

Fare korpus kavernozumundan matrigel-tabanlı filizlenen endotel hücre kültür sistemi, yüksek-glukoz maruziyetiyle ilişkili endotel ve erektil disfonksiyon çalışmaları için potansiyel yararlıdır

Yin GN, Ryu JK, Kwon MH, Shin SH, Jin HR et al.
J Sex Med 2012;9:1760-1772

Vasküler endotelium penil ereksiyonun fizyolojisinde ve erektil disfonksiyon (ED) patogeneğinde önemli rol oynar. Vaskülojenik ED çalışmaları için birçok hayvan çalışması bulunmasına rağmen uygun bir kavernoza endotel hücre kültür sistemi endotel disfonksiyon ve ED'de rol alan patofizyolojik mekanizma çalışmaları için avantajlı olabilir. Bu çalışmada nonenzimatik teknik olan "Matrigel-tabanlı filizlenen endotel hücre kültür sistemi" fare kavernoza endotel hücreleri (FKEH) izolasyonu ve diabet-nedenli ED için in vivo durumu kopya eden in vitro bir model tanımlandı.

Primer FKEH kültürü için fare kavernoza dokusu Matrigel içine implante edilir ve dokudan filizlenen hücreler "subkültür" edilir. Diabet nedenli ED için in vitro bir model tanımlamak üzere, primer olarak kültüre edilmiş FKEH'leri 48 saatliğine normal-glukoz (5mmol/L) ya da yüksek-glukoz (30mmol/L) ortama maruz bırakıldı. İzole edilen hücrelerin saflığı "fluorescence-activated cell sorting" (FACS) ile belirlendi. Normal ve yüksek glukozlu ortamda enkübe edilen FKEH Western Blot, cGMP miktarı ölçümü ve in vitro angiogenez assay için kullanıldı.

Deneyler 20'den fazla sefer tekrar edilmiştir ve Matrigel-tabanlı filizlenen endotel hücre kültür sistemi ile yüksek saflıkta FKEH'leri (%99'dan fazla) sürekli olarak elde edebiliriz. FKEH'leri 5. pasaja kadar subkültüre edilmiştir ve endotel hücre morfolojisinde ya da saflığında belirgin bir değişiklik görülmemiştir. Primer kültüre edilmiş hücrelerin saflığını kontrol etmek için FACS analizi yapılmıştır. Primer kültüre edilmiş hücrelerin yaklaşık

%97'si "platelet/endothelial cell adhesion molecule-1" (PECAM-1) pozitif hücrelerdir.

Yüksek glukoz maruz bırakılan FKEH'lerde "receptor for advanced glycation end products" (RAGE) ekspresyonu normal glukoz maruz bırakılanlara göre daha fazlaydı. Yüksek glukoz maruz bırakılan FKEH'ler içinde Akt fosforilasyonu ve eNOS ve cGMP konsantrasyonları normal glukoz maruz bırakılanlara kıyasla belirgin şekilde düşüktü. Normal glukozlu ortama maruz bırakılan FKEH'lerde iyi organize olmuş damarimsı yapılar görülür. Yüksek glukoz maruz bırakılan FKEH'lerde ise tüp oluşumunda dağınıklıklar görülür. Yüksek glukoz maruz kalınca transforming growth faktör $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) ve phospho-Smad2 protein ekspresyonu belirgin şekilde artar.

Bu çalışmada nonenzimatik metod kullanılarak FKEH'leri başarıyla izole ve kültüre edildi ve bu Matrigel-tabanlı filizlenen endotel hücre kültür sistemi olarak adlandırıldı. Fareden, saf kavernoza endotel hücrelerin izolasyonu için Matrigel-tabanlı filizlenen endotel hücre kültür sistemi kolay, teknik olarak yapılabilir ve tekrarlanabilir bir yöntemdir. Yeni endojen ya da sentetik modulatorlerin, anjiyojenik potansiyelinin incelenmesi amacıyla diabetik ED'de bir in vitro model yararlı bir yöntem olacaktır.

Çeviri:

Uzm. Dr. Gökhan Faydacı

**Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği**