

Spermatogonial Transplantasyon ve Hayvan Yetiştiriciliğinde Kullanımı

Hasan Ülker

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Van (hasulker3@yahoo.com)

Orhan Karaca

Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Aydın

Sinan Baş

Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Kahramanmaraş

Özdal Gökdal

Adnan Menderes Üniversitesi, Çine Meslek Yüksekokulu, Çine, Aydın

Geliş Tarihi : 28.01.2004

ÖZET : Spermatogonial transplantasyon, verici bir hayvandan izole edilen spermatogonial hücrelerin bir dizi farklı yöntemler kullanılarak testisleri germ hücrelerinden temizlenip infertil hale getirilmiş olan alıcı hayvanın testislerine transfer edilmesi işlemidir. Aktarılan spermatogonial hücreler kendilerini seminefer tüplerin bazal tabakasına konuştururlar ve spermatogenesisi başlatarak germ hücreleri tamamen boşaltılan alıcı hayvanın testisini yeni germ hücreleri ile doldurarak fertil bir testis meydana getirirler. Bu tekniğe ilişkin çalışmalar spermatogonial kök hücrelerinin verici hayvanlardan izole edilmesi, kültür edilmesi, dondurularak saklanması, transplantasyon yapılmadan önce alıcı testislerdeki spermatogoninin yok edilerek temizlenmesi, aktarılan hücrelerin alıcı testislerde varlığının belirlenmesi için marker sistemlerinin geliştirilmesi ve spermatogonial transplantasyonun farklı türler arasında uygulanışı şeklinde sıralanabilir. Bu tekniğin çiftlik hayvanlarında damızlık değeri belirleme zamanını azaltma, normal genetik değere sahip alıcı hayvanları kısa bir süre içerisinde vericinin genetik değerine sahip germ hücresi üreten hayvanlara dönüştürebilme, transgenik çiftlik hayvanları üretme gibi amaçlarla yaygın olarak kullanılabileceği öngörülmektedir. Spermatogonial transplantasyon tekniği spermatogenesis, spermatogonial kök hücreleri ve gamet-testis fonksiyonları ve interaksyonlarını araştırmada oldukça kullanışlı bir yöntemdir. Bu tekniğin temel bilimden klinik uygulamalara, nesli tükenen türlerden hayvan ıslahına birçok alanda yararlı uygulamalara yön vereceği öngörülmektedir.

Anahtar kelimeler: Spermatogonial transplantasyon, testis, hayvan ıslahı

Spermatogonial Transplantation and Its Utilization in Animal Breeding

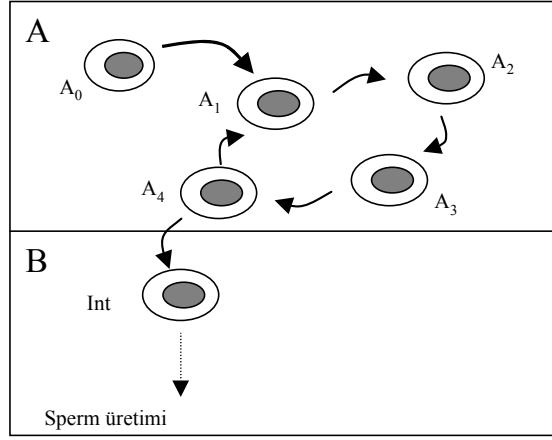
ABSTRACT : Spermatogonial transplantation is a technique which spermatogonial germ cells isolated from a donor animal are transplanted into the testes of recipient animal whose testes were depleted from germ cells. Transferred spermatogonial germ cells translocate themselves to the base of seminiferous tubules, repopulate the germ-cell depleted testes of recipient animal by reinitiating spermatogenesis and restore the fertility. Isolation, culture and cryopreservation of spermatogonial stem cells from donor animals, depleting the germ cells of recipient testes prior to transplantation, developing marker systems to determine donor derived spermatogonia in the recipient testes and interspecies transplantation could be considered as the main topics of spermatogonial transplantation studies carried out so far. This technique is speculated to be used for various purposes such as decreasing the time needed to prove the genetic value of the livestock animals, converting the genetically average recipient animals into genetically superior germ cell producing animals in a short time and generating transgenic livestock. Spermatogonial transplantation is a useful technique to be used in investigating spermatogenesis, spermatogonial stem cells, gamete-testis functions and interactions. It is thought that this technique can be utilized in a variety of the areas such as basic science, clinical applications, endangered species and animal breeding.

