

BİDGE Yayınları

Moleküler Histoloji

Editör: Moleküler Histoloji

ISBN: 978-625-372-535-8

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 25.12.2024

BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374

Yayın hakları © BİDGE Yayınları

www.bidgeyayinlari.com.tr - bidgeyayinlari@gmail.com

Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.

Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9 Çankaya /
Ankara



İçindekiler

Akciğerlerde P2XR Ekspresyonu ve Fonksiyonu.....	4
Ayhan AKGÜN	4
Apoptoz.....	21
Günsel KİRMAN	21
Erkek Üreme Sistemi	32
Nuray VAROL KAYAPUNAR	32
Seminifer Tübül Epitelinde Yer Alan Tight Junction Bağlantı Kompleksi	56
İlknur ÜNDAĞ.....	56
Hasan Hüseyin DÖNMEZ.....	56
Neonikotinoidler	76
İlknur ÜNDAĞ.....	76
Hasan Hüseyin DÖNMEZ.....	76
Müller Hücreleri.....	96
Seda ORHANGAZİ	96
Yasemin ÖZNURLU.....	96
HOX Genlerin Dişi Genital Sistemdeki Yeri ve Rollerini.....	121
Uğur TOPALOĞLU.....	121
Mehmet Erdem AKBALIK	121

BÖLÜM I

Akciğerlerde P2XR Ekspresyonu ve Fonksiyonu

Ayhan AKGÜN¹

1.GİRİŞ

1.1.Akciğerlerde Adenozin Trifosfatın Rolü

ATP en iyi bilinen organik moleküllerden biridir ve bir enerji taşıyıcısı olarak çok sayıda hücre içi sürecin kontrolünde rol oynar. Ayrıca ATP, hücre dışı bir sinyal molekülü olarak da görev yapabilir. ATP en iyi bilinen organik moleküllerden biridir ve bir enerji taşıyıcısı olarak çok sayıda hücre içi sürecin kontrolünde rol oynar. Ayrıca ATP, hücre dışı bir sinyal molekülü olarak da görev yapabilir.

Günümüzde nöronal olmayan hücrelerden, örneğin astrositlerden, kan damarlarının endotelial hücrelerinden, glial

¹ Öğr. Gör., Iğdır Üniversitesi, Tuzluca MeslekYüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Iğdır/Türkiye, Orcid: 0000-0001-6585-8655, ayhanakgun7676@gmail.com

hücrelerden ve epitelyal hücrelerden de ATP salındığını gösteren çok sayıda bulgu vardır (Patel & ark., 2005; Faigle & ark., 2008). Ekzositotik salınmaya (Bodin & Burnstock, 2001b) ek olarak, taşıyıcı kaynaklı salınım mekanizmaları (Schwiebert & ark., 1998; Bodin & Burnstock, 2001a) veya konneksin hemikanalları yoluyla salınımı (Cotrina & ark., 1998) tartışılmaktadır.

ATP'nin akciğerlerdeki Alveolarepitel Tip (AT) I hücrelerinden kanıtlanmış salınımının yanı sıra spesifik alveolar epitelyal fonksiyonların otokrin ve/veya parakrin düzenlenmesini de etkiler. Bu AT II hücrelerinin aracılık etmesi ve yüzey aktif maddenin salgılanması ATP tarafından uyarılması ile olur (Patel & ark., 2005).

Hücre dışı ATP artışı, mekanik ve oksidatif stres, travma, hücre dışı hipotonisite ve patojenlerle enfeksiyonlar sonucu epitelde meydana gelen değişiklikler yoluyla oluşmaktadır. Serbest bırakılan ATP'nin muhtemelen koruyucu bir işlevi vardır ve diğer etkilerin yanı sıra ozon aracılı hücre ölümünü önler. Bu durum serin/treonin protein kinazlar (PKB/Akt) ve/veya hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar (ERK) sinyal yolları ve bunların metabolik etkilerinden dolayı şekillenmektedir (Ahmad & ark., 2005; Ahmad & ark., 2006).

Hücre dışı nükleozidler ve nükleotidler, sinyal etkilerini membran bazlı purinerjik reseptörler (P-reseptörleri) aracılığıyla gösterirler. P reseptörleri ayrıca adenosin tarafından aktive edilebilen P1 reseptörlerine ve karşılık gelen nükleosid trifosfatlar ve difosfatlar tarafından uyarılan P2 reseptörlerine bölünür.

1.2.P2XR'lerin Yapısı ve İşlevi

P2 reseptörleri moleküler olarak iki farklı ailede sınıflandırılır: (1) Ligand bağımlı katyon kanallarını temsil eden P2X reseptörleri ve (2) G proteinleri aracılığıyla metabotropik reseptörler olarak etkilerine aracılık eden P2Y reseptörleri (Ralevic & Burnstock, 1998; North, 2002).

Bugüne kadar yedi farklı P2X alt birimi klonlanmış ve farmakolojik olarak karakterize edilmiştir (Brake & ark., 1994; Valera & ark., 1994). Kısaca P2X1-7R olarak tanımlanırlar.

P2XR alt tipleri, hücre içi olarak konumlandırılmış bir N- ve C-terminal bölgesi, iki transmembran alanı ve ~285 amino asit içeren bir hücre dışı alandan oluşur. Hücre dışı döngü N-glikosile edilmiştir ve molekül içi disülfür bağları oluşturan on sistein kalıntısı içerir. N-glikosilasyonlar ve oluşan disülfid bağları, doğru protein katlanması, hücre içi taşınma ve P2XR'nin hücre zarındaki lokalizasyonu için önemlidir (Ennion & Evans, 2002b). Ek olarak ATP bağlama cebi hücre dışı alanda lokalizedir (Hansen & ark., 1997; North, 2002). Ancak agonist bölgenin kesin yapısı henüz belirlenmemiştir. Mutasyon çalışmaları, kanal girişine yakın konumdaki ATP bağlanma bölgesinin pozitif yüklü amino asit kalıntıları içerdiğini ve K309 amino asidinin (hP2X1R) ATP'nin negatif yüklü fosfat grupları ile doğrudan etkileşime girdiğinin düşünüldüğü ortaya çıkmaktadır (Roberts & Evans, 2004, 2007).

Hücre içi N-terminal alanı, P2X ailesinde korunan bir protein kinaz C (PKC) bağlama motifi içerir. PKC'nin P2XR'nin duyarısızlaştırılmasında ve içselleştirilmesinde rol oynadığı bilinmektedir (Boue-Grabot & ark., 2000; Ennion & Evans, 2002a).

P2XR'nin dördüncül yapısı taramalı elektron mikroskobu (atomik kuvvet mikroskobu, kısaca AFM) kullanılarak incelenmiştir. P2XR kanallarının üç alt birimden oluştuğu ve P2XR'nin hem homotrimerik (P2X6R hariç) hem de heterotrimerik kanallar oluşturabildiği gösterilmiştir (Barrera & ark., 2005). Ayrıca P2X1/2R, P2X1/3R, P2X1/4R, P2X1/5R, P2X2/3R ve P2X4/6R kombinasyonları tespit edilmiştir (Radford & ark., 1997; Le & ark., 1998; Nicke & ark., 1998; Torres & ark., 1998; Nicke & ark., 2005).

Tüm P2XR kanalları ATP'yi bağlayarak milisaniyeler içinde açılabilir (North, 2002). Na⁺, K⁺ ve Ca²⁺ iyonlarına karşı geçirgendirler ve bu nedenle özellikle hızlı sinyal iletimi ve hücre içi Ca²⁺ konsantrasyonunda lokal artış sağlama yeteneğine sahiptirler (Schwiebert, 2000; Egan & Khakh, 2004). Ayrıca önemli bir özellik olarak P2XR kanallarının aktivitesinin ve seçiciliğinin sinyal molekülleri tarafından oluşturmaktadırlar (Khakh & ark., 1999).

P2XR'nin her iki transmembran alanı (TM'ler) iyon iletiminde ve kanal gözeneginin oluşumunda rol oynar. İkinci transmembran alanı (TM2) iyon akımıyla doğrudan temas halindeyken TM1, TM2'ye çevresel olarak düzenlenmiştir. TM1'in kanal gözeneginin iyon seçiciliğini etkilediği öne sürülmektedir (Li & ark., 2008).

1.3.P2XR'nin Fonksiyonları

Birkaç yıl öncesine kadar P2XR'nin fonksiyonel önemi otonom sinir sisteminin çeşitli alanlarıyla sınırlıydı. Ancak daha ileri çalışmalar, P2XR'nin endotel ve epitelial hücrelerdeki önemli hücresel süreçleri de düzenlediğini bildirmişlerdir (Schwiebert & Zsembery, 2003; Burnstock, 2007). P2XR'nin işlevi kanal aktivitesiyle sınırlı değildir, çeşitli sinyal yollarına karmaşık bir

şekilde bağlanabilir (Kim & ark., 2000; Glass & ark., 2002; Murrell-Lagnado & Qureshi, 2008). Mikro alan lokalizasyonu, sıçan submandibuler bezi hücrelerinde ve makrofajlarda P2X7R (Garcia-Marcos & ark., 2006b; Gonnord & ark., 2009), nöron hücrelerinde P2X3R (Vacca & ark., 2004) ve düz kas hücrelerinde P2X1R gösterilmiştir (Vial & Evans, 2005).

P2X7R'nin, farklı fosfolipazların (PLC, PLA, PLD) modülasyonu yoluyla fosfatidik asit (PA), araşidonik asit (AA) ve diaçilgliserol (DAG) gibi bazı sinyal moleküllerini etkileyebildiği bilinmektedir. P2X7R'nin bu lipidler ve enzimlerle doğrudan mı yoksa dolaylı olarak mı ilişkili olduğu henüz açıklığa kavuşturulmamıştır. Lipid aracılı sinyal yolları, P2X7R'nin lokalizasyonu ile ilişkilidir ve P2X7R ile diğer aşağı akış sinyal yolları arasındaki olası bir bağlantı olarak tanımlanır (Garcia-Marcos & ark., 2006c; Garcia-Marcos & ark., 2006a).

Fosfoinositid PI(4,5)P2 merkezi bir rol oynar. PI(4,5)P2 esas olarak hücre zarında lokalizedir (Pike ve Miller, 1998; Brown ve London, 2000). PI(4,5) P2'nin PLC aracılı hidrolizi, ikinci haberci DAG ve inositol 3,4,5-trifosfatın (IP3) oluşumuna yol açar (Berridge & Irvine, 1989; Berridge, 1993). IP3, endoplazmik retikulumdaki spesifik reseptörlere bağlanır ve böylece hücre içi depolardan Ca^{2+} salınımını tetikler. Ca^{2+} iyonları ise kalmodulin (CaM) ve protein kinaz C (PKC) (Clapham, 1995) gibi çeşitli aşağı yönlü efektörlerle etkileşim yoluyla çok sayıda hücresel süreci düzenler.

CaM her yerde bulunan bir Ca^{2+} sensörüdür ve diğer özelliklerinin yanı sıra, çeşitli iyon kanallarına bağlanarak

aktivitelerini düzenler ve bu sayede hücrenin iyonik dengesini koruyabilir (Maylie & ark., 2004; Derler & ark., 2006).

İkinci haberci DAG, Ca^{2+} ile birlikte PKC izoformlarının aktivasyonuna yol açar. PKC'ler, fosfat kalıntılarını serin veya treonin gruplarına aktararak aşağı yöndeki enzimlerin ve proteinlerin aktivitesini kontrol eden serin/treonin spesifik kinazlara aittir (Yang & Kazanietz, 2003). P2XR'nin işlevselliği aynı zamanda PKC'lerden de etkilenir (Boue-Grabot & ark. 2000, Ennion & Evans, 2002b).

Akciğerde PKC ailesi, geçirgenliğin kontrolü, proliferasyon, apoptoz ve sitokin sekresyonunun kontrolü gibi birçok önemli hücresel fonksiyon için büyük önem taşımaktadır (Yang & Kazanietz, 2003; Dempsey & ark., 2007). Ek olarak, hücre dışı uyaranlara hücresel yanıtı aracılık etme, membran taşınması ve hücre iskeleti ile hücre dışı matrisin organizasyonu ile ilişkilidirler (Carter, 2000).

1.4.P2XR'nin Akciğerlerdeki Dağılımı

Mevcut çalışmalar, P2XR'nin endotel ve epitelyal hücrelerde eksprese edildiğini ve burada spesifik işlevlere sahip olduğunu göstermektedir (Schwiebert & ark., 2002; Schwiebert & Zsembery, 2003). P2XR'ler akciğerin çeşitli doku tiplerinde alt tipe özgü bir şekilde dağılımı vardır. Bunlar P2X1R, P2X2R, P2X4R, P2X5R ve P2X7R fare, sıçan ve insan akciğer mikrovasküler endotel hücrelerinde tespit edilmiştir (Ahmad & ark., 2006). P2RX4, P2RX5 ve P2RX6 insan bronş epitelinde eksprese edilir, ancak farklı hücre tiplerindeki dağılım net değildir (Taylor & ark., 1999; Liang & ark., 2005). Sıçan alveoler makrofajları ve tavşan solunum epitelinin siliyer hücreleri P2X4R ve P2X7R tespit edilmiştir (Bowler & ark.,

2003; Ma & ark., 2006). Ayrıca hamsterlerin akciğerlerinin nöro-epitelyal gövdelerinde P2X1R ve P2X2R tespit edilebilmektedir (Fu & ark., 2004). Alveoler epitel üzerine yapılan çalışmalar, P2rx4 ve P2rx7'nin fare akciğerlerinin AT I hücrelerinde eksprese edildiğini çalışmalar vardır (Barth & ark., 2007; Barth & ark., 2008).

P2X4R ve P2X7R bir reseptör ailesine ait olmasına rağmen bazı yapısal ve fonksiyonel farklılıklar mevcuttur. Translasyon sonrası N-glikosilasyondan sonra, P2X4R'nin akciğer dokusunda ~62 kDa'lık bir moleküler ağırlığı vardır (Sim & ark., 2006; Barth & ark., 2008). P2X4R, diğer P2XR alt tipleri ile birlikte immüno-çökeltilebilir ve hücre zarında hem fonksiyonel bir homotrimerik hem de heterotrimerik kanal olarak mevcut olabildiği bildirilmiştir (Le & ark., 1998; Nicke & ark., 2005).

Önceki çalışmalar, P2X4R'nin akciğer epitelindeki Cl⁻ kanallarının Ca²⁺'ya bağımlı uyarılmasında rol oynadığını göstermiştir (Taylor & ark., 1999; Zsembery & ark., 2003). P2X4R'nin aracılık ettiği Ca²⁺ akışının, Ca²⁺'ya bağımlı protein kinazların (PKCa) aktivasyonu yoluyla Ca²⁺'ya duyarlı Cl kanallarını doğrudan mı yoksa dolaylı olarak mı uyardığı açık değildir (Taylor & ark., 1999). P2X4R'nin akciğer epitelindeki diğer fonksiyonel özellikleri henüz bilinmemektedir.

P2X4R'nin aksine P2X7R alt tipi 595 aa ile P2XR ailesinin en uzun üyesidir. Büyük, seçici olmayan bir kanal gözeneği oluşturabilen üçüncü bir hidrofobik alana sahip, önemli ölçüde daha uzun bir karboksi terminal ucuna sahiptir (North, 2002). Ayrıca P2X7R translasyon sonrası şekillenmekte ve akciğer dokusunda ~80

kDa'lık bir moleküler ağırlığa sahip olarak gözlenmektedir (Sim & ark., 2004; Barth & ark., 2007).

Daha önce P2X7R'nin diğer P2XR'lerle etkileşime girmediği ve yalnızca hücre zarında bir homotrimer olarak var olduğu öne sürülmüştü (Torres & ark., 1999). Ancak son yıllarda bazı hücre tiplerinde P2X4R ve P2X7R'nin membranlarda kısmen aynı yerde lokalize olduğu, aynı zamanda birbirleriyle ilişkili görüldüğü de gözlenmiştir (Boumechache ve ark., 2009; Guo & ark., 2007; Nicke, 2008). Akciğerin silialı epitel hücrelerinde, P2X4R ve P2X7R birlikte eksprese edildiği ve iki P2XR'nin heteromerik bir bağlantısı olduğu bildirilmektedir (Ma & ark., 2006). Akciğer epitelindeki P2X7R'ye, özellikle de AT I hücrelerine ilişkisi tam olarak ortaya konulmamıştır. Genel olarak, diğer P2X reseptörleri için henüz bilinmeyen, P2X7R için diğer proteinler ve ikinci haberciye bağımlı sinyal yolları ile bir takım etkileşimler tanımlanmıştır (Ralevic & Burnstock, 1998; North, 2002). Örneğin, P2X7R aracılı etkiler, IL-1 β ile ilişkili inflamatuvar süreçlere dahil olduğunu gösterdiği gözlemlenmiştir (Di Virgilio & Solini, 2002; Pelegrin & Surprenant, 2006).

2. SONUÇ

P2X molekülü, P2X reseptörleri adı verilen bir protein ailesini ifade eder. Bu reseptörler, iyon kanalı reseptörleri olarak işlev görür ve ATP (adenosin trifosfat) molekülü tarafından aktive edilir. Canlı organizmalardaki rolleri oldukça çeşitlidir ve sinir sistemi, bağışıklık sistemi, kardiyovasküler sistem gibi birçok fizyolojik süreçte önemli görevler üstlenirler. Bu çalışmada da akciğer ile ilişkisi ortaya konulmaya çalışılmıştır. P2XR'lerin akciğerle olan ilişkisi, hem fizyolojik hem de patolojik süreçlerde önemli roller üstlenir.

Akciğerdeki epitelyal hücreler, immün hücreler, endotel hücreleri üzerinde bu reseptörlerin bulunması, akciğer fonksiyonlarının düzenlenmesi ve hastalık süreçlerinde etkili olduklarını gösterir. Akciğer ile P2XR'ler ile daha kapsamlı çalışmalar yapılarak bilinmeyen yönleri ortaya konulmalıdır.

REFERANS

Ahmad S, Ahmad A, McConville G, Schneider BK, Allen CB, Manzer R, Mason RJ & White CW (2005) Lung epithelial cells release ATP during ozone exposure: signaling for cell survival. *Free Radic Biol Med* 39:213-226.

Ahmad S, Ahmad A & White CW (2006) Purinergic signaling and kinase activation for survival in pulmonary oxidative stress and disease. *Free Radic Biol Med* 41:29-40.

Barrera NP, Ormond SJ, Henderson RM, Murrell-Lagnado RD & Edwardson JM (2005) Atomic force microscopy imaging demonstrates that P2X2 receptors are trimers but that P2X6 receptor subunits do not oligomerize. *J Biol Chem* 280:10759-10765

Barth K, Weinhold K, Guenther A, Linge A, Gereke M & Kasper M (2008) Characterization of the molecular interaction between caveolin-1 and the P2X receptors 4 and 7 in E10 mouse lung alveolar epithelial cells. *Int J Biochem Cell Biol* 40:2230-2239.

Barth K, Weinhold K, Guenther A, Young MT, Schnittler H & Kasper M (2007) Caveolin-1 influences P2X7 receptor expression and localization in mouse lung alveolar epithelial cells. *FEBS J* 274:3021-3033.

Berridge MJ (1993) Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature* 361:315-325.

Berridge MJ & Irvine RF (1989) Inositol phosphates and cell signalling. *Nature* 341:197-205.

Bodin P & Burnstock G (2001a) Purinergic signalling: ATP release. *Neurochem Res* 26:959- 969.

Bodin P & Burnstock G (2001b) Evidence that release of adenosine triphosphate from endothelial cells during increased shear stress is vesicular. *J Cardiovasc Pharmacol* 38:900-908.

Boue-Grabot E, Archambault V & Seguela P (2000) A protein kinase C site highly conserved in P2X subunits controls the desensitization kinetics of P2X(2) ATP-gated channels. *J Biol Chem* 275:10190-10195.

Boumechache M, Masin M, Edwardson JM, Gorecki DC & Murrell-Lagnado R (2009) Analysis of assembly and trafficking of native P2X4 and P2X7 receptor complexes in rodent immune cells. *J Biol Chem* 284:13446-13454.

Bowler JW, Bailey RJ, North RA & Surprenant A (2003) P2X4, P2Y1 and P2Y2 receptors on rat alveolar macrophages. *Br J Pharmacol* 140:567-575.

Brake AJ, Wagenbach MJ & Julius D (1994) New structural motif for ligand-gated ion channels defined by an ionotropic ATP receptor. *Nature* 371:519-523.

Brown DA & London E (2000) Structure and function of sphingolipid- and cholesterol-rich membrane rafts. *J Biol Chem* 275:17221-17224.

Burnstock G (2007) Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission. *Physiol Rev* 87:659-797.

Carter CA (2000) Protein kinase C as a drug target: implications for drug or diet prevention and treatment of cancer. *Curr Drug Targets* 1:163-183.

Clapham DE (1995) Calcium signaling. *Cell* 80:259-268.

Cotrina ML, Lin JH, Alves-Rodrigues A, Liu S, Li J, Azmi-Ghadimi H, Kang J, Naus CC & Nedergaard M (1998) Connexins regulate calcium signaling by controlling ATP release. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:15735-15740.

Dempsey EC, Cool CD & Littler CM (2007) Lung disease and PKCs. *Pharmacol Res* 55:545- 559.

Di Virgilio F & Solini A (2002) P2 receptors: new potential players in atherosclerosis. *Br J Pharmacol* 135:831-842.

Egan TM & Khakh BS (2004) Contribution of calcium ions to P2X channel responses. *J Neurosci* 24:3413-3420.

Ennion SJ & Evans RJ (2002a) P2X(1) receptor subunit contribution to gating revealed by a dominant negative PKC mutant. *Biochem Biophys Res Commun* 291:611-616.

Ennion SJ & Evans RJ (2002b) Conserved cysteine residues in the extracellular loop of the human P2X(1) receptor form disulfide bonds and are involved in receptor trafficking to the cell surface. *Mol Pharmacol* 61:303-311.

Faigle M, Seessle J, Zug S, El Kasmi KC & Eltzschig HK (2008) ATP release from vascular endothelia occurs across Cx43 hemichannels and is attenuated during hypoxia. *PLoS ONE* 3:e2801.

Fu XW, Nurse CA & Cutz E (2004) Expression of functional purinergic receptors in pulmonary neuroepithelial bodies and their role in hypoxia chemotransmission. *Biol Chem* 385:275-284.

Garcia-Marcos M, Perez-Andres E, Tandel S, Fontanils U, Kumps A, Kabre E, Gomez- Munoz A, Marino A, Dehaye JP & Pochet S (2006c) Coupling of two pools of P2X7 receptors to

distinct intracellular signaling pathways in rat submandibular gland. *J Lipid Res* 47:705-714.

Garcia-Marcos M, Pochet S, Marino A & Dehaye JP (2006a) P2X7 and phospholipid signalling: the search of the "missing link" in epithelial cells. *Cell Signal* 18:2098- 2104.

Garcia-Marcos M, Pochet S, Tandel S, Fontanils U, Astigarraga E, Fernandez-Gonzalez JA, Kumps A, Marino A & Dehaye JP (2006b) Characterization and comparison of raft-like membranes isolated by two different methods from rat submandibular gland cells. *Biochim Biophys Acta* 1758:796-806.

Glass R, Loesch A, Bodin P & Burnstock G (2002) P2X4 and P2X6 receptors associate with VE-cadherin in human endothelial cells. *Cell Mol Life Sci* 59:870-881.

Gonnord P, Delarasse C, Auger R, Benihoud K, Prigent M, Cuif MH, Lamaze C & Kanellopoulos JM (2009) Palmitoylation of the P2X7 receptor, an ATP-gated channel, controls its expression and association with lipid rafts. *Faseb J* 23:795-805.

Guo C, Masin M, Qureshi OS, Murrell-Lagnado RD (2007) Evidence for functional P2X4/P2X7 heteromeric receptors. *Mol Pharmacol* 72:1447-1456.

Hansen MA, Barden JA, Balcar VJ, Keay KA & Bennett MR (1997) Structural motif and characteristics of the extracellular domain of P2X receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 236:670-675.

Khakh BS, Bao XR, Labarca C & Lester HA (1999) Neuronal P2X transmitter-gated cation channels change their ion selectivity in seconds. *Nat Neurosci* 2:322-330.

Kim M, Spelta V, Sim J, North RA & Surprenant A (2001) Differential assembly of rat purinergic P2X7 receptor in immune cells of the brain and periphery. *J Biol Chem* 276:23262-23267.

Le KT, Babinski K & Seguela P (1998) Central P2X4 and P2X6 channel subunits coassemble into a novel heteromeric ATP receptor. *J Neurosci* 18:7152-7159.

Li M, Chang TH, Silberberg SD & Swartz KJ (2008) Gating the pore of P2X receptor channels. *Nat Neurosci* 11:883-887.

Liang L, Zsembery A & Schwiebert EM (2005) RNA interference targeted to multiple P2X receptor subtypes attenuates zinc-induced calcium entry. *Am J Physiol Cell Physiol* 289:C388-396.

Ma W, Korngreen A, Weil S, Cohen EB, Priel A, Kuzin L & Silberberg SD (2006) Pore properties and pharmacological features of the P2X receptor channel in airway ciliated cells. *J Physiol* 571:503-517.

Murrell-Lagnado RD & Qureshi OS (2008) Assembly and trafficking of P2X purinergic receptors (Review). *Mol Membr Biol* 25:321-331.

Nicke A, Baumert HG, Rettinger J, Eichele A, Lambrecht G, Mutschler E & Schmalzing G (1998) P2X1 and P2X3 receptors form stable trimers: a novel structural motif of ligand-gated ion channels. *Embo J* 17:3016-3028.

Nicke A, Kerschensteiner D & Soto F (2005) Biochemical and functional evidence for heteromeric assembly of P2X1 and P2X4 subunits. *J Neurochem* 92:925-933.

North RA (2002) Molecular physiology of P2X receptors. *Physiol Rev* 82:1013-1067.

Patel AS, Reigada D, Mitchell CH, Bates SR, Margulies SS & Koval M (2005) Paracrine stimulation of surfactant secretion by extracellular ATP in response to mechanical deformation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 289:L489-496.

Pelegri P & Surprenant A (2006) Pannexin-1 mediates large pore formation and interleukin-1 β release by the ATP-gated P2X7 receptor. *Embo J* 25:5071-5082.

Pike LJ & Miller JM (1998) Cholesterol depletion delocalizes phosphatidylinositol bisphosphate and inhibits hormone-stimulated phosphatidylinositol turnover. *J Biol Chem* 273:22298-22304.

Radford KM, Virginio C, Surprenant A, North RA & Kawashima E (1997) Baculovirus expression provides direct evidence for heteromeric assembly of P2X2 and P2X3 receptors. *J Neurosci* 17:6529-6533.

Ralevic V & Burnstock G (1998) Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol Rev* 50:413-492.

Roberts JA & Evans RJ (2004) ATP binding at human P2X1 receptors. Contribution of aromatic and basic amino acids revealed using mutagenesis and partial agonists. *J Biol Chem* 279:9043-9055.

Roberts JA & Evans RJ (2007) Cysteine substitution mutants give structural insight and identify ATP binding and activation sites at P2X receptors. *J Neurosci* 27:4072-4082.

Schwiebert EM (2000) Extracellular ATP-mediated propagation of Ca(2+) waves. Focus on "mechanical strain-induced Ca(2+) waves are propagated via ATP release and purinergic receptor activation". *Am J Physiol Cell Physiol* 279:C281-283.

Schwiebert EM, Egan ME & Guggino WB (1998) Assays of dynamics, mechanisms, and regulation of ATP transport and release: implications for study of ABC transporter function. *Methods Enzymol* 292:664-675.

Schwiebert EM & Zsembery A (2003) Extracellular ATP as a signaling molecule for epithelial cells. *Biochim Biophys Acta* 1615:7-32.

Schwiebert LM, Rice WC, Kudlow BA, Taylor AL & Schwiebert EM (2002) Extracellular ATP signaling and P2X nucleotide receptors in monolayers of primary human vascular endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 282:C289-301.

Sim JA, Chaumont S, Jo J, Ulmann L, Young MT, Cho K, Buell G, North RA & Rassendren F (2006) Altered hippocampal synaptic potentiation in P2X4 knock-out mice. *J Neurosci* 26:9006-9009.

Sim JA, Young MT, Sung HY, North RA & Surprenant A (2004) Reanalysis of P2X7 receptor expression in rodent brain. *J Neurosci* 24:6307-6314.

Taylor AL, Schwiebert LM, Smith JJ, King C, Jones JR, Sorscher EJ & Schwiebert EM (1999) Epithelial P2X purinergic receptor channel expression and function. *J Clin Invest* 104:875-884.

Torres GE, Egan TM & Voigt MM (1999) Hetero-oligomeric assembly of P2X receptor subunits. Specificities exist with regard to possible partners. *J Biol Chem* 274:6653- 6659.

Torres GE, Haines WR, Egan TM & Voigt MM (1998) Co-expression of P2X1 and P2X5 receptor subunits reveals a novel ATP-gated ion channel. *Mol Pharmacol* 54:989-993.

Vacca F, Amadio S, Sancesario G, Bernardi G & Volonte C (2004) P2X3 receptor localizes into lipid rafts in neuronal cells. *J Neurosci Res* 76:653-661.

Valera S, Hussy N, Evans RJ, Adami N, North RA, Surprenant A & Buell G (1994) A new class of ligand-gated ion channel defined by P2x receptor for extracellular ATP. *Nature* 371:516-519.

Vial C & Evans RJ (2005) Disruption of lipid rafts inhibits P2X1 receptor-mediated currents and arterial vasoconstriction. *J Biol Chem* 280:30705-30711.

Yang C & Kazanietz MG (2003) Divergence and complexities in DAG signaling: looking beyond PKC. *Trends Pharmacol Sci* 24:602-608.

Zsembery A, Boyce AT, Liang L, Peti-Peterdi J, Bell PD & Schwiebert EM (2003) Sustained calcium entry through P2X nucleotide receptor channels in human airway epithelial cells. *J Biol Chem* 278:13398-13408.

BÖLÜM II

Apoptoz

Günsel KİRMAN

1.Apoptozis

Apoptozis'' in kelime anlamı çiçeklerin yaprağını dökmesi ya da ağaçların sonbaharda yapraklarının dökülmesi anlamında olan yunanca apo'pto'sis'ten adını alan bir kelimedir.1972 yılında ilk kez John Kerr tarafından bu isim kullanılmış olup “apoptotik cisimlerin” bir hücredeki morfolojik özellikleri vurgulanmıştır. Esas olarak ilk kez 100 yıl kadar öncesinden Carl Vogt tarafından 1842 yılında apoptozisin tanımı yapılmıştır. Apoptozisle ilgili yayınların sayısı son 10 yıl içinde önemli derecede artarak yaşam bilimleriyle ilgili makalelerin %2'sinden fazlasını oluşturmuştur. Aslında hücre ölümüyle ilgili makalelerin kronolojisi incelendiğinde, Parkinson, Alzheimer, nörodejeneratif hastalıklar, AIDS gibi birçok hastalıkta apoptozun sıklıkla görülmesi buna karşın p53 ve Bcl-2 gibi

DNA mutasyonları, virüs enfeksiyonu, kanser, otoimmün hastalıklarda ise daha az görülmesinin anlaşılması sonucunda ortaya çıkmıştır (Lawen, A. (2003)

Apoptozis, hem potansiyel olarak tehlike oluşturan ve istenmeyen hücrelerin ortadan kaldırılmasında savunma mekanizması olarak görev yapan hem de hücre sayılarının düzenlenmesinde rol oynayan programlanmış hücre ölümüdür (Estaquier, J. & ark. (2012).

2.Apoptotik Hücreler

Hemeostazı sağlamak amacıyla insan vücudunda her gün 10-100 milyar hücre üretilir ve aynı sayıda hücre ölür. Ayrıca virüs ya da bakterilerle enfekte olmuş hücrelerin ölümü de söz konusudur. Yetişkin insan vücudunda %6,8 endotel hücreleri, %5,0 deri fibroblastları, %70,1 eritrositler, %8,0 glial hücreler, vb. farklı tiplerde hücreler bulunmaktadır. Embriyogenez esnasında vücut şekillendirildiğinde zararlı ve fazla hücreler gelişimsel açıdan hücre ölümü olarak programlanırken çoğu hücre de fazla miktarda üretilir. Ölen hücreler makrofajlar tarafından tanınarak fagosite edilir. Bu süreçte yer alan oluşumlardan bazıları cinsel farklılaşma, sinir ağı oluşumu, bağışıklık sistemi gelişimin, parmak arası oluşumu gibi sayılabilir. Vücut hücrelerinin farklı yaşam süreleri bulunmaktadır. Örneğin, eritrositler 120 gün, nötrofiller 8*-10 saat, hepatositler 150 gün, enterositler 5-7 gün gibi. Dolayısıyla her gün birkaç yüz milyar hücre üretilirken aynı sayıda hücre de ölür. Bu ölümün nasıl gerçekleştiği hücre tipine bağlı olarak değişir. Örneğin, yaşlı eritrositler dalak ve karaciğerde makrofajlarca parçalanır. Yaşlı nötrofiller ölür ve daha sonra kemik iliği, karaciğer ve dalaktaki makrofajlar tarafından fagosite edilirler, yaşlı kırmızı kan hücreleri

ise dalak makrofajları ile karaciğerdeki makrofaj hücreleri olan kuppfer hücreleri tarafından fagosite edilirler.

Fizyolojik hücre ölümü, inflamasyonsuz bir apoptozis süreci geçirirken, patojen kaynaklı apoptoziste bağışıklık sistemi aktive edilen ve inflamasyona yol açan piropitoz ve nekroptoz indüklenir. Apoptozis sonucu meydana gelen ölü hücreler, makrofajlar tarafından hızlı bir şekilde yutulur. Kaskadlar halinde hareket eden Kaspazlar, bir sistein proteaz ailesini oluşturmaktadırlar. Kaskadlar kaspaz 3 aktivasyonuna yol açarlar ve böylece apoptozu indükleyerek hücrelerin ölümünü, makrofajlar tarafından yutulmasını yani "beni ye" sinyalini oluştururlar. Eğer bu işleyişte hücrelerin makrofajlar tarafından etkili yutulmaması gibi herhangi bir aksaklık meydana gelirse hücreler ikincil nekroza maruz kalarak sistemik lupus benzeri bir otoimmün hastalığa neden olurlar ve bu hasara bağlı bir moleküler modeli simgeleyen hücre içi materyallerin serbest kalmasına yol açarlar (Nagata, S. (2018).

3.Apoptozis ve Mitokondri

Hücrel apoptoza aracılık eden Bcl-2 benzeri proteinler, kaspazlar, DNA ve mitokondriyi parçalayan proteinler, sfingomiyelinazlar gibi çeşitli sinyal molekülleri ve hücrel organelleri içeren bir hücre içi sinyal programıdır. Apoptozun meydana gelmesini sağlayan uyarılar iki grupta toplanabilir. Bunlar; TNF ve CD98 gibi yüzey reseptörlerine sahip fizyolojik uyarılar ile UV ışığı, viral ve bakteriyel enfeksiyonlar, ışınlama gibi stres uyarılarıdır (Gulbins, E., Dreschers, S., & Bock, J. (2003).

4.Hücre Ölümü Tipleri

Genel olarak iki tip hücre ölümü bulunmaktadır. Bunlardan ilki hücre hasarının büyük olmasından kaynaklanan, bir dokuda yer alan hücre gruplarının ölümüyle sonuçlanan ve kazara gerçekleşen bir ölüm türü olan nekrotik hücre ölümüdür. Diğerisi ise nekrotik hücre ölümünün aksine apoptotik hücre ölümünün indüklendiği ya da örneğin gelişim sırasında hücrenin önceden programlanması ve hücrenin bireysel ölümünün söz konusu olduğu apoptozdur. Moleküler düzeyde incelendiğinde, apoptozis oldukça disiplinli bir düzenlenme gösterir. Apoptotik hücre ölümünde TNF reseptörü-1 veya Fas reseptörü olarak bilinen ölüm reseptörüne ait ligandla etkileşime girilmesi ve mitokondrinin apoptoziste yer alması olmak üzere iki temel yol söz konusudur. Mitokondriyal yolu düzenleyen ise Bcl-2 ailesinden antiapoptotik ve proapoptotik üyeleridir. Sonuçta her iki yol da kaspaz aktivasyonu ve spesifik hücresel substratların parçalanmasını amaçlamaktadır. Bunların sonucunda ise apoptotik fenotip ile ilişkili morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler meydana gelir. Doku homeostazında normal gelişim ve bakım açısından apoptozis gerekli ve temel bir fizyolojik prosesdir. Ayrıca immünolojik hastalıklar, akut nörolojik yaralanmalar, immün yetmezlik sendromu nörodejeneratif hastalıklar, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli patolojik durumlarda da apoptozis rol oynar. Kerr, Wyllie ve Currie 1970'lerde apoptozisi tanımlarken nükleer parçalanma, kabarcıklaşma, kromatin yoğunlaşması, yapışma kaybı ve yuvarlaklaşma (yapışık hücrelerde) ve hücre büzülmesi gibi ölmekte olan hücrenin morfolojik görünümü şeklinde apoptoz tanımını yapmışlardır. Biyokimyasal özellikler açısından apoptozis ile ilişkilendirilen faktörler fosfatidil serin

eksternalizasyonu, hücre içi bir takım substratın proteolitik bölünmesi, deoksiribonükleik asit (DNA) parçalanması ya da oligonükleozomal bir şekilde parçalanma, yüksek moleküler ağırlık sayılabilir. Plazma membranında meydana gelen değişiklikler sonunda hücre içerikleri salınmadan ve inflamatuvar yanıt gerçekleşmeden apoptotik hücreler hızlı bir şekilde fagosite edilirler (Zimmermann, K. C., & Green, D. R. (2001).

