin aksial kas sisteminin miyotüplerini oluştururlar. Notokorttan salınan Shh ile dorsal nöral tüp ve yüzey ektoderminden salınan WNT faktörleri gibi parakrin faktörler miyogenik progenitör hücrelerin farklılaşmasında rol oynamaktadır. Mrf, MyoD, Myf5, MYOG (Miyogenin) ve Mrf4 (Myf6) iskelet kası farklılaşmasının aktivasyonunu sağlayan transkripsiyonel aktivatörlerdir. Bu aktivatörler, miyogenik soyun başlaması ve devamlılığı için gerekli olan MEF2 (Myocyte enhancer factor-2) ile etkileşime girer. MyoD ve Myf5 farklı zamanlarda farklı domainler tarafından eksprese edilirler. Myf5 ekspresyonu, MyoD ekspresyonundan önce

gerçekleşir. Bu farklılıklara rağmen MyoD ve Myf5 birbirini kompanse ederler. MyoD veya Myf5'in herhangi birindeki mutasyon sonucu normal iskelet kası gelişimi görülürken ikili mutasyonlarında kas gelişimi gözlenmez. Ancak farelerle yapılan çalışmalarda Pax3 ve Myf5 mutasyonunun MyoD ekspresyonunu veya kas oluşumunu inhibe ettiği de rapor edilmiştir. Mrf ve Myf ekspresyonu Shh ve WNT bağımlı olarak gerçekleşir. Myf5 ve Myogenin Mrf4'ü aktive ederken, MyoD ise Mrf4-Myf5 yolu veya bir diğer yol olan Pax3 aracılığıyla aktive olur<sup>30</sup>. Ventral orta hattan Shh'un düşük konsantrasyonda sinyalizasyonu Pax3 ekspresyonuyla miyogenez başlatır. Pax3 ekspresyonuyla indüklenen Myf5 aktivasyonu epaksiyal miyotom oluşur. Epidermisteki WNT proteinleri ve lateral plak mezodermindeki BMP4 ve FGF5 birlikte MyoD sentezletir ve hipaksiyal miyotomu indükler. İndüklenen MyoD ve Myf5; Myogenin ve Mrf5 genlerini aktive ederek miyotüpleri ve miyofibrillerin oluşumunu sağlar. Yüksek Shh konsantrasyonunda sklerotomda Nkx3.2 (NK3 homeobox 2) aracılığıyla Sox9 (SRY-related high-mobility group box 9) ekspresyonu sonucu kondrogenez gerçekleşir. Shh ve BMP inhibitörü Noggin'in, Pax1 ve Pax9 indüksiyonu vertebra ve kaburga gelişimi için gereklidir. Notch sinyalizasyon komponentleri ise Notch1 reseptör ile Delta1 ve Serrate2, Notch ligandları olup bunlar da miyogenik prekürsörlerin miyofibrillere farklanmasında rol oynarlar. Tavuklarla yapılan çalışmalarda Notch sinyalizasyonunun aktive olmasıyla gerçekleşen Delta1 ekspresyonunun, gelişen somitin MyoD regülasyonunda güçlü bir azalmaya ve kas farklanmasının inhibisyonuna neden olduğu ancak Pax3 veya Myf5 ekspresyonu ve miyotom oluşumuna herhangi bir etkide bulunmadığı gösterilmiştir<sup>21,24,30,31</sup>.

Nöral tüpün dorsalinden salınan Nörotropin 3 (NT3) ise dermatom oluşumunu indükler. Shh sadece sklerotom ve miyotom gelişimini indüklemeyi, aynı zamanda lateral plak mezoderminden salınan BMP4 sinyalini de inhibe eder. Sklerotom hücreleri, vertebral gövdeyi oluşturduktan sonra vertebral cisimlerin olduğu bölgede notokordal hücreler ölürler. Vertebralar arasındaki intervertebral disk bölgesindeki notokordal hücreler ise varlığını devam ettirip genişler ve nuklei pulposisi oluşturur<sup>21,25,26</sup>.

Kısa aralıklarla Shh sinyalizasyonu yüksek Shh konsantrasyonuna neden olup, sklerotomdan kıkırdak farklanmasını uyarır. BMP bağımlı olarak gerçekleşen kondrogenezde Shh sinyalizasyonu, Nkx3.2 aracılığıyla gerçekleşir. Nkx3.2; Shh sinyalizasyonuna cevap olarak Pax1 gibi sklerotomda oluşur ve BMP varlığında Shh sinyalizasyon akışını sağlar. Ancak Pax1 ekspresyonundan farklı olarak Nkx3.2 ekspresyonu kondrogenez sırasında devam eder. Shh;

somitlerin miyojenik ve kondrojenik prekürsörlerinin canlılığı ve hipaksiyal ekstremite kaslarının proliferasyonu için gereklidir<sup>21,32,33</sup>.

Uzun aralıklarla Shh sinyalizasyonu ise düşük Shh konsantrasyonuna neden olup, epaksiyal-hipaksiyal miyogenik prekürsörlerin oluşumunu uyarır. Gli transkripsiyon faktör aracılığıyla Shh salınımı, epaksiyal somitte Myf5 ve MyoD ekspresyonunu artırır. Myf5 aktivasyonunda Gli transkripsiyon faktörünün rolü henüz tam olarak aydınlığa kavuşmamıştır. Myf5 ekspresyonu, BMP tarafından inhibe edilebilir. Ancak dorsal nöral tüpten salınan WNT proteinlerine cevaben indüklenen Noggin ise BMP'e antagonistik çalışarak Shh sinyalizasyonu ile epaksiyal somit aktivasyonuna izin verir<sup>21,26,30-32</sup>.

Embriyonik kas sistemi; tendonlar, ligamentler, bağ doku ve iskelet kası elemanlarının gelişimi ile koordineli olarak meydana gelir. Çevre dokulardan gelen innervasyonlar ve sinyaller kasın şekillenmesi için gereklidir. Çevre mezodermal hücrelerden gelen Tcf4 (Transcription factor 4) ekspresyonu ve Hox (Homeobox) kompleks genlerinin regülasyonu bu sinyallerin temelini oluşturur<sup>34</sup>. Hox genleri de aksiyal iskeletin oluşumu için esastır. Hox 10 genleri lomber bölgenin hipaksiyal miyotomunda görev alır. Lomber bölgenin presomitik mezodermde kaburga inhibitör programı devreye girer. Hox 6 genleri ise torasik ve servikal bölgede vertebra ve kaburga oluşumunu sağlar. Hox genlerinin bu şekilde kaburga oluşumuna etkisi hipaksiyal miyotomdaki Myf5-Myf6 kontrolünde gerçekleşir. Oluşan bilgi Pdgfa (Platelet-derived growth factor alpha) ve Fgf4 aracılığıyla skleretoma ulaşır. Vertebralarla birlikte kaburgaların oluşup oluşmayacağına karar verilir<sup>34,36</sup>.

Kasların biçimlenmesi miyoblastların göç ettiği bağ dokusu tarafından kontrol edilir. Bu bağ dokusu baş bölgesinde; nöral krest hücrelerinden (istemli kaslar paraksiyal mezoderm kökenli), servikal ve oksipital bölgede; somitik mezodermde, vücut duvarı ve ekstremiteerde; somatik mezodermde köken alır. Fonksiyonel bir kas-iskelet sisteminin oluşumu kas, kıkırdak ve tendonun koordineli gelişimine bağlıdır. Kas ve iskelet sisteminde somit oluşumu iyi bilinmesine rağmen tendon orijini, tendon farklanmasını yöneten genler; somitik tendon progenitörlerinin markırlarının bulunmaması nedeniyle tam olarak bilinmemektedir. Miyotomda Fgf4 ve Fgf8 ekspresyonu ile aktive olan Scleraxis, olgun tendon ve ligamentlerde bulunan bir transkripsiyon faktördür ve tendon morfogenezini, tendon progenitörlerinin spesifikasyonu ve gelişimini gösteren bir markır olarak kullanılabilir<sup>37</sup>.