Key words: Spermatogonial transplantation, testis, animal breeding

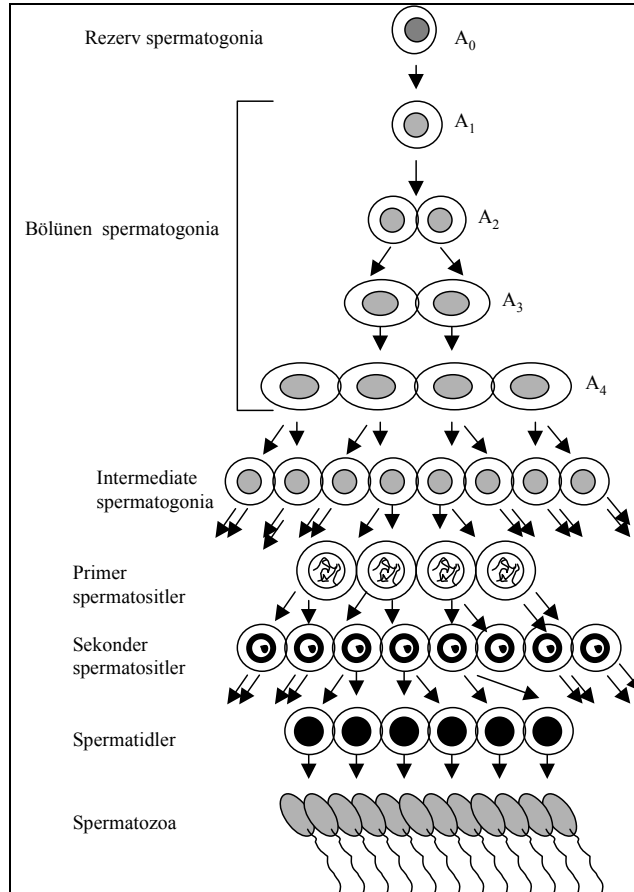
GİRİŞ

Spermatogenesis, seminefer tüplerin bazal tabakası boyunca yerleşmiş olan küçük bir 'spermatogonial stem (kök) hücre' popülasyonundan başlayarak gerçekleşmektedir. Embriyonik dönemde kök spermatogonia 'primordial germ hücreleri' olarak embriyonik gonadlara göç ederler ve burada 'gonositlere' farklılaşırlar. Daha sonra da seminefer tüplerin bazal tabakasına yerleşince 'farklılaşmamış kök spermatogonia' haline gelirler. Bu hücreler 'rezerv spermatogonia' olarak da adlandırılırlar. Kök spermatogoninin tekrar bölünerek ve farklılaşarak çoğalma süreci (proliferasyon) ergenlikle birlikte başlar. Bu açıdan bakıldığında, kök spermatogonia organizmanın gamet üreten hücrelerinin (germ line) ergin yaşlarda aktif olarak bölünerek ve farklılaşarak çoğalan tek diploid yapıdaki hücreleridir. Söz konusu

hücrelerin iki farklı çoğalma şekli bulunmaktadır. Bu hücreler bir taraftan bölünme yolu ile çoğalarak bazal tabakadaki kendi popülasyonlarını aynı düzeyde tutarken diğer taraftan bölünüp farklılaşmak sureti ile spermatozoa olacak hücrelerin ilk formlarını üretirler (Şekil 1). Testislerde sürekli bir spermatogenesisin gerçekleşiyor olması spermatogonial kök hücrelerinin bu çift yönlü (dual) bölünerek çoğalabilme özelliği nedeniyledir. Spermatogenesis esnasında A₀ kök spermatogonia önce diğer A tipi ve intermediate spermatogoniaya, daha sonra da primer spermatositlere farklılaşırlar. Spermatositler mayoz bölünme geçirir ve bir dizi kompleks farklılaşma sürecinden sonra olgun spermatozoa haline gelirler (Şekil 2) (Meistrich ve Van Beek, 1993; Dym, 1994; De Rooij ve Grootegoed, 1998).



Şekil 1. (A): Seminefer tüplerin bazal tabakasındaki farklılaşmamış kök spermatogonia (A_0) bir taraftan bölünme yolu ile çoğalarak bazal tabakadaki kendi popülasyonlarını aynı düzeyde tutarken (A_1 - A_4) diğer taraftan aynı bölünerek ve farklılaşarak çoğalma yolu ile spermatozoa olacak hücrelerin ilk formlarını (intermediate spermatogonia) üretirler. B: Intermediate spermatogonia bir dizi kompleks farklılaşma sürecinden sonra olgun spermatozoa haline gelirler.



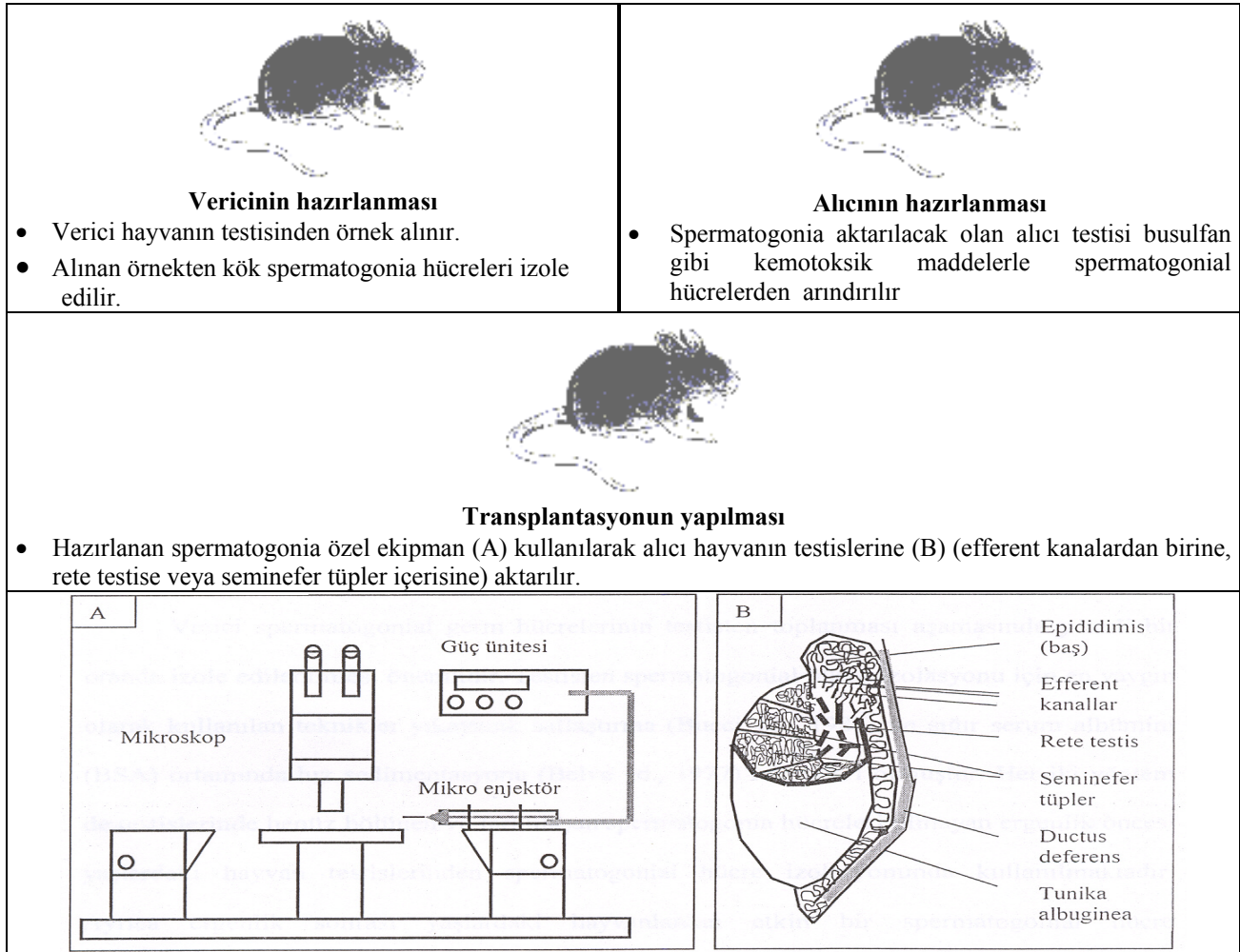
Şekil 2. Spermatogenesis: A_0 kök spermatogonia önce diğer A tipi ve intermediate spermatogoniaya, daha sonra da primer spermatisite farklılaşırlar. Spermatisitler mayoz geçirir ve bir dizi kompleks farklılaşma sürecinden sonra olgun spermatozoa haline gelirler.

İlk defa 1994’de farelerde (mouse) ‘spermatogonial transplantasyon’ tekniği kullanılarak spermatogonial germ hücrelerinin başarılı bir şekilde verici (donör) hayvanlardan alınıp alıcı (resipient) hayvanların testislerine transplante edilebildikleri ve aktarılan germ hücrelerinin infertil halde bulunan alıcı testisinde kolonize oldukları ve spermatogenesisi başlatıp bu testiste fertilitiyi tekrar oluşturabildikleri bildirilmiştir (Brinster ve Zimmerman, 1994). Dahası, alıcı fareler, spermatogenesisin oluşmasından sonra dişi farelerle çiftleştirilmiş ve bu çiftleşmeden normal döller elde edilebilmiştir (Brinster ve Avarbock, 1994). Döllerin incelenmesinde dişi fare oositlerinin verici fare orijinli sperm tarafından döllendiği belirlenmiştir. Söz konusu tekniğin açıklanmasından sonra spermatogonial kök hücreleri ve sperm transplantasyonu konularında araştırmalar ve bilgiler önemli bir şekilde artmaya başlamıştır. Bu çalışmada spermatogonial transplantasyon tekniği, bu tekniğin -çiftlik hayvanları dahil- farklı türlerde uygulanmasına ilişkin çalışmalar, tekniğin karşı karşıya olduğu problemler ve

problemlerin çözümü için geliştirilen yaklaşımlar ve spermatogonial transplantasyon tekniğinin çiftlik hayvanlarında uygulanması durumunda elde edilebilecek sonuçlar üzerinde durulacaktır.

SPERMATOGONIAL TRANSPLANTASYON TEKNİĞİ

Spermatogonial transplantasyon tekniği özetle şöyle uygulanmaktadır: Verici bir hayvandan izole edilen spermatogonial hücreler daha sonra değinileceği gibi değişik yöntemlerle testisleri spermatogonial germ hücrelerinden temizlenip infertil hale getirilmiş olan alıcı hayvanın seminefer tüp, rete testis veya efferent kanallarından birine mikroenjeksiyon yöntemi ile transfer edilirler (Şekil 3). Aktarılan spermatogonial hücreler kendilerini seminefer tüplerin bazal tabakasına konuştururlar ve spermatogenesisi başlatarak sperm hücreleri tamamen boşaltılmış olan alıcı hayvanın testisini verici orijinli germ hücreleri ile doldurarak fertil bir testis meydana getirirler.



Şekil 3. Spermatogonial transplantasyonun uygulanışı: Verici hayvanın testislerinden izole edilen spermatogonia bir sıvı içerisinde homojenize edildikten sonra mikroskop altında mikroenjektör aracılığı ile alıcı hayvanın testislerine aktarılır.

Spermatogonial transplantasyon tekniğinin farelerde başarılı bir şekilde uygulanmasının ardından söz konusu tekniği daha yararlı kullanma amaçlı olarak çok yönlü çalışmalar başlatılmıştır. Bu bağlamda yapılan çalışmalar; spermatogonial kök hücrelerinin verici hayvanlardan izole edilmesi, kültür edilmesi ve dondurularak saklanması (Avarbock vd. 1996; Nagano vd., 1998; Schlatt, 2002), spermatogonial transplantasyon yapılmadan önce alıcı testislerdeki spermatogoninin yok edilerek temizlenmesi (Brinster ve Zimmerman, 1994; Oatley, 2001), aktarılan hücrelerin alıcı testislerde varlığının belirlenmesi için marker sistemlerinin geliştirilmesi (Nagano vd., 2000; Van Pelt vd., 2002), spermatogonial transplantasyonun farklı türler arasında (xenogeneic) uygulanışı şeklinde sayılabilir (Clouthier vd., 1996; Dobrinski vd., 1999; 2000; Ogawa vd., 1999; Reis, 2000; Nagano vd., 2001; Oatley vd., 2002).

BAŞARILI BİR SPERMATOGONIAL TRANSPLANTASYON İÇİN GEREKLİ KOŞULLAR

Verici testisten yeterli düzeyde spermatogonial hücre elde edilmesi

Verici spermatogonial germ hücrelerinin testisten toplanması aşamasında yeterli bir oranda izole edilebilmesi önemlidir. Testisten spermatogonial hücre izolasyonu için en yaygın olarak kullanılan teknikler yıkayarak saflaştırma (Bucci vd., 1986) ve sıgır serum albümini (BSA) ortamında hız sedimentasyonu (Belve vd., 1977) teknikleri olmuştur. Her iki yöntem de testislerinde henüz bölünen ve farklılaşan spermatogonia hücreleri olmayan ergenlik öncesi yaşlardaki hayvan testislerinden spermatogonial hücre izolasyonunda kullanılmaktadır. Ayrıca, ergenlik sonrası yaşlardaki hayvanlardan etkin bir spermatogonial hücre izolasyonunda vitamin A kısıtlaması (Van Pelt vd., 1996), soğuk iskemi (mekanik yöntemler kullanılarak bir dokuya kan ulaşımının kısıtlanması) (Quesnell, 1999), yapay olarak oluşturulmuş kriptorşidizm (Shinohara vd., 2000), yüksek sıcaklık uygulama (McLean vd., 2002) veya GnRH'ya karşı immunizasyon (Oatley, 2001) yöntemlerinden de yararlanılmaktadır. Bu yaklaşımların temelinde bu uygulamalar sonrası testiste spermatogenesisin durması ve buna bağlı olarak kök spermatogonia oranının bölünen ve farklılaşan spermatogonial hücrelere göre önemli düzeyde artması olgusu bulunmaktadır. Ancak testislerinde spermatogenesisin normal olarak gerçekleştiği hayvanlarda testisler kök spermatogoninin yanında bir dizi bölünen ve farklılaşan spermatogonial hücrelerce de dolu olacağından kök spermatogonia için spesifik moleküler ve biyokimyasal markerlerin belirlenmesi saflaştırma ve karakterizasyon için önemli bir araç olacaktır. Diğer yandan, spermatogonial hücre elde

edebilmek için hayvanların kastre edilmesi, diğer bir ifade ile testislerinin alınması gerekmektedir. Bu ise geri dönüşümsüz bir uygulamadır. Üstün özellikte bir hayvandan uzun süre yararlanılması gerektiği göz önüne alınırsa, spermatogonial hücre elde etmek için testislere daha az hasar veren ve tekrarlanabilir yöntem(ler)in geliştirilmesi gerekmektedir. Kök spermatogoninin kültür ortamında çoğaltılabilmeleri az miktarlarda elde edilebilecek spermatogoninin spermatogonial transplantasyon için yeterli olabileceğini göstermektedir. Ancak elde edilecek örnekten kök hücrelerinin tanımlanması ve izole edilmesi gerekmektedir. Farklı aşamalarda bulunan spermatogonial hücreleri birbirlerinden ayırmak için geliştirilmiş bazı marker sistemleri ve stratejileri bulunmasına karşın (Izadyar vd., 2002) henüz bu sistemler standardize edilememiştir. İzolasyon sırasında spermatogonial hücre sayısını artırma amaçlı olarak en çok bilinen bir spermatogonia markeri olan c-kit reseptöründen yararlanılmak istenmiştir. C-kit antikolarının kullanıldığı manyetik hücre ayırımı tekniği ile gerçekleştirilen bu girişimde kök spermatogonia yerine farklılaşan spermatogoninin daha fazla izole edilmiş olduğu görülmüştür. Bu nedenle bu yöntemle kök spermatogonia elde etme işlemin başarılı olması için daha farklı ve spesifik antikoların geliştirilmesi gerekmektedir (Von Schönfeldt vd., 1999). Diğer yandan spermatogonial kök hücreler üzerinde bulunan α_6 -integrin reseptörünün bu hücrelerin izole edilmesinde kullanışlı bir marker olduğu (Shinohara vd., 1999), bu marker ile izole edilen spermatogonial kök hücre oranının önemli derecede arttığı bildirilmiştir (Shinohara vd., 2000). Ayrıca transgen kullanılarak kök spermatogonial hücre hatları oluşturma amaçlı girişimler yakın gelecekte spermatogonial hücre izolasyonunun daha etkin bir şekilde gerçekleştirilebileceğini göstermektedir (Van Pelt vd., 2002).

Alıcı testisinde spermatogenesisin durdurulması ve spermatogonial hücrelerin yok edilmesi

Verici kök hücrelerine yer açmak için transplantasyon öncesi alıcı testisinde spermatogenesisin ortadan kaldırılmış olması gerekmektedir. Bu, verici spermatogoninin alıcı testisi tohumlayabilmesi için gerekli bir işlemdir. Bu amaçla en yaygın olarak kullanılan uygulama alıcı hayvan testislerine bölünen ve farklılaşan hücreler üzerinde öldürücü etkide bulunan busulfan adlı toksik maddenin verilmesidir (Viguer-Martinez vd., 1984). Ayrıca iskemi oluşturma (Quesnell, 1999), radyasyon (Meistrich, 1993), bazı kemotoksik maddelerin (Glode vd., 1981), estrogen veya (Vecino vd., 2001) GnRH analoglarının kullanımı (Ogawa vd., 1998), veya GnRH'ya karşı immunizasyon (Oatley, 2001) gibi yöntemler de kullanılabilir. Zaman zaman bu yöntemler bir kombinasyon şeklinde de uygulanabilmektedir. Ancak, sıçanlarda busulfan uygulaması bu işlemi etkin bir şekilde sağlamasına karşın çiftlik hayvanlarında aynı etkiyi oluşturmak için

gerekli busulfan miktarı bu yöntemi çiftlik hayvanlarında uygulamayı imkansız kılmaktadır. Bu nedenle çiftlik hayvanlarında alıcı hayvanların testislerinin spermatogonial hücrelerden temizlenmesi için iskemi oluşturma (Quesnell, 1999), estrogen (Vecino vd., 2001) veya GnRH analogları (Ogawa vd., 1998) kullanımı, veya GnRH'ya karşı immunizasyon (Oatley, 2001) gibi yöntemlerden yararlanılabilir. Bununla beraber spermatogenesisin tekrar başlaması sırasında alıcı testislerin kendi (endojen) spermatogonial kök hücrelerinin spermatogenesisine başlaması (Brinster ve Zimmerman, 1994) söz konusu tekniğin karşı karşıya olduğu önemli sorunlardan biridir.

Uygun enjeksiyon yolunun kullanılması

Fareden fareye spermatogonial transplantasyonda verici spermatogonial hücreler efferent kanallar, rete testis veya seminefer tüp gibi değişik enjeksiyon yollarından (Şekil 3) (Ogawa vd., 1997) alıcı testisine enjekte edilebilmesine karşın farklı anatomik yapıları nedeni ile bu işlem çiftlik hayvanlarında bu kadar kolay olmamaktadır. Efferent kanallara ulaşımın zor olması, seminefer tüplere enjeksiyonun ise büyük yapıları hayvanlarda pratik olmaması nedeniyle şu anda çiftlik hayvanlarında en kullanışlı yöntem rete testise enjeksiyon yapılmasıdır (Schalat vd., 1999; Oatley, 2001).

Aktarılan spermatogonial hücrelerin alıcı testisinde tanımlanabilmeleri

Çiftlik hayvanlarında spermatogonial transplantasyon tekniğinin geliştirilmesini sınırlandıran diğer bir önemli faktör ise transplantasyondan sonra testiste vericiye ait germ hücrelerinin varlığının açık ve etkin bir şekilde tanımlanamayıdır. Farenin alıcı, ev ve çiftlik hayvanlarının verici olduğu türler arası (xenogeneic)transplantasyonlarda (Dobriniski vd., 1999; 2000) alıcının testislerinde verici spermatogoniayı tanımlamada immuno-histokimyasal yöntemler başarılı bir şekilde kullanılabilmektedir. Ayrıca, genetik yapıları nedeniyle anatomik olarak verici ve alıcı hayvanların germ hücrelerinin birbirlerinden farklı olmaları bu tip transplantasyonlarda alıcı testislerinde verici hücrelerin varlığını belirlemeyi kolaylaştırmaktadır. Ancak, tür içi (syngeneic) transplantasyon yapılması durumunda immuno-histokimyasal yöntemlerde kullanılan türe özgü antikolar aktarılan hücreleri tanımlamada yeterli olamamaktadır. Bu nedenle etkin ve hızlı bir tanımlama için transgenik hayvan kullanılması zorunlu görünmektedir. Kemiricilerde kolay bir şekilde marker gen taşıyan transgenik hayvanların elde edilmesi ve bu hayvanların spermatogonial transplantasyonda kullanılması olasıyken çiftlik hayvanlarında bu tür marker genler bulunmamaktadır. Ancak, retroviral vektör yöntemi ile in vitro koşullarda spermatogonial kök hücrelerine marker özellikte bir transgenin aktarılabileceği gösterilmiştir (Nagano vd., 2000; Van

Pelt vd., 2002). Böylece transgen tarafından işaretlenen verici spermatogonial hücrelerin alıcı testisinde uzun bir süre boyunca kolaylıkla tanımlanması mümkün olmaktadır. Dahası, kök spermatogoniyanın ergin yaşlarda organizmada farklılaşarak ve bölünerek çoğalan tek diploid yapıda germ hücreleri olduğu göz önüne alınırsa, spermatogonial hücrelere arzu edilen bir transgenin aktarılması ve böylece bu genin erkek bireylerde gamet üreten hücrelere (germ line) sokulmasını sağlayabilir. Bu şekilde spermatogonial transplantasyon yöntemi ile transgenik sperm üretilebilir ve transgenik çiftlik hayvanı üretiminde kullanılabilir.

SPERMATOGONİAL TRANSPLANTASYON VE HAYVAN YETİŞTİRİCİLİĞİ

Spermatogonial transplantasyon teknolojisinin çiftlik hayvanlarında kullanılabilir duruma gelmesinden sonra bu tekniğin hayvan ıslahına önemli katkılar sağlayacağı öngörülmektedir (Hausler ve Russell, 1999; Griswold vd., 2001). Söz konusu teknik ıslah çalışmalarında damızlık değeri belirleme zamanını yarı yarıya azaltarak genetik ilerleme hızını artıracaktır. Özellikle süt sığırcılığında bir boğanın genetik değerinin belirlenmesi için öncelikle eşeyssel olgunluğa ermesi ve çiftleştirilmesi gerekmektedir. Bu süre genellikle iki yıl olmaktadır. Yavrusunun doğması için bir yıla daha gerek vardır. İki veya üç yıl da bu boğanın dişi verimlerinin belirlenmesi için gerekecektir. Kısaca, bir boğanın damızlık değerinin belirlenmesi sıkı denetim ve veri toplama koşulları altında 6-7 yılda gerçekleştirilebilmektedir. Halbuki bu süre, spermatogonial transplantasyon tekniği ile azaltılabilir, şöyle ki: Genetik olarak üstün olacağı öngörülen bir erkek buzağıdan doğumunu müteakip spermatogonial kök hücreleri toplanıp ergin yaşlardaki alıcı boğaların testislerine aktarılabilir. Bu alıcı boğalar, üstün genetik potansiyele sahip olduğu düşünülen erkek buzağılardan aktarılan spermatogoniayı kendi testislerinde bir spermatogenik döngü (yaklaşık 61 gün) içerisinde olgun spermatozoa olarak üreteceklerdir. Böylece yeni doğmuş bir erkek buzağının ilk çiftleşme yaşına kadarki süre (1.5-2 yıl) azaltılmış olacaktır.

Genetik potansiyelin sürülerde hızlı bir şekilde yayılmasının en önemli faktörlerinden biri yapay tohumlama uygulamaları olmuştur. Süt sığırcılığı yapan işletmelerin, et sığırcılığı yapan işletmelerle karşılaştırıldığında, yapay tohumlamayı daha yaygın olarak kullandıkları bilinmektedir. Her ne kadar yapay tohumlama iş gücü ve zaman gerektiren bir uygulama olsa bile yoğun işletme özelliği olan süt işletmeleri bunu bir noktada tolere edebilmektedirler. Ancak yoğun bir iş düzenine sahip olmayan et sığırcılığı işletmeleri bu nedenle yapay tohumlamayı daha az uygulamakta ve yapay tohumlamanın sağladığı genetik ilerlemeden süt sığırcılığı kadar yararlanamamaktadırlar. Halbuki üstün damızlık değere sahip verici hayvanlardan aktarılan

spermatogonial hücreler yardımıyla normal genetik değere sahip alıcı hayvanlar kısa bir süre içerisinde vericinin genetik değerine sahip germ hücresi üreten hayvanlara dönüşebilirler. Bu açıdan bakıldığında et sığırcılığı işletmeleri damızlık değeri yüksek bir boğadan alınan spermatogonial kök hücrelerinin kendi boğalarına aktarılmasıyla üstün genetik yapıda boğalara sahip olma fikrine sıcak bakacaklardır. Spermatogonial transplantasyon tekniğinin sağladığı bu avantaj sayesinde hem et hem de süt sığırlarında üstün genotiplerin sürülerde yayılma hızı oldukça artacaktır.

Transgenik hayvan elde etmede en yaygın olarak kullanılan yöntem transgenin zigot aşamasında bulunan bir embriyoya kazandırılmasıdır. Sperm aracılığı ile transgenik hayvan elde etme girişimleri henüz beklenen başarıyı sağlamış durumda değildir (Gandolfi, 2000). Spermatogonial hücrelere gen sokma aracılığı ile gerçekleştirilecek transgenik hayvan elde etme yöntemi halen uygulanmakta olan yöntemin bir çok aşamasını elemine edeceğinden söz konusu çalışmaların hızını da artıracaktır. Bu nedenle spermatogonial transplantasyon tekniği transgenik çiftlik hayvanları elde etmede kullanılma potansiyeline de sahiptir. Spermatogonial kök hücre kültürü tekniklerinde ilerlemeye paralel olarak kök hücrelerine kültür ortamında verim karakterleri veya diğer önemli karakterlerle ilgili genlerin (transgen) aktarımı veya mevcut genlerin modifiye edilmesinin mümkün olmasıyla bu yöntem transgenik çiftlik hayvanları teknolojisine önemli katkılar sağlayacaktır.

Bu teknik tıpkı yapay tohumlamada olduğu gibi sakatlık veya ölüm gibi nedenlerle kendilerinden sperma alımı mümkün olmayan hayvanların genetik yapılarından yıllar sonra bile yararlanılabilme olanağı sağlamaktadır. Ayrıca, genetik koruma amaçlı olarak, sayıları az bulunan veya nesli tükenmekte olan hayvanlardan az miktarlarda da olsa alınacak ve korunacak spermatogonial kök hücreler bu türlerin varlıklarının uzun yıllar sürdürülmesinde kullanılabilir.

Bunlardan öte, spermatogonial transplantasyon teknolojisi testis ile ilgili hastalıkların tedavisinde kullanılan radyoterapi veya kemoterapi kaynaklı kısırlık sorunlarının giderilmesi, kimi genetik hastalıkların tedavisi ve erkek germ hücrelerinden kaynaklanan kısırlık sorunlarının giderilmesi gibi konularda insan tıbbında da yaygın kullanım alanı bulacaktır.

SONUÇ

Sonuç olarak, spermatogonial transplantasyon tekniği spermatogenesis, spermatogonial kök hücreleri ve gamet-testis fonksiyonları ve interaksyonlarını araştırmada ve çok önemli bulgular elde edebilmede oldukça kullanışlı bir yöntemdir. İlk defa uygulanmasından henüz on yıla yakın bir süre geçmesine rağmen bir çok yeni bilginin elde edilmesine yol açmış olan bu tekniğin temel bilimden klinik uygulamalara, nesli tükenen türlerden hayvan ıslahına birçok alanda yararlı uygulamalara yön vereceği

öngörülmektedir. Spermatogonial transplantasyon teknolojisi çiftlik hayvanları ıslah çalışmalarında genetik ilerleme ve üstün genlerin popülasyonda yayılma hızını artırmanın yanında, arzulanan genleri taşıyan transgenik çiftlik hayvanları elde etme potansiyeline de sahip bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Avarbock, M.R., C.J. Brinster, and R.L. Brinster. 1996. Reconstitution of spermatogenesis from frozen spermatogonial stem cells. *Nature Medicine*. 2(6): 693-696.
- Bellve, A.R., Cavicchia, J.C., Millette O'Brien, D.A., Bhatnagar, Y.M., Dym, M., 1977. Spermatogenic cell of the prepuberal mouse: isolation and morphological characterization. *J. Cell Biol.* 74, 68-85.
- Brinster, R.L., and J.W. Zimmerman. 1994. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 11298-11302.
- Brinster, R.L., and M.R. Avarbock. 1994. Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 11303-11307.
- Bucci, L.R., Brock, W.A., Johnson, T.S., Meistrich, M.L., 1986. Isolation and biochemical studies of enriched populations of spermatogonia and early spermatocytes from rat testes. *Biol. Reprod.* 34, 195-206.
- Clouthier, D.E., M.R. Avarbock, S.D. Maika, R.E. Hammer, and R.L. Brinster. 1996. Rat spermatogenesis in mouse testis. *Nature*. 381: 418-421.
- De Rooij, D.G., and J.A. Grootegoed. 1998. Spermatogonial stem cells. *Curr. Opin. In Cell Biol.* 10 (6): 694-701.
- Dobranski, I., M.R. Avarbock, and R.L. Brinster. 1999. Transplantation of germ cells from rabbits and dogs into mouse testes. *Biol. Reprod.* 61: 1331-1339.
- Dobranski, I., M.R. Avarbock, and R.L. Brinster. 2000. Germ cell transplantation from large domestic animals into mouse testes. *Mol. Reprod. Dev.* 57: 270-279.
- Dym, M. 1994. Spermatogonial stem cells of the testis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 91: 11287-11289.
- Gandolfi, F. 2000. Sperm mediated transgenesis. *Theriogenology*. 53 (1): 127-137.
- Glode, M., Robinson, J., Gould, S.F., 1981. Protection from cyclophosphamide-induced testicular damage with an analogue of gonadotropin-releasing hormone. *Lancet* 1, 1132-1134.
- Griswold, M.D., McLean, D., Russel, L. 2001. Promise and limitation of germ cell transplantation in the testis. *J. Andrology*. 22 (5): 713-717.
- Hausler, C.L., and L.D. Russell. 1999. Prospects for spermatogonial transplantation in livestock and endangered species. In: *The Male Gamete: From Basic Science to Clinical Applications*. Cache River Press. pp 37-45.
- Izadyar F, Spierenberg GT, Creemers LB, den Ouden K, de Rooij DG. 2002. Isolation and purification of type A spermatogonia from the bovine testis. *Reproduction*. 124(1):85-94.
- McLean, D.J., Russel, L.D., Griswold, M.D. 2002. Biological activity and enrichment of spermatogonial stem cells in vitamin A-deficient and hyperthermia-exposed testes from mice based on colonization following germ cell transplantation. *Biol. Reprod.* 66: 1374-1379.
- Meistrich, M.L., 1993. Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis. *Eur. Urol.* 23, 136-141.
- Meistrich, M.L., and M.E.A.B. van Beek. 1993. Spermatogonial stem cells. In: *Cell and Molecular Biology of the Testis*. Oxford University Press. New York. pp 266-295.
- Nagano, M., M.R. Avarbock, E.B. Leonida, C.J. Brinster, and R.L. Brinster. 1998. Culture of mouse spermatogonial stem cells. *Tissue Cell* 30: 389-397.

- Nagano, M., T. Shinohara, M.R. Avarbock, and R.L. Brinster. 2000. Retrovirus-mediated gene delivery into male germ line stem cells. *Fed. Euro. Bioch. Soc. Letters* 475: 7-10.
- Nagano, M., McCarrey, J.R., Brinster, R.L., 2001. Primate spermatogonial stem cells colonise mouse testes. *Biol. Reprod.* 64, 1409–1416.
- Oatley, J.M. 2001. Development of spermatogonial stem cell transplant techniques in bulls. M.Sc. Thesis. Washington State University.
- Oatley, J.M., De Avila, D.M., McLean, D.J., Griswold, M.D. and Reeves, J.J. 2002. Transplantation of bovine germinal cells into mouse testis. *J. of Anim. Sci.* 80: 1925-1931.
- Ogawa, T., J.M. Arechaga, M.R. Avarbock, and R.L. Brinster. 1997. Transplantation of testis germinal cells into mouse seminiferous tubules. *Int. J. Dev. Biol.* 41: 111-112.
- Ogawa, T., I. Dobrinski, M.R. Avarbock, and R.L. Brinster. 1998. Leuprolide, a gonadotropin-releasing hormone agonist, enhances colonization after spermatogonial transplantation into mouse testes. *Tissue Cell* 30: 583-588.
- Ogawa, T., I. Dobrinski, M.R. Avarbock, and R.L. Brinster. 1999. Xenogeneic spermatogenesis following transplantation of Hamster germ cells to mouse testes. *Biol. Reprod.* 60: 515-521.
- Quesnell, M.M. 1999. Immunization with LHRH fusion proteins and testicular ischemia on testis function. Ph.D. Thesis. Washington State University.
- Reis, M.M., M.C. Tsai, P.N. Schlegel, M. Feliciano, R. Raffaelli, Z. Rosenwaks, G.D. Palermo. 2000. Xenogeneic transplantation of human spermatogonia. *Zygote*. 8: 97-105.
- Schlatt, S., G. Rosiepen, G.F. Weinbauer, C. Rolf, P.F. Brook, and E. Nieschlag. 1999. Germ cell transfer in rat, bovine, monkey and human testes. *Human Reprod.* 14: 144-150.
- Schalat, S. 2002. Spermatogonial stem cell preservation and transplantation. *Mol. Cell. Endocrinol.* 187: 107-111.
- Shinohara, T., M.R. Avarbock, and R.L. Brinster. 1999. α_1 - and α_6 -integrin are surface markers on mouse spermatogonial stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 5504-5509.
- Shinohara, T., K.E. Orwig, M.R. Avarbock, and R.L. Brinster. 2000. Spermatogonial stem cell enrichment by multiparameter selection of mouse testis cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 8346-8351.
- Van Pelt, A.M.M., Morena, A.R., van Dissel-Emiliani, F.M.F., Boitani, C., Gaemers, I.C., de Rooij, D.G., Stefanini, M. 1996. Isolation of synchronized A spermatogonia from adult vitamin A-deficient rat testes. *Biol. Reprod.* 55: 439-444.
- Van Pelt, A.M.M., Rorpers-Gajadien, H.L., Gademán, I.R., Creemers, L.B., de Rooij, D.G., van Dissel-Emiliani, F.M.F. 2002. Establishment of cell lines with rat spermatogonial stem cell characteristics. *Endocrinology*, 143: 1845-1850.
- Vecino, P., Uranga, J.A. Arechaga, J. 2001. Suppression of spermatogenesis for cell transplantation in dult mice. *Protoplasma*. 217: 191-198.
- Viguié-Martinez, M.C., M.T. Hochereau-de Reviers, B. Barenton, and C. Perreau. 1984. Effect of prenatal treatment with busulfan on the hypothalamo-pituitary axis, genital tract and testicular histology of prepubertal male rats. *J. Reprod. Fert.* 70: 67-73.
- Von Schönfeldt, V., Krishnamurthy, H., Foppiani, L., Schlatt, S., 1999. Magnetic cell sorting as a fast and efficient method of enriching viable spermatogonia from rodent and primate testes. *Biol. Reprod.* 61, 582–589.