Apoptozise uğrayan hücrelerde, hücrenin ortadan kaldırılmasını ve ölümünü gerçekleştirmek için hücre içi bir sinyal yolu özerk olarak görev yapar. Farklı koşullarda gerçekleşen apoptozis esnasında biyokimyasal olayların benzer olması, deneysel ya da doğal olarak hücre ölümünün indüklenmesi ile morfolojik değişikliklerin sıradanlığını yansıtmaktadır (Häcker, G. (2000).

5.Apoptotik Hücre Ölümü

Apoptozis tespiti, DNA'nın parçalanması, membran değişiklikleri, hücre üremesi ve sitotoksiste, mitokondrilerde hasar oluşması, immünolojik tespit ve mekanizma kökenli analizleri kapsayan yöntemler içerir. Apoptozis tespitinde daha nadir olarak kullanılan yöntemler arasında apoptozisin içeriğini ve zamanlamasını tespit amaçlı ışık saçılımı akış sitometrisi, bu tespitte zamansal açıdan desteklemek, hücresel yapışmayı engellemek ve hücre yüzey alanı ölçmek için zaman atlamalı mikroskopi perfüzyon platformu ile genotoksisteye has kromatin değişiklikleri yer alır.

Morfolojik değişiklikler açısından değerlendirildiğinde otofaji, apoptozis ve nekroz olmak üzere üç tip hücre ölümü formu belirlenmiştir. Apoptoziste meydana gelen hücresel morfolojik özellikler plazma membranının kabarması, büzülme, apoptotik

cisimlerin oluşumu, nükleer bozulmalar ve diğerlerine göre daha az karakteristik olarak görülen sitoplazmik değişiklikler gözlenir. Otofajide, hücrelerin kapsüllenmiş sitoplazmik materyal ile fagozomlar nedeniyle çift zarla sarılı otofagozom denilen vakuollerin yoğun olarak toplandığı görülür. Nekrozdaki hücresel morfolojik değişiklikler ise organellerde genişleme, sitoplazmik şişme, membran yırtılması, vakuolleşme, sitoplazma içeriğinin sızması sayılabilir. Apoptotik hücrelerin tespitinde kullanılan birtakım analizler ve teknikler söz konusudur. Bunlar arasında, DNA bozunumu, nükleaz analizleri, morfoloji, DNA uç etiketleme teknikleri ve akış sitometrik tespiti yer alır (Banfalvi, G. (2017).

6.Apoptozis ve Kaspazlar

6.1.Kaspaz bağımlı yol

Klasik programlanmış hücre ölümü kaspaz bağımlı apoptozistir. Bu ölüm yoluna Kaspaz-3,kaspaz-7,kaspaz-8,kaspaz-9 ve kaspaz-12 katılır. Aynı zamanda TLR, Ölüm reseptörü, TNF-alfa reseptörü, FasL reseptörü gibi reseptörler de yer alır.

Apoptoziste diğer önemli kanallardan biri demir kanallarıdır. Tipik olarak gözlenen demir kanalı kalsiyum kanalıdır. Sitosolde bulunan kalsiyum konsantrasyonu sinyal iletimi açısından büyük bir önem taşır. Hem hücre ölümüne hem de hücre çoğalmasına doğrudan katıldığı için kalsiyum kanalının açılıp kapanmasının kontrolü hücrenin kaderini belirler. Kaspaz bağımlı apoptozu tetikleyen faktörler arasında RNA veya DNA, proteinler, bazı kimyasal ve doğal bileşikler, peptitler ve patojenler yer alır. Farklı reseptörler içerebilirler ve farklı kaspazlar yoluyla hücre ölümünü

indükleyerek aşağı akış sinyallerini iletilmesi amacıyla dönüştürücü olarak kullanabilirler.

6.2.Kaspaz bağımsız yol

Hücre, mitokondri membran potansiyelinde değişikliklere yol açan çok sayıda ligand içerir. Apoptozisin ilk adımı mitokondri hasarıdır. Akabinde ROS (Reaktif Oksijen Türleri)üretimi artarak kaspaz bağımsız apoptozu indükler. AIF (Apoptoz İndükleyici Faktör) mitokondriden salınabilmektedir. DNA'yı kesmek için nükleere taşınabilen kaspaz bağımsız pro-apoptozis faktörüdür. Böyle bir durumda eğer DNA hasarı hücreler tarafından onarılmazsa apoptoz meydana gelir. Yapılan çalışmalarda simvastatin, kadmiyum , staurosporin, gibi bileşiklerin AIF üretimine eşlik ettiği hücre ölümünü indükleyebildiği belirtilmiştir. Bu faktörler aynı zamanda Primer Siliyer Diskinezi (PCD) denilen kalıtsal hastalığı da kaspazdan bağımsız olarak tetiklemiştir. AIF kaspazdan bağımsız PCD'yi tetiklemektedir. Aynı zamanda bu hücre ölümüne ROS' da katılmaktadır. ROS kaspaz bağımlı apoptoz yolunda da yer alır. Bu nedenle ROS, hem kaspaz bağımlı hem de kaspaz bağımsız apoptozu in vivo olarak bağlamada önemli bir köprü görevi görür. ROS 'un kaynağı mitokondridir. Dolayısıyla mitokondrinin apoptoz yollarındaki etkileşimlerde önemi büyüktür. Diğer önemli faktör ise ligandlardır. Özellikle AIF nükleer translokasyonu, mitokondriyal işlev bozuklukları, ROS artışı gibi karmaşık reaksiyonları tetikleyerek kaspaz bağımsız apoptoz yoluna sebep olabilir. İn vitro ve in vivo hücrelerden gelen AIF ve ROS dışında, kaspaz bağımsız apoptozis yolunda yer alan bazı virüs proteinleri, lizozomal membran geçirgenleşmesi, ilaçlar, p53 baskılama tümör faktörleri

gibi çok sayıda apoptojenik faktörler olan sinyal molekülü ve ligandlar da bulunmaktadır (Hongmei, Z. (2012).

7.Apoptoziste Mitokondriyal Dinamikler

Memelilerde, kaspazların (apoptozisin ana uygulayıcıları olan sistein proteazları) aktivasyonu, ilk keşfedilen memeli hücre ölümü düzenleyicisi olan Bcl-2 ailesi proteinleri memelilerde kaspazların aktivasyonunu kontrol ederler. Etki mekanizmaları mitokondrilerden kaspaz aktivatörlerinin salınımını düzenlemek şeklindedir. Apoptozis kontrolünde mitokondriyal aşama kaspaz aktivasyonunun yukarısında olup Bcl-2 protein ailesi buna aracılık etmektedir. Mitokondride kaspaz aktivasyonunun işleyişi ise mitokondri iç ve dış zarları arasında yer alan boşluktan proteinlerin sitozole salınmasının düzenlenmesidir. Mitokondriden Sitokrom C salındığı zaman sitozolde bulunan APAF'e (Apoptotik Proteaz Aktive Edici Faktör 1)'e bağlanarak kaspaz 9'un aktivasyonunu sağlayan apoptozomun birleşmesini gerçekleştirir.

Mitokondriyal zar aracılığıyla sitokrom C ve diğer proteinlerin salınımını Bcl-2 ailesine ait proteinler düzenlemektedir. Bu aileye ait Bak ve Bax gibi proteinler apoptozisi indüklerken, Mcl1, Bcl-2 ve Bcl-xL gibi proteinler ise apoptozu engelleyen proteinlerdir. Mitokondriden sitokrom C'nin salınımını aktive eden Bak ve Bax , anti-apoptotik Bcl-2 ailesi tarafından baskılanır. Bu proteinler Bax ve Bak proteinlerine bağlanarak baskın negatif inhibitörler şeklinde bu işlevi görürler.

Anti-apoptotik Bcl-2 ailesi üyeleri, yapı olarak proapoptotik üyelere çok benzediğinden, Bax ve Bak'a bağlanarak ve onları inhibe ederek işlev görebilirler.

Kaspaz aktivasyonunun yukarısında mitokondrilerin çok sayıda küçük parçalara ayrılması sitokrom C 'nin salınması esnasında ya da öncesinde gerçekleşir. Mitokondride meydana gelen bu fisyon engellenirse, sitokrom C salınımı da engellenir ve böylece hücre ölümü gecikir. Mitokondrilerin sürekli bir şekilde bölünmesi ve birleşerek dinamik bir bağlantı ağı olan uzun tübüller oluşturduğu çoğu yapışık hücre tipinde görülmektedir. Mitokondriyal fonksiyonun devam etmesinde füzyon süreci oldukça önem taşır. Eğer füzyon süreci kesintiye uğrayacak olursa iç mitokondriyal membran potansiyelinde kayba neden olur. Füzyon ve fisyon süreçleri çoğu memelilerde füzyon araçları Mfn1 ve 2 (mayadaki Fzo1) ve OPA1 (mayadaki Mgm1) ve fisyon araçları Drp1 (mayadaki Dnm1) ve Fis1 gibi birtakım genler tarafından düzenlenmektedir (Suen, D. F., Norris, K. L., & Youle, R. J. (2008).

8.Apoptozis ve Oksidatif Stres

ROS ve bunun sonucunda meydana gelen oksidatif stres apoptoziste önemli bir role sahiptir. Apoptoz manganez süperoksitin (MnSOD) ile Antioksidanlar ve *N*-asetilsistein gibi tiyol indirgeyicilerin aşırı ekspresyonu sonucunda geciktirilebilir ya da engellenebilir. Yapılan çalışmalar endojen olarak üretilen Bcl-2 proteininin antioksidandan kaynaklı hücrelerin apoptozis yoluyla ölümünü engellediğini göstermiştir. Mitokondriyal sitokrom C, APAF-1, pro-kaspazlar, apoptoz indükleyici faktör (AIF) gibi apoptozda rol alan faktörler sitozole salınır. Bunlardan multimerik kompleks oluşturan APAF-1 ,sitokrom C ve kaspaz 9 faktörleri apoptotik hücre ölümüne neden olan aşağı akış kaspazlarını indüklerler. Yapılan araştırmalar oksidatif stres ile apoptozisin birbiriyle bağlantılı olduğunu kanıtlamıştır. Bunun sonucu olarak ta

diabetes mellitus, kanser, AIDS, Parkinson, otoimmünite, Alzheimer ,kalp ve beyin iskemisi gibi bazı kronik hastalıkların patofizyolojisinde yer aldıklarını göstermiştir (Kannan, K., & Jain, S. K. (2000)).

Kaynaklar

Lawen,A.(2003).Apoptosis—an introduction. *Bioessays*, 25(9), 888-896.

Estaquier, J., Vallette, F., Vayssiere, J. L., & Mignotte, B. (2012). The mitochondrial pathways of apoptosis. *Advances in mitochondrial medicine*, 157-183.

Nagata, S. (2018). Apoptosis and clearance of apoptotic cells. *Annual review of immunology*, 36(1), 489-517.

Gulbins, E., Dreschers, S., & Bock, J. (2003). Role of mitochondria in apoptosis. *Experimental Physiology*, 88(1), 85-90.

Zimmermann, K. C., & Green, D. R. (2001). How cells die: apoptosis pathways. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 108(4), S99-S103.

Häcker, G. (2000). The morphology of apoptosis. *Cell and tissue research*, 301, 5-17.

Banfalvi, G. (2017). Methods to detect apoptotic cell death. *Apoptosis*, 22(2), 306-323.

Hongmei, Z. (2012). Extrinsic and intrinsic apoptosis signal pathway review. In *Apoptosis and medicine*. InTechOpen.

Suen, D. F., Norris, K. L., & Youle, R. J. (2008). Mitochondrial dynamics and apoptosis. *Genes & development*, 22(12), 1577-1590.

Kannan, K., & Jain, S. K. (2000). Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiology*, 7(3), 153-163.

BÖLÜM III

Erkek Üreme Sistemi

Nuray VAROL KAYAPUNAR¹

Testis

Erkek genital sistemi; sperm üreten ve androjenleri sentezleyip salgılayan skrotum içinde bulunan bir çift testislerden, testis içi ve dışı genital kanallar, yardımcı bezler ve penisden meydana gelir. Spermatozoanın dışarıya salınmasından sorumlu olan dış kanal sistemini meydana getiren tubuli rekti, rete testis, duktuli efferentes, duktus epididimis, duktus deferens ve duktus ejakulatoryustan oluşur. Seminal vezikül, prostat ve bulboüretral bezler de yardımcı üreme bezlerini oluşturur (Vardı, 2022). Testisler, karın boşluğunun dışında skrotumda içinde bulunan bir çift organdır. Burada testis sıcaklığı normal sıcaklığın 2-3°C daha düşüktür. Normal

¹ Veteriner Hekim, Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD, vetnkv@gmail.com

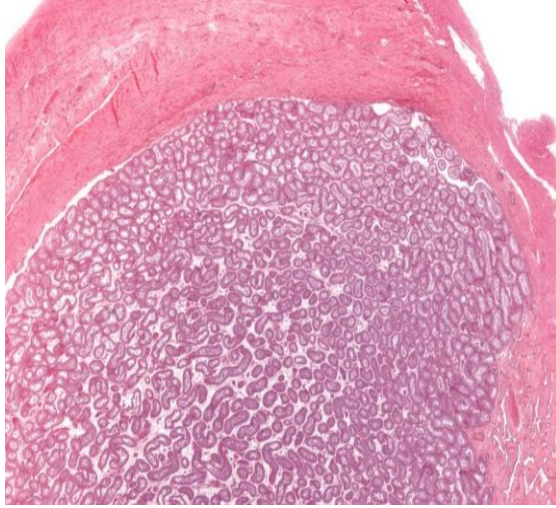
spermatogenez için 34-35°C sıcaklık gereklidir (Kierszenbaum& Tres, 2015).

Testisler, skrotum içinde 3 tabakalı katmandan oluşan bir kese içinde bulunur. Bu katmanlar dıştan içe doğru;

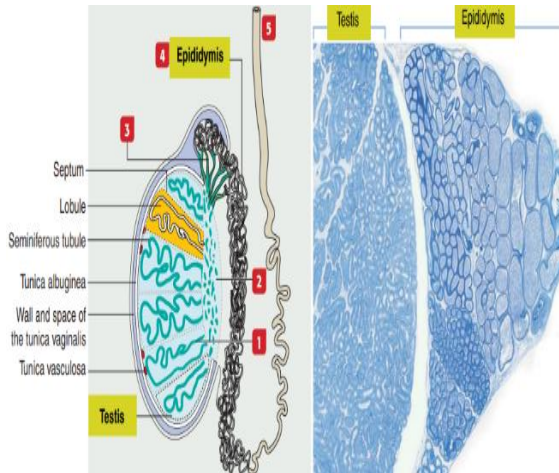
Tunika vaginalis, lamina parietalis ve lamina visceralis olmak üzere iki tabakadan oluşur. Bu tabakaların arasında kalan boşluğa tunika vaginalis denir.

Tunika albuginea, düzensiz fibröz bağdokusundan meydana gelen dayanıklı bir zardır. Çoğunlukla kolajen iplikler ile az miktarda elastik iplikler ve miyofibroblastlardan oluşur.

Tunika vasküloza, testis arterleriyle anastomoz yapan venalar, tunika albugineanın vasküler katmanını oluşturur. Tunika albuginea testis içine septula testis olarak girer ve bu septumlar dokuyu yaklaşık olarak 250 ile 300 adet lopçuğa-lobuli testise-böler. Her bir lopçuk bir ile dört seminifer tübül (tubulus seminiferus contortus) içermektedir (Gartner&James, 2001). Tübüllerin çevresi gevşek bağdokudan interstisyum ile sarılıdır. İnterstisyumda, kılcal kan damarları, sinirler, lenf damarları, fibroblastlar, mast hücreleri ve Leydig hücreleri bulunur. Seminifer tübüllerde erkek üreme hücresi olan spermatozoonların üretimi yapılırken interstisyumda bulunan Leydig hücrelerinden testosteron salınımı ile spermatogenezin devamlılığı sağlanır Erkoçak, 1982; Junqueira& Carneiro, 2009) (Şekil 1'de. *Histoloji guide*; <https://histologyguide.com/slideview/MH-178b-testis/19-slide-1.html>; Şekil 2'de. (Kierszenbaum&Tres, 2015).



Şekil 1. Erkek Üreme Sistemi, Testis Dokusu

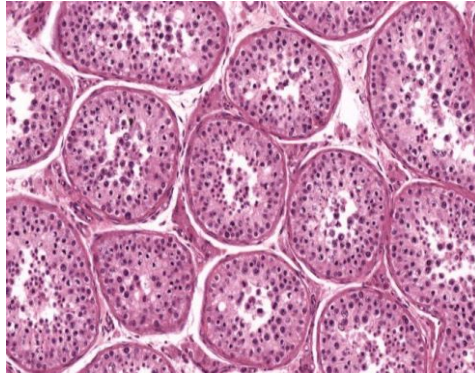


Şekil 2. Testis, epididimis ve vas deferens

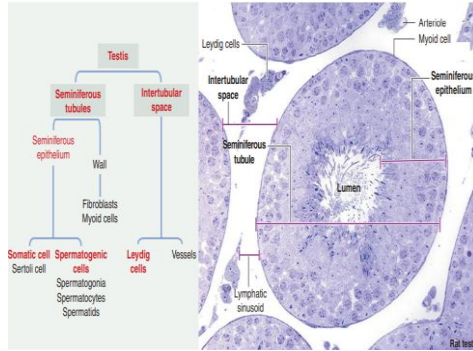
1. Tubulus rektus, 2. Rete testis, 3. Duktus efferentes, 4. Epididimis,
5. Vas deferens

Seminifer Tübül (Tubulus Seminiferus Contortus)

Her bir seminifer tübül; germinal tabaka ile çevrilidir ve buna ek olarak seminifer epitel bir bazal membran ile fibroblastlar, kasılabilir miyoid hücreleri kan ve lenf damarları, sinir hücrelerinden oluşan bir tabaka ile çevrelenmiştir. Seminifer tübül iki tip hücre popülasyonu içerir; çoğalan spermatogenik hücreler ile çoğalmayan sertoli hücreleri. Spermatogenik hücreler; spermatogonyumlar, spermatositler ve spermatidlerden meydana gelir (Herikson, Kaye&Mazurkiewicz, 1997) (Şekil 3’de. *Histoloji guide*, <https://histologyguide.com/slideview/MH-178a-testis/19-slide-1.html?x=38340&y=18330&z=18.2;> Şekil 4’de. *Kierszenbaum&Tres*, 2015).



Şekil 3. Erkek Üreme Sistemi, Testis Dokusu, Seminifer tübüller.



Şekil 4. Seminifer tübülün genel organizasyonu

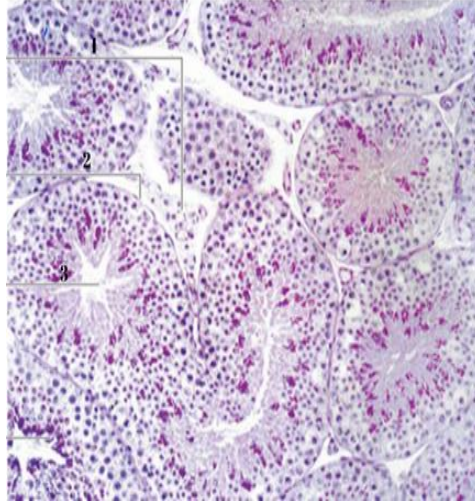
Leydig Hücreleri

Seminifer tübüllerin arasında- intertübüler alanda- bol miktarda bulunan gruplar oluşturan yuvarlak çekirdekli ve polimorf şekilli bu intersitisyel hücreler Leydig hücreleridir (O'Donnell & ark., 2001). Fötal dönemden itibaren testosteron salgılarlar (plasentadan sentezlenen gonadotropik hormon ya da LH etkisiyle). Puberte ile erkeklik hormonu olan testosteron ve az miktarda da östrojen salgılarlar. Ön hipofizin iki hormonu Leydig hücresinin işlevini düzenler:

1. Testosteron üretimini uyaran luteinize edici hormon LH.
2. Prolaktin, LH reseptörünün ekspresyonunu başlatır.

Testosteron, Sertoli hücrelerindeki androjen reseptörüne bağlanır ve spermatogenez, erkek libidoyu ve erkek aksesuar bezlerinin (prostat ve seminal vezikül) işlevini korur. Ayrıca protein anabolizması ve kemik büyümesinde etkili bir hormondur. İntrauterin dönemde erkek genital sistemin gelişiminde (doğumdan önce Wolf kanalının varlığını koruma ve onun duktus deferens ile

epididimise farklılaşması) rol oynar (Erkoçak, 1975) (Şekil 5’de. Kierszenbaum&Tres, 2015).



Şekil 5. Testisin genel histolojik yapısı

Resimde 1 ile numaralı bölge intertübüler alanda gruplaşmış leydig hücreleri. Leydig hücreleri kan damarları ve lenf kanallarıyla yakın temas halindedir. Leydig hücrelerinin başlıca ürünü testosterondur.

2 ile numaralandırılmış bölge; seminifer tübülün duvarı, bazal membranla seminifer epitelden ayrılmış peritübüler miyoid hücrelerden oluşur.

3 ile numaralı bölge; seminifer tübülün lümeni, gelişen spermatidlerin kuyruklarının serbest uçlarını gösterir. Sertoli hücrelerinden gelen sıvı ve salgı proteinleri de lümende bulunur.

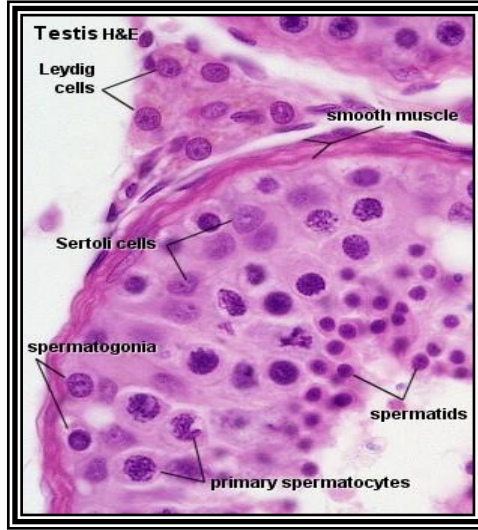
Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri puberteye kadar seminifer epiteldeki baskın hücrelerdir. Puberteden sonra seminifer epiteli döşeyen hücrelerin %10'nu meydana getirirler.

Geniş bir yüzey ile bazal membran üzerine oturan düzensiz sınırlı hücrelerdir. Düzensiz bir nükleusu, belirgin bir nükleolusu bulunur. Apikal sitoplazma püskül şeklindedir ve tübülün lümenine doğru uzar (Şekil 6'da.

https://microanatomy.net/Male_Reproductive/testis_and_ducts.htm

).



Şekil 6. Seminifer tübül üzerinde bulunan sertoli hücreleri

Sertoli hücrelerinin bazolateral bölümünde zonula okludens bağlantıları bulunur. Bu bağlantılar aynı zamanda kan testis bariyerine de katılır.

Kan testis bariyerini oluşturan yapılar:

Sertoli hücre bağlantıları seminifer epitelyumu bazal ve adluminal olarak iki kompartmana bölerler. Böylece bazal kompartmanda preleptoten evresinden adluminal kompartmana geçmiş olan spermatositleri otoimmün reaksiyondan korurlar (Stevens & Lowe, 2005).

Madde alışverişini sağlayan fizyolojik bir bariyer oluştururlar.

Sertoli hücreleri adenohipofizden salgılanan FSH ile uyarılırlar ve spermatogenezi başlatırlar. İnhibin hormonu salgılayarak da gonadotrop hormonlarının salgınlanmasını engellerler (Tirumalasetty & ark., 2024).

Sertoli hücreleri fruktozca zengin bir sıvı salgılayarak spermatogenetik hücreler için gerekli besin ve enerji kaynağını sağlarlar.

Androjen bağlayıcı protein (ABP) salgılayarak sertoli hücrelerinde androjeni bağlar ve epididimise kadar taşır. Bu da spermatogenezin devamlılığı için gerekli olan yüksek miktarda androjen depolanmasını sağlar.

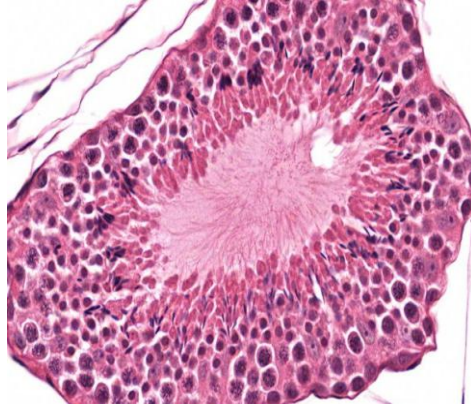
Anti müllerian hormon (MIF) salgılayarak embriyogenezis evresinde ovaryum gelişmesini engeller (Enders, Henson& Millette, 1986; Cheng& Dolores, 2002).

Spermatogenik Hücreler

Spermatogenez süreci puberte ile başlar ve diploid spermatogonyumlardan haploid spermatozoonların olduğu hücresel gelişim sürecidir. Bu gelişim testisin seminifer tübüllerinde sertoli hücrelerinin besinsel ve yapısal olarak desteğiyle endokrin fonksiyonların kontrolünde gerçekleşir.

Spermatogonyumlar, seminifer tübülün bazalinde bulunan spermatogonyum hücreleri A ve B tipinden oluşur ve diğer spermatogenik hücreler bunlardan köken alırlar. Erkek e ey hücresini meydana getirecek olan esas hücredir. A tipi spermatogonyumlar çoğalarak bir kısmı B tipi spermatogonyumlara dönüşür ve B tipi spermatogonyumlar da preleptoten ve leptoten spermatositlere farklılırlar. Bu arada hücreler pek çok kez mitoz bölünme geçirirler. Bu evreye goniyogenezis evrei denir. Bunların bir kısmı daima kaynak hücre kalarak spermatogenezin devamlılığını sa lar.

Bu olaylar lümenin bazal kompartmanında gerçekleşir (Kierszenbaum & Tres, 2015), ( ekil 7'de. *Histoloji guide*; <https://histologyguide.com/slideview/MH-178a-testis/19-slide-1.html?x=42216&y=19914&z=25.0>).

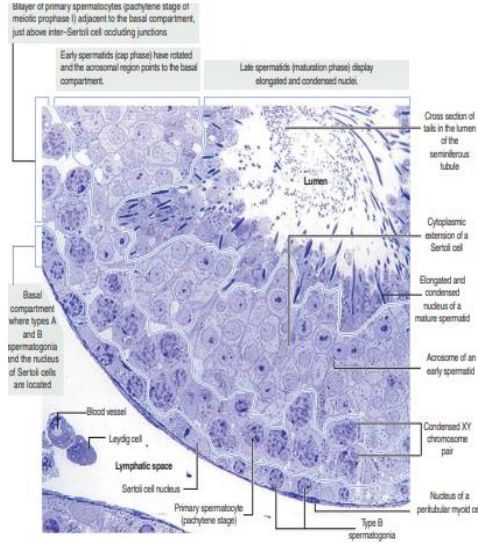


Şekil 7. Seminifer tübülün enine kesitinden alınan dokuda bulunan sertoli hücreleri ve gelişiminin farklı aşamalarında olan spermatogenik hücrelerin ışık mikroskop görüntüsü. Hücre dizilimi germinal epitel boyunca var olan ve apikal sitoplazması lümene kadar uzanan iri, ökromatik çekirdekli, belirgin nükleoluslu hücreler sertoli hücreleridir.

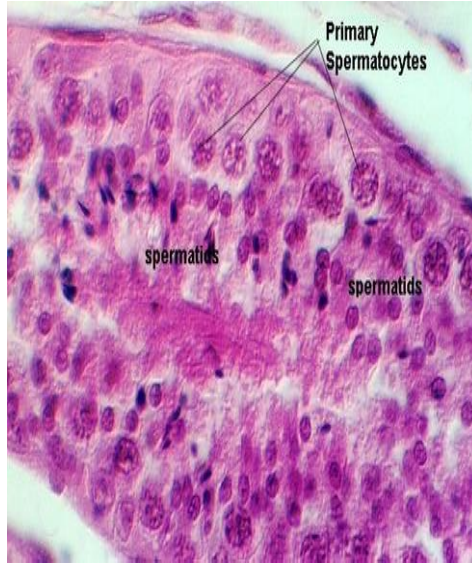
Spermatogonyumlar bazal laminaya yakın bulunan koyu renkli boyanan, küçük yuvarlak veya oval çekirdekli hücrelerdir. Mitoz bölünmeye uğrarlar ve içlerinden bazıları farklılaşarak primer spermatositleri oluştururlar.

Primer spermatositler, seminifer tübüldeki en iri hücrelerdir. Primer spermatositler I. mayoz bölünme ile sekonder spermatositleri, Sekonder spermatositler II. Mayoz bölünmelerini tamamladıktan sonra spermatidler oluşur. Bu evreye spermatositogenezis denir. Genç olanları yuvarlak şekillidir. Erişkin spermatidler lümene doğru ilerlerken şekilleri uzar. Bu aşamalar seminifer tübülün adluminal kompartmanında gerçekleşir. Spermatidler sertoli hücrelerinin yüzeyindeki derin çukurlara

yerleşir ve burada bireysel spermatozoonlara farklılıklar ve iletili yollara geçerler. Bölünmeler sonucu her bir primer spermatozitten 4 adet spermatid meydana gelir (Sinha Hikim&Swerdlhoff, 1999), (Şekil 8’de. Kierszenbaum&Tres, 2015; Şekil 9’da. https://microanatomy.net/Male_Reproductive/testis_and_ducts.htm).



Şekil 8. Seminifer epitel hücrelerinin tanımlanması



Şekil 9. Seminifer tübülde işaretli alanlarda bulunan primer spermatosit ve spermatid hücrelerinin ışık mikroskop görüntüsü. Primer spermatositler spermatogonyumlardan farklanır ve seminifer tübülün lümenine doğru yön alır.

Spermiyogenezis, spermatidlerin başkalaşma evresidir ve 4 aşamadan oluşur.

- 1. Golgi evresi:** Golgi'den akrozomal veziküllü oluşturmaya başlar.
- 2. Kep evresi:** Çekirdek yoğunlaşır, akrozomal vezikül çekirdeği şapka gibi örtmeye başlar. Sentriyoller kuyruğu oluşturur.
- 3. Akrozom evresi:** Akrozomal kep tam olarak şekillenir. Mitokondriler kuyruğun ön kısmına göç ederek orta parçayı oluşturular.

4. **Olgunlaşma evresi:** Arta kalan fazla sitoplazma sertoli hücreleri tarafından fagosit edilir (Fiorini&ark., 2004; Stevens&Lowe, 2005).

Akıtıcı Kanallar

Tubulus rektus (Tubuli Rekti)

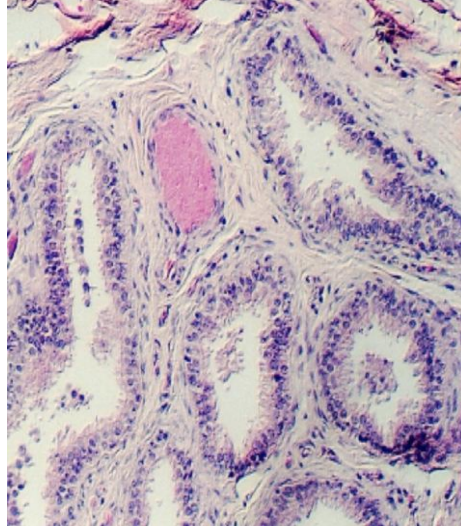
Seminifer tübüller kör bir uç ile başlayıp mediastinum testise yaklaşırken lopçuğun tepesinde düzleşerek kanalcıklar şeklinde devam eden **tubuli rekti** (tubulus seminiferi rectus) oluşur. Seminifer tübülleri rete testise bağlar. Spermatogenik hücreler kaybolur.

Rete testis

Mediastinum testis dokusu içinde tubuli rektiler birbiri ile anastomoz yaparak **rete testisleri** oluştururlar. Rete testis tek katlı yassı veya kübik epitelle örtülüdür (Ross, Kaye&Pawlina, 2006).

Duktus efferentes

Duvarları, silyumlu ve silyumsuz tek katlı yüksek prizmatik epitel ile döşelidir. Silyumlar, spermatozoonların duktus epididimise doğru hareket etmelerine yardımcı olurlar. Silyumsuz hücreler testis sıvısının bir kısmının emilmesinde görevlidir (Şekil 10'da. https://microanatomy.net/Male_Reproductive/testis_and_ducts.htm).



Şekil 10. Efferent kanalların ışık mikroskop görüntüsü

Epididimis

Ductus eferentislerin birleşmesiyle tek bir epididimal kanal halinde sarılı kompakt bir yapı oluşur. 3 bölümden meydana gelir;

Kaput epididimis, korpus epididimis ve kauda epididimis.

Testisi terk eden sıvının %90'nı, sertoli hücrelerinden salgılanan androjen bağlayıcı protein (ABP) ve inhibin de buradan emilir. Spermatozoonların olgunlaşma sürecinde ve spermatozoonların depo edildiği ana depo olarak görev yapar. Testisi terk eden spermatozoonlar hareketsiz ve infertil iken, epididimisten ayrılanlar hem hareketli hem de fertildirler. Lümenleri düzgün ve yalancı çok katlı prizmatik stereosilyumlu epitel ile kaplıdır. Çevresinde ileri doğru giderek artan sirküler seyirde düz kas katmanı bulunur (Pawlina, Ross & Kaye, 2016). (Şekil 11'de.

Jose

Calvo / Science

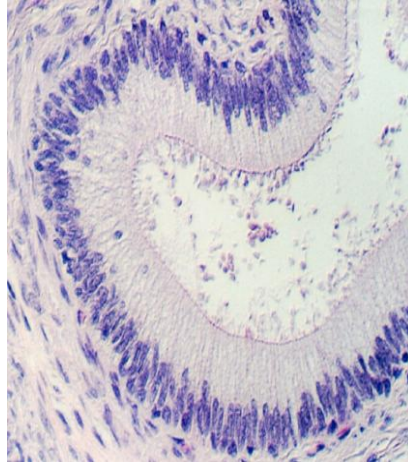
Photo

Library;

<https://www.sciencephoto.com/media/1153663/view>; Şekil 12’de.
https://microanatomy.net/Male_Reproductive/testis_and_ducts.htm
).



*Şekil 11. Epididimisten alınan bir kesitin ışık mikroskop görüntüsü.
Testisi vas deferense bağlayan ve spermlerin olgunlaştığı yerdir.*



*Şekil 12. Epididimisten alınan bir kesitin ışık mikroskop görüntüsü.
Kanalın lümenine ulaşan sterosilyalarla birlikte yüksek epitel ile
karakterizedir.*

Ductus deferens (Vaza deferens)

Tunika mukoza, tunika muskularis ve tunika seroza olmak üzere 3 katlı bir yapısı vardır. Tunika muskularis 3 katlı yapıdadır ve ejakülasyon sırasında spermatozoonların akışını hızlandıran güçlü peristaltik hareketler yapar. Epiteli yalancı çok katlı prizmatik stereosilyumludur. Stereosilyumlar kısadır ve ileriye doğru gittikçe kaybolurlar (Ovalle&Nahirney, 2009), (Şekil 13'de. Jose Calvo / Science photo Library; <https://www.sciencephoto.com/media/1320781/view/vas-deferens-light-micrograph>).



Şekil 13. Vas deferens, ışık mikroskop görüntüsü. İç mukozal tabakayı çevreleyen kalın bir kas katmanı bulunur. Vas deferens spermatik kordonda yer alır ve epididimisi üretrada bulunan ejakülatör kanala bağlar.

Eklenti Bezleri

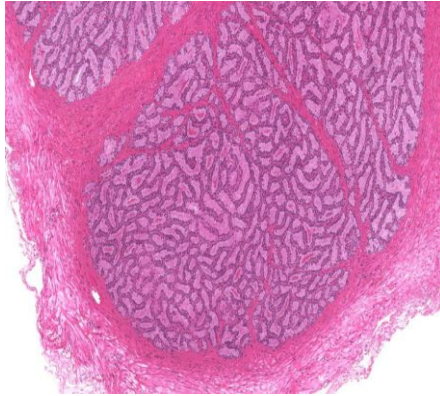
1. Veziküla seminalis
2. Prostat
3. Gl. Bulboüretalis- Cowper Bezi

Veziküla Seminalis

Duktus deferensin alt ucunda yer alan tubuler ya da tubulo-alveolar yapıda bir çift bezdir.

Bez epitelleri tek katlı prizmatiktir.

Bezin fruktozdan zengin salgısı spermatozoonlar için iyi bir enerji kaynağıdır (Eroschenko, 2001). (Şekil.14’de. *Histoloji guide*; <https://histologyguide.com/slideview/MHS-256-seminal-vesicle/19-slide-1.html?x=5959&y=18839&z=9.1&b=ax2x1x3x6712x10900x-1x1x3x8578x10308x-1>).



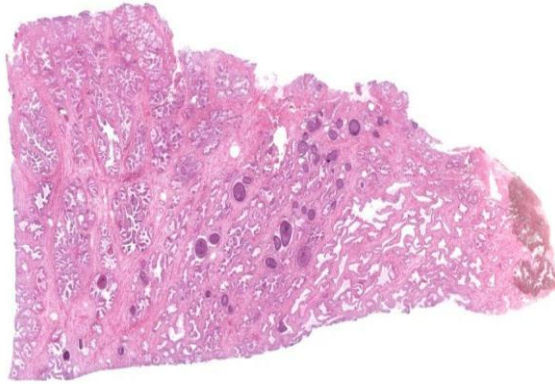
Şekil 14. Seminal vezikül ışık mikroskop görüntüsü. Seminal veziküller oldukça kıvrımlı ve duktus deferense boşalan bir çift bezdir.

Prostat

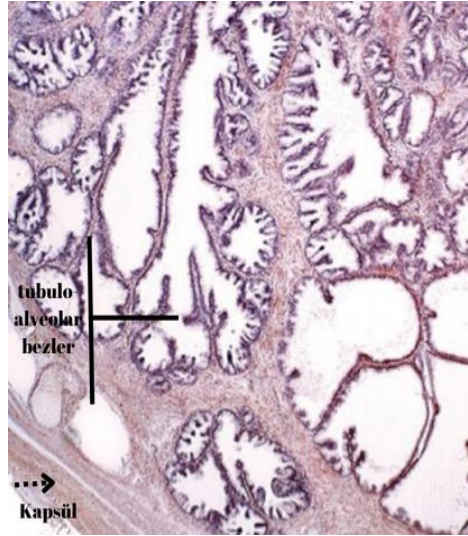
Pelvik üretra epitelinden köken almış değişik sayıdaki tubulo-alveolar prostatik bezlerden oluşmaktadır.

Tek katlı prizmatik epitle örtülüdür.

Alkali özellikte bir salgı üretir. Bu salgı; seminal plazmayı nötralize eder. Ejekülasyonla atılan spermatozoonların aktif hareketini başlatır (McNeal, 1988), (Şekil 15’de, *Histoloji guide*; <https://histologyguide.com/slideview/MH-183-prostate/19-slide-1.html>; Şekil 16’da, Kierszenbaum&Tres, 2015).



Şekil 15. Prostat dokusundan alınmış bir kesitin ışık mikroskop görüntüsü



Şekil 16. Prostat dokusundan alınmış bir kesitin ışık mikroskop görünütüsü (Kierszenbaum&Tres, 2015).

Gl. Bulboüretalis-Cowper Bezi

Üretranın pars pelvinasının son kısmında bulunan bir çift bezden meydana gelir. Birbirleri ile anastomozlaşan keseciklerin duvarı tek katlı yüksek prizmatik epitel ile örtülüdür. Farklı miktarlarda çizgili kas içeren fibroelastik yapıda bir kapsülle çevrilidir. Alkali özellikle müköz salgı üretir. Üretranın ortamını nötralize ederek üretrayı kayganlaştırır (Tanyolaç, 1993).

Ejekülat (Semen)

Semenin içeriği Spermatozoonlar, seminal plazma (Epididimis, Ductus deferens, Ejakülant bezlerinin salgıları), epitel döküntüleri, prostat taşları ile lipid ve proteinlerden oluşur (Coşgun&Aras, 1998).

Üretra

3 bölümden meydana gelir.

1. Prostatik üretra
2. Membranöz üretra
3. Spongiyöz üretra

Lamina epitelyalisi prostatik ve membranöz üretrada çok katlı değişken epitelli, spongiyöz üretrada çok katlı yassı epitel özelliği kazanır.

Lamina propriada mukus salgılayan Littre bezleri vardır. Bu bezler kopulasyonu (cinsel birleşme) kolaylaştıran bir salgı üretir. Bu sırada ejakülat, ejakülat kanalları vasıtasıyla üretraya boşaltılır.

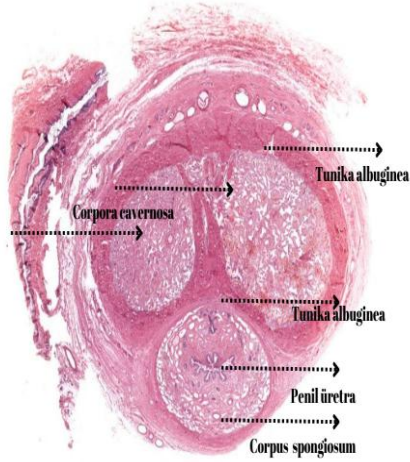
Tunika muskularis 2 katlıdır. İdrar kesesine yakın olan kısmını düz kaslar oluştururken, geri kalan kısmını iskelet kasları oluşturur.

Tunika adventisya muskularis katmanını çevreler ve bağ dokusuna karışır.

Penis

Dıştan prepisyum ile sarılıdır. Hemen altında sıkı bağ dokusu ile tutulan üç adet silindirik erektile doku parçası bulunur. Çift olan dorsal yapılar korpus kavernozumlarıdır. Korpus kavernozumların altında, ortada yerleşik bulunan tek erektile yapı ise korpus spongiyozumdur. Korpus spongiyozum ise penisin distal bölgesinde glans penis'i oluşturur. Erektile doku kısımları tunika albuginea çevrelemiştir. Tüm kavernozumlar gevşek bağ dokusu ve bağ dokunun etrafını da epidermin keratinize çok katlı yassı epiteli ve en dıştan dermin bağ dokusu ile çevrenir (Kierszenbaum&Tres, 2015),

(Şekil 17'de *Histoloji guide*'dan değiştirilerek alınmıştır (<https://histologyguide.com/slideview/MH-184-penis/19-slide-1.html>)).



Şekil 17. Penis dokusundan alınan bir kesitin ışık mikroskop görüntüsü

KAYNAKÇA

Cheng, C. Y., at Dolores, D. M., (2002), Cell Junction Dynamics in the Testis: Sertoli-Germ Cell Interactions and Male Contraceptive Development, *Physiol Rev*, 82: 825-874 p.

Coşgun A, Aras D, editörler. Anatomi-Histoloji-Embriyoloji. Nobel Tıp Kitabevi; 1998.

Enders, G. C., Henson, J. H., & Millette, C. F. (1986). Sertoli cell binding to isolated testicular basement membrane. *The Journal of cell biology*, 103(3), 1109–1119. <https://doi.org/10.1083/jcb.103.3.1109>.

Erkoçak, A., (1975), Genel Histoloji, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 4.Baskı.

Erkoçak, A., (1982). Özel Histoloji. 4. Baskı. Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Basımevi; 1982.

Eroschenko, V. P. (2001). Di Fiore Histoloji Atlası (9. Baskıdan Çeviri). *Ankara: Palme Yayıncılık*, 301-320.

Fiorini, C., Tilloy-Ellul, A., Chevalier, S., Charuel, C., & Pointis, G. (2004). Sertoli cell junctional proteins as early targets for different classes of reproductive toxicants. *Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 18(3), 413–421. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2004.01.002>.

Gardner LP, James LH. Color textbook of Histology, 2. edition. Editors: Gardner LP, James LH. Philadelphia, W.B Saunders Company, 2001;487-508.

Herikson, R. C., Kaye, G. L. and Mazurkiewicz, J. E., (1997). NMS Histology. 1. Baskı Philadelphia: WB: Lippincott Williams & Wilkins.

Histoloji, T. A. Ö. (1993). Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. *Sti. Ankara*, 130-141.

Junqueira, L.C. and Carneiro, J. (2009). Temel Histoloji, Text and Atlas. Çeviri Editörleri Prof. Dr. Seyhun Solakoğlu, Prof. Dr. Yener Aytekin Nobel Kitabevleri, ISBN:978-975-420-699-9. Eleventh Edition Mc Graw – Hill Companies. s. 418-433.

Kierszenbaum, A. L., & Tres, L. (2015). Histology and Cell Biology: *an introduction to pathology E-Book*. Elsevier Health Sciences.

McNeal J. E. (1988). Normal histology of the prostate. *The American journal of surgical pathology*, 12(8), 619–633. <https://doi.org/10.1097/00000478-198808000-00003>.

O'Donnell, L., Robertson, K. M., Jones, M. E., & Simpson, E. R. (2001). Estrogen and spermatogenesis. *Endocrine reviews*, 22(3), 289–318. <https://doi.org/10.1210/edrv.22.3.0431>.

Ovalle, W. K., Nahirney, P. C., Netter's Essential Histology. Müftüoğlu S., Kaymaz F., Atilla P (Çev). Ankara: Güneş Kitabevleri; 2009.

Pawlina, W., Ross, M. H., & Kaye, G. I. (2016). Histology: a text and atlas. *With Correlated Cell and Molecular Biology*, 7.

Ross, M. H., Kaye, I. G. and Pawlina, W., (2006). Histology A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology. 5. Baskı. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Sinha Hikim, A. P., & Swerdloff, R. S. (1999). Hormonal and genetic control of germ cell apoptosis in the testis. *Reviews of reproduction*, 4(1), 38–47. <https://doi.org/10.1530/ror.0.0040038>.

Stevens, A. at Lowe, J., (2005), Human Histology, Elsevier Mosby, 3rd Edition.

Tirumalasetty, M. B., Bhattacharya, I., Mohiuddin, M. S., Baki, V. B., & Choubey, M. (2024). Understanding testicular single cell transcriptional atlas: from developmental complications to male infertility. *Frontiers in endocrinology*, 15, 1394812. <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1394812>.

Vardı, N., (2022). Erkeklerde Genital Sistem Histolojisi. *Histoloji& Patoloji* (pp.451-473), Malatya: İnönü Üniversitesi.

BÖLÜM IV

Seminifer Tübül Epitelinde Yer Alan Tight Junction Bağlantı Kompleksi

İlknur ÜNDAĞ¹
Hasan Hüseyin DÖNMEZ²

Giriş

Erkek üreme sistemi, gametlerin sürekli üretilmesi, beslenmesi, geçici olarak depolanması, androjen sentezi ve salgılanmasından sorumludur. Bu sistemin birincil cinsiyet organı testislerdir. Kanatlılarda karın boşluğu içinde, memelilerde ise karın boşluğu dışında, skrotum adı verilen bir yapı içinde bulunurlar. Testisler, dıştan tunica albuginea olarak bilinen yoğun fibroelastik bağ dokudan oluşan bir kapsül ile çevrilidir. Bu kapsül, testisin arka yüzeyinde kalınlaşarak mediastinum testis olarak adlandırılan bir

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Konya/Türkiye, Orcid: 0000-0001-8495-3930, ilknur-undag@selcuk.edu.tr

² Prof. Dr., Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Konya/Türkiye, Orcid: 0000-0003-4664-8489, hdonmez@selcuk.edu.tr

yapı oluşturur. Bu yapı, testisin içine doğru uzanan çıkıntılarla testisi yaklaşık 250 adet piramit şeklindeki lobcuğa böler. Her bir lobcukta 1 ila 4 arasında seminifer tübül bulunur ve bu tübüller spermatogenez (sperm üretimi) sürecinin gerçekleştiği ana yapılardır. Seminifer tübüller somatik hücre olan sertoli hücreleri ve spermatojenik hücre olan germ hücrelerinden oluşan iki farklı hücre popülasyonuna sahip çok katlı yapıya sahiptir (Ergün, 2008).

