

## Kontamine edilmiş prepubertal primat testis hücre süspansiyonunda spermatogoninin kanser hücrelerinden ayrıştırılması

Hermann B.P., Sukhwani M., Salati J., Sheng Y., Chu T., Orwig K.E.  
*Human Reproduction*, Vol.26, No.12 pp. 3222–3231, 2011.

Kanser veya başka hastalıkların tedavisinde uygulanan radyoterapi veya kemoterapi erkeklerde infertiliteye neden olabilmektedir. Sperm hücresi olan erkeklerde tedavi öncesi elde edilen sperm hücrelerinin sperm bankalarında dondurularak saklanması bu hastalara gelecekte IVF ve ICSI şansı tanımakta ve bu kişiler çocuk sahibi olabilmektedir. Fakat henüz sperm hücresi üretemeyen prepubertal erkek çocukların fertilitelerini koruyabilecek bir yöntem bulunmamaktadır. Spermatogonial kök hücreleri (spermatogonial stem cells-SSCs) spermatogenezis sürecinde gelişerek olgun spermleri üreten hücrelerdir. Bu hücreler doğumdan ölüme kadar hangi yaşta olursa olsun bir testise transplante edildiğinde spermatogenezisi tamamlayarak alıcıya fertilitite yeteneği kazandırma kapasitesine sahiptirler. Aynı zamanda SSCs ler dondurulup saklandıklarında ve tekrar çözülüp testise transplante edildiklerinde bu özelliklerini korumaktadırlar. Bu spermatogonial hücrelerin kanserli erkeklerde tedavi öncesinde testis biyopsisi ile elde edilerek dondurulup saklanması ve tedavi sonrasında bu erkeklerin testislerine olograft olarak tekrar ekilmesiyle fertilitite şansları korunabilmektedir. Ancak bu yaklaşım kanserli hücrenin tekrar inoküle edilmesini ve dolayısı ile hastalığın tekrarlama riskini de beraberinde getirmektedir. Jahnukani ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, sadece 20 lösemik hücrenin rat testisine inoküle edilmesi ile bile 21 günde terminal lösemi oluşturduğunu ve ayrıca manyetik aktiviteyi ayırıştırma (magnetic activated cell sorting-MACS) işleminin malign hücre kontaminasyonunu önleyemediğini gösterdiler. Ancak Fujita ve arkadaşları lösemik farelerde floresan aktiviteyi hücre ayırıştırma yönteminin (Flouresan activated cell sorting -FACS) testis hücre süspansiyonlarından kanser hücrelerini ayırmada kullanılabileceğinin ilk kanıtlarını buldular. Bu işlemin sonucunda elde edilen hücre süspansiyonlarının farelere transplante edildiğinde hücrelerin yaşadığı ve donör kaynaklı spermatogenez yeteneğini kazandığını gösterdiler. Genel olarak MACS tabanlı

hücre ayırıştırma işleminin kanser hücrelerini ayırtmada yeterince etkili olmadığı bilinmektedir. Öte yandan araştırmalar FACS tabanlı ayırıştırma işleminin daha iyi olduğu ve kanser hücrelerini daha iyi tespit edip elimine etmekte daha güvenilir olduğunu, ancak bütün vakarda sonuç vermediği gösteriyordu.

Bu çalışmanın amacı kanserli prepubertal erkeklerden elde edilen SSCs'lerin daha sonra bu kanser hastalarına güvenle transplante edilebileceği bir yöntem bulmaktır. FACS yönteminin kullanıldığı bu çalışmada kullanılan prepubertal bir maymunun testis hücreleri transplante edildiğinde yüksek oranda tümör oluşturabilen insan lösemik hücrelerine bağlı olan yeşil floresan proteini (green fluorescent protein-GFP) olan MOLT-4 ile kontamine edildi. GFP ile etiketleme FACS ile malign hücrelerin ayırmasında hassas bir ölçüm yöntemi sağladı. Ayrıca heterojen testis süspansiyonundan kansersiz hücreleri ayırabilmek için spermatogoniumların hücre yüzey belirteci olan CD90 ve kanserli hücre yüzey belirteci olan CD45 pozitif/negatif kombinasyonu kullanıldı.

Çalışmada prepubertal primat deneklerden elde edilen hücre süspansiyonları (SSCs) MOLT-4 (+) lenfoblastik hücreleri ile inoküle edilmiş daha sonra hücre yüzey belirteçleri olan CD90 (THY-1) ve CD45 e göre ayıklanmıştır. Bu çalışmada kanser hücrelerinin CD90-/CD45+ fraksiyonda oldukları ve transplantasyon sonrasında primatlarda tümör oluşturduğu görüldü. Ayıklanmış olan spermatogoniumların (CD90+/CD45-) tümör hücrelerinden ne kadar iyi temizlendiğini araştıran bir ön deneyde bunların %0.1 oranında tümör hücreleri ile kontamine olduğunu ve bu tümör hücrelerinin kobay primatlarda tümör oluşturabileceğini göstermiştir. Tümör hücreleri ile kontaminasyonun kullanılan yanlış ayıklama yöntemi nedeniyle meydana geldiği veya hücrelerin ayıklama sırasında küme oluşturduğu ve bu nedenle tümör hücrelerinin tam ayıklanamadığı düşünülerek bundan sonraki dört farklı deneyde ön deneyden

farklı olarak tekli ayırt etme yöntemi [(singlet discrimination (SD)] kullanıldı. Saflık kontrollerinde ise dört deneyin üçünde CD90+/DC45- olan hücrelerin tümör hücreleri ile kontamine olmadığı ve bunların primatlara transplantasyon sonrasında primatlarda tümör oluşturmadığı görüldü. Bu çalışmanın sonucunda ise spermatogonia hücrelerinin tümör hücrelerinden ayrıştırılmasında FACS yönteminin kullanılabileceği ancak ayıklama sonrasında saflık kontrollerinin yapılması gerektiği görüldü.

Bilimsel açıdan oldukça güzel dizayn edilmiş ve klinik pratikte oldukça önemli bir sorunu çözme adına çok değerli fikir veren bu çalışma, ürologların kanserli erkek hastalara olan yaklaşımında fertilitiyi koruma adına önem-

li ipuçları vermektedir. Günümüzde giderek artan daha erken yaştaki kanser olguları göz önüne alındığında erkeklerde fertilitenin devamının sağlanması daha da gerekli bir hale gelecektir. FACS yönteminin güvenilirliğinin artırılması ve klinik pratikte kullanılabilmesi konusunda daha sağlam fikir sahibi olunması için farklı moleküler belirteçlerin kullanıldığı daha geniş kapsamlı deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır görüşünderiz.

**Çeviri:**

**Dr. Hamit Harbelioğlu, Doç. Dr. Sadık Görür**  
**Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi,**  
**Üroloji Anabilim Dalı**