## Sonuç

Güncel gelişmeler ışığında, somit kompartmanlarının oluşumu ve farklanmalarını indükleyen moleküler ve hücrel sinyalizasyon mekanizmalarının araştırılmasıyla somitogenezisin, insan gelişimi sırasında gerçekleşen morfogenetik olaylar ve vertebra segmentasyon etiyojisi ile arasındaki ilişki anlaşılmıştır. Bu yönde yapılan klinik çalışmalarla da konjenital anomalilerin engellenebileceği düşünülmektedir.

## Kaynaklar

1. Sadler TW. Langman's Medical Embryology, 11th Edition. London, Lippincott Williams&Wilkins, 2009.
2. Moore KL, Persaud TVN. Before We Are Born, Essentials of Embryology and Birth Defects, 9th Edition. London, Saunders Elsevier, 2013
3. Gilbert SF. Developmental Biology, 6th Edition. Sunderland (MA), Sinauer Associates, 2000.
4. Duru S. Spinal embryology. Türkiye Klinikleri J Neurosurg, 2011; 4:1-7.
5. Andrade RP, Palmeirim I, Bajanca F. Molecular clocks underlying vertebrate embryo segmentation: A 10-year-old hairy-go-round. Birth Defects Res C Embryo Today. 2007; 81:65-83.
6. Takahashi Y, Sato Y. Somitogenesis as a model to study the formation of morphological boundaries and cell epithelializations. Dev Growth Differ. 2008; 50:149-55.
7. Cooke J, Zeeman EC. A clock and wavefront model for control the number of repeated structures during animal morphogenesis. J Theor Biol. 1975; 58:455-76.
8. Maroto M, Pourquie O. A molecular clock involved in somite segmentation. Curr Top Dev Biol. 2001; 51:221-48.
9. Kageyama R, Masamizu Y, Niwa Y. Oscillator mechanism of Notch pathway in the segmentation clock. Dev Dyn. 2007; 236:1403-9.
10. Jouve C, Palmeirim I, Henrique D, Beckers J, Gossler A, Ish-Horowicz D et al. Notch signalling is required for cyclic expression of the hairy-like gene HES1 in the presomitic mesoderm. Development. 2000; 127:1421-9.
11. Dale JK, Maroto M, Dequeant ML, Malapert P, McGrew M, Pourquie O. Periodic Notch inhibition by Lunatic fridge underlies the chick segmentation clock. Nature. 2003; 421:275-8.
12. Barrantes IB, Elia AJ, Wunsch K, Hrabe de Angelis MH, Mak TW, Rossant J et al. Interaction between Notch signalling and Lunatic fridge during somite boundary formation in the mouse. Curr Bio. 1999; 9:470-80.

13. Wahl MB, Deng C, Lewandoski M, Pourquié O. FGF signalling acts upstream of the Notch and Wnt signalling pathways to control segmentation clock oscillations in mouse somitogenesis. *Development*. 2007; 134:4033-41.
14. Jiang YJ, Aerne BL, Smithers L, Haddon C, Ish-Horowicz D, Lewis J. Notch signalling and the synchronization of the somite segmentation clock. *Nature*. 2000; 421:275-8.
15. Duester G. Retinoic acid regulation of the somitogenesis clock. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2007; 81:84-92.
16. Nakajima Y, Morimoto M, Takahashi Y, Koseki H, Saga Y. Identification of Epha4 enhancer require for segmental expression and the regulation by Mesp2. *Development*. 2006; 133:2517-25.
17. Saga Y, Takahashi Y. Mesp-family genes are required for segmental patterning and segmental border formation. *Adv Exp Med Biol*. 2008; 638:113-23.
18. Linker C, Lesbros C, Gros J, Burrus LW, Rawls A, Marcelle C. Catenin-dependent Wnt signalling controls the epithelial organisation of somites through the activation of paraxis. *Development*. 2005; 132:3895-905.
19. Takahashi Y, Takagi A, Hiraoka S, Koseki H, Kanno J, Rawls A et al. Transcription factors Mesp2 and Paraxis have critical roles in axial musculoskeletal formation. *Dev Dyn*. 2007; 236:1484-94.
20. Nakaya Y, Kuroda S, Katagiri YT, Kaibuchi K, Takahashi Y. Mesenchymal-epithelial transition during somitic segmentation is regulated by differential roles of Cdc42 and Rac1. *Dev Cell*, 2004; 7:425-38.
21. Brent AE, Tabin CJ. Developmental regulation of somite derivatives: muscle, cartilage and tendon. *Curr Gen Dev*. 2002; 12:548-57.
22. Brand SB, Christ B. Evolution and development of distinct cell lineages derived from somites. *Curr Top Dev Biol*. 2000; 48:1-42.
23. Huang R, Christ B. Origin of the epaxial and hypaxial myotome in avian embryos. *Anat Embryol*. 2000; 202:369-74.
24. Peters H, Wilm B, Sakai N, Imai K, Maas R, Balling R. Pax1 and Pax 9 synergistically regulate vertebral column development. *Development*. 1999; 126:297-310.
25. Maroto M, Limura T, Dale JK, Bessho Y. BHLH proteins and their role in somitogenesis. *Adv Exp Med Biol*. 2008; 638:124-39.
26. Stafford DA, Brunet LJ, Khokha MK, Economides AN, Harland RM. Cooperative activity of noggin and gremlin 1 in axial skeleton development. *Development*. 2011; 138:1005-14.
27. Fan CM, Lee CS, Tessier-Lavigne M. A role for WNT proteins in induction of dermomyotome. *Dev Biol*. 1997; 191:160-5.
28. Lee CS, Buttitta LA, May NR, Kispert A, Fan CM. Shh-N upregulates Sfrp2 to mediate its competitive interaction with Wnt1 and Wnt4 in the somitic mesoderm. *Development*. 2000; 127:109-18.

29. Lee CS, Buttitta L, Fan CM. Evidence that the WNT inducible growth arrest-specific gene 1 encodes an antagonist of sonic hedgehog signalling in somite. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98:11347-52.
30. Cossu G, Kelly R, Tajbakhsh S, Di Donna S, Vivarelli E, Buckingham M. Activation of different myogenic pathways: Myf5 is induced by the neural tube and MyoD by the dorsal ectoderm in mouse paraxial mesoderm. *Development*. 1996; 122:429-37.
31. Innocenzi A, Latella L, Messina G, Simonatto M, Marullo F, Berghella L et al. An evolutionarily acquired genotoxic response discriminates MyoD from Myf5, and differentially regulates hypaxial and epaxial myogenesis. *EMBO Rep*. 2011; 12:164-71.
32. Borycki AG, Mendham L, Emerson CP Jr. Control of somite patterning by sonic hedgehog and its downstream signal response genes. *Development*. 1998; 125:777-90.
33. Murtaugh LC, Zeng L, Chyung JH, Lassar AB. The chick transcriptional repressor Nkx3.2 acts downstream of Shh to promote BMP-dependent axial chondrogenesis. *Dev Cell*. 2001; 1:411-22.
34. Alvares LE, Schubert FR, Thorpe C, Mootoosamy RC, Cheng L, Parkyn G et al. Intrinsic Hox-dependent cues determine the fate of skeletal muscle precursors. *Dev Cell*. 2003; 5:379-90.
35. Gustafsson MK, Pan H, Pinney DF, Liu Y, Lewandowski A, Epstein DJ et al. Myf5 is a direct target of long-range Shh signalling and Gli regulation for muscle specification. *Genes Dev*. 2002; 16:114-26.
36. Dubrulle JL, McGrew M, Pourquie O. FGF signalling controls somite boundary position and regulates segmentation clock control of spatiotemporal Hox gene activation. *Cell*. 2001; 106:219-32.
37. Schweitzer R, Chyung JH, Murtaugh LC, Brent AE, Rosen V, Olson EN et al. Analysis of the tendon cell fate using Scleraxis, a specific marker for tendons and ligaments. *Development*. 2001; 128:3855-66.

**Correspondence Address / Yazışma adresi:**

Gülfidan Coşkun  
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı  
Adana, Turkey  
e-mail: gcoskun@cu.edu.tr