Sertoli hücreleri germinal epitelde bazale yerleşmiş ve apikale doğru uzantısı olan piramit şeklindeki hücrelerdir. Hücre yüzeyleri girintili çıkıntılı şekilde olup bu bölgelere germ hücreleri yerleşmiştir. Sertoli hücreleri hem bir birleriyle hem de germ hücreleriyle çeşitli bağlantı kompleksleri aracılığıyla bağlantılı olup bu şekilde birbirleriyle ve germ hücreleri ile iletişim içinde yer almaktadırlar (Thumfart & Mansuy, 2023).

Seminifer Tübülde Yer Alan Hücreler Arası Bağlantı Kompleksleri

Bütün dokularda hücre-hücre ve hücre-matriks iletişim bölgelerinde özelleşmiş bağlantılar bulunur, hücreler bu şekilde birbirleriyle ve çevreleriyle iletişim içinde olurlar. Testis seminifer tübül epitelinde 2 tip hücreler arası bağlantı bulunur bunlar sertoli-sertoli hücre bağlantısı ve sertoli-germ hücre bağlantısıdır (Inagaki ve ark., 2006). Bu bölgelerde de 3 tip bağlantı kompleksi bulunur. Bunlar; Occluding junction (tight junction), Anchoring junction (adherens junction) ve Gap junction'lardır (Cheng & Mruk, 2002; Gerber, Heinrich, & Brehm, 2016).

Adherens bağlantılar kendi içinde 4'e ayrılmaktadır bunlar;

1. Hücre-hücre aktin temelli adherens bağlantılar

2. Hücre-matriks aktin temelli noktasal bağlantılar
3. Hücre-hücre ara filaman temelli desmozomlar
4. Hücre matriks ara filaman temelli hemidesmozomlardır.

Ektoplazmik özelleşmeler ve tubulobulbar kompleks gibi bağlantı bölgelerinde aktin filamentleri (filamanları) ile ilişkili olan adherens bağlantıların yapısal modifikasyonları testise özgüdür (Cheng & Mruk, 2002). Sertoli hücreleri arasındaki bağlantı kompleksleri hem sıkı bağlantıları (tight junction) hem de adherens bağlantıları içerir (Tsukita & Furuse, 2002; Tsukita, Furuse, & Itoh, 2001).

Genellikle farklı epitellerde, hücresel bağlantıların göreceli konumları benzerdir. Hücrenin apikal kısmında tight junctionlar bulunur, bunları sırasıyla adherens junctionlar ve desmosomlar takip eder. Bu bağlantı komplekslerinin yanı sıra, gap junctionlar ve tight junctionlar, adherens junctionlar ile sıkı bir düzende organize edilmez ve epitel hücresinde ekstrasellüler matriks ile bağlantılı olarak dağınık şekilde yerleşebilir. Bu bağlamda, tight junctionlar genellikle ekstrasellüler matriksten uzakta konumlanır. Ancak, testiste durum biraz farklıdır. Testisin seminifer epitelinde, tight junctionlar, Sertoli hücreleri arasında yer alır ve bu bağlantılar hücrelerin bazal kompartmanında konumlanır. Bu özel yerleşim, kan-testis bariyerinin oluşumunda kritik bir rol oynar ve spermatogenez sürecini destekler (Cheng & Mruk, 2002; Lui, Mruk, Lee, & Cheng, 2003).

Okludin (Tight Junction) Bağlantıları

Germinal epitelde bilinen tek okludin bağlantısı tight junctionlardır. Tight junctionlar ilk kez 1960'ların başında Farquhar ve Palade tarafından tanımlanmıştır (Farquhar & Palade, 1963). Tight junction bağlantısı epitel ve endotelde hücreler arası bağlantıyı sağlayan multiprotein bir kompleksdir (Cummins, 2012). Seminifer tübülde sadece sertoli hücreleri arasında yer alan bu sıkı bağlantılar sitoplazmada fibrillerle bağlantılı olarak komşu Sertoli hücrelerinin plazma membranları arasında tamamen kapalı bir bağlantı bölgesi oluşturur (Mruk & Cheng, 2004).

Tight junctionların üç fonksiyonu vardır. İlki parasellüler yol boyunca solüsyonların difüzyonunu kısıtlamak için tight junctionlar tarafından oluşturulan kompartizasyondur. Bu bağlantılar germinal epiteli lümene bakan apikal kısım ile bazal membrana bakan bazal kısım olarak iki kısma ayırır. Bazal kompartman, spermatogonyalar ile preleptoten ve leptoten evresindeki spermatositleri içerirken, adluminal (apikal) kompartman ise gelişimin farklı aşamalarındaki spermatositler ve spermatidleri barındırır. İkincisi protein ve lipit kompozisyonu farklı olan hücrenin bazolateral ve apikal bölümleri arasında sınır çizgisi yaratır. Bu çizgi epitelyal ve endotelyal hücre polaritesi yaratır ve sürdürür. Tight junctionların üçüncü fonksiyonu ise kan-testis bariyeri oluşturmastır. Sertoli hücreleri arasındaki bağlantı kompleksleri, kan damarları ile seminifer tübül lümeni arasında geçirgenliği sınırlandıran koruyucu bir bariyer oluşturur. Kan-testis bariyeri olarak adlandırılan bu bariyer germ hücrelerini sistemik sirkülasyondaki belirli antijenlerden ayrı tutarak immünolojik bir bariyer oluşturur. Bu bariyer sayesinde germ hücreleri korunmuş bir ortamda yer alır (Hou ve ark., 2012). Kan-

testis bariyerinin temelini tight junctionlar oluşturmasına rağmen adherens bağlantılar da bu bariyerin oluşmasına destek verir (Inagaki ve ark., 2006). Kan-testis bariyerinin oluşumu, ergenlik döneminde spermatogenez sürecinin ilk dalgasıyla birlikte başlar. Bu sürecin, Sertoli hücrelerinin çoğalmasının sona ermesi ve işlevsel olgunluğa ulaşmasıyla eř zamanlı gerçekleştiği d ş n lmektedir. (Cheng & Mruk, 2002; Gerber ve ark., 2016). Testiste bulunan tight junctionlar diğer epitellerde bulunan tight junction'lerden birkaç yolla farklıdır;

1. Testiste bulunan tight junction'lar puberteye kadar oluşmaz.
2. Testiste yer alan tight junction kompleksinin mimarisi ve lokalizasyonu eşsizdir.

3. Kan-testis bariyeri preleptoten ve leptoten spermatositlerin bazal kompartmandan adluminal kompartmana geçişine izin vermek için açılıp kapanabilen doğal bir dinamiğe sahiptir (Cheng & Mruk, 2002; Morrow, Mruk, Cheng, & Hess, 2010). Spermatogenesiz boyunca tight junction'larının açılıp kapanması ile ilgili literatürde 3 teori bulunur.

1. Fermuar Teorisi: Preleptoten ve leptoten spermatositlerin bazal bölgeden adluminal bölgeye geçişi sırasında, tight junction bölgeleri fermuar benzeri bir mekanizma ile açılıp kapanır. Bu süreç, kan-testis bariyerinin bütünlüğünü bozmadan korumasını ve işlevine devam etmesini sağlar. (Cheng & Mruk, 2002).

2. Hücreler arası kompartman teorisi: Russel tarafından önerilen bu teoriye göre sertoli hücrelerini bir birine bağlayan tight junctionlar arasında geçici kompartmanın varlığı söz konusudur. Germ hücrelerinin bazal bölgeden adluminal bölgeye geçişi sırasında önce bu kompartmana geçmekte daha sonra adluminal

bölgeye geçmektedir. Bu geçiş sırasında kan-testis bariyerinin yapısı bozulmaz (Cheng & Mruk, 2002; Russell, 1977).

3) Stres teorisi: Pelletier ve Byers tarafından önerilen teoriye göre germ hücreleri spermatogenezis sırasında adluminal bölgeye göçü sırasında tight junction üzerinde bir stres yaratır ve bunun sonucunda bu bölgede fibril kompozisyonunda bozulma, oryantasyonda değişim ve bağlantı proliferasyonu ortaya çıkmaktadır (Cheng & Mruk, 2002; Pelletier & Byers, 1992).

Tight Junction İntegral Membran Proteinleri

Şimdiye kadar tight junction kompleksinin moleküler yapısı büyük ölçüde aydınlatılmıştır ve 100 den fazla protein tanımlanmıştır bu proteinler arasında yer alan integral membran proteinleri okludinler, klaudinler, junctional adhesion molekülleri (JAM) ve trisellulindir (Heiskala, Peterson, & Yang, 2001; Ikenouchi ve ark., 2005; Mruk & Cheng, 2010). Okludin, klaudin ve trisellulin integral membran proteinleri 4 transmembran bölge içerirken JAM tek bir trans membran bölge içerir (Steed, Balda, & Matter, 2010).

1. Okludin

Furuse ve arkadaşları tarafından ilk kez 1993 yılında kanatlı dokusunda keşfedilen okludinler yaklaşık 60-65 kDa ağırlığında tek polipeptid zincirinden oluşan kalsiyum bağımsız hücrelerarası adezyon molekülüdür (Cummins, 2012; Mikio Furuse ve ark., 1993). Daha sonraki bir çalışmada, kanatlılardaki okludin proteininin, memelilerdeki okludin proteiniyle %90 oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. (Ando-Akatsuka ve ark., 1996). Her bir okludin molekülü, 4 transmembran bölge, 2

ekstrasellüler döngü, 1 intrasellüler döngü, küçük bir NH_2 sitozolik bölge ve büyük bir COOH^- sitozolik bölge olmak üzere beş ana yapıdan oluşur (Cheng & Mruk, 2002; Morrow ve ark., 2010; Mruk & Cheng, 2004). Bu yapılar arasında, ilk ekstrasellüler döngü özellikle tirozin ve glisin açısından zengin olup, farklı memeli türleri arasında yüksek derecede korunmuş bir yapıya sahiptir. Okludinin COOH^- sitozolik bölgesi, Zonula okludens-1 (ZO-1) proteini ile 1:1 oranında bağlantı kurar. Okludinin ikinci ekstrasellüler lobu, tight junction fonksiyonunun sürdürülmesinde kritik bir rol oynar. Ancak, okludinin tek başına tight junction bariyer fonksiyonunu tam olarak yerine getiremediği düşünülmektedir. Bu bağlamda, yapılan çalışmalar, okludin ve klaudin proteinlerinin birlikte çalışarak tight junctionların işlevini sürdürebileceğini göstermiştir (Heiskala ve ark., 2001; Saitou ve ark., 2000). Farede okludinler Sertoli hücrelerinin kan-testis bariyerinin bulunduğu bölgesinde yer alır ve maturasyonla yoğunluğu artar. Sıçan Sertoli hücrelerinde de benzer bulgular gösterilmesine rağmen, insan ve kobay Sertoli hücresinde okludinin bulunmadığı bildirilmiştir (Feldman, Mullin, & Ryan, 2005; Moroi ve ark., 1998). Testis sıkı bağlantı bölgesinde yer alan okludin izoformları türe özgüdür. Okludin sertoli hücreleri arası bağlantı bölgesinde membransel olarak ve sertoli hücrelerinin sitoplazmalarında çok kuvvetli immunreaktivite gösterir. Yapılan çalışmalarda bazolateral membranda sıkı bağlantı fibrilleri halinde düzenlenmiş küçük bir okludin havuzunun bulunduğu gösterilmiştir. Bu okludin havuzunun sıkı bağlantıların hızlı değişimi için molekül rezervi olarak işe yaradığı düşünülmüştür (Feldman ve ark., 2005; Pelletier, Okawara, Vitale, & Anderson, 1997; Siu & Cheng, 2004). Okludin nakavt farelerle yapılan çalışmalarda, 6 haftalık fare

testisinin normal morfolojik yapıya sahip olduğu görülürken 40-60 haftalık fare testislerinde seminifer tübüllerin atrofiye uğradığı ve sertoli-cell only sendromu fenotipine sahip oldukları gözlenmiştir. Buna rağmen genç farelerin steril olduğu ve normal spermatogeneze sahip olduğu görülmüştür (Morrow ve ark., 2010; Saitou ve ark., 2000).

2. Klaudin

Furuse ve arkadaşları tarafından ilk kez 1998 yılında bulunmuş olan klaudin yaklaşık 24-34 kDa ağırlığında olan tight junction integral membran proteindir (Mikio Furuse, Fujita, Hiiragi, Fujimoto, & Tsukita, 1998; Mikio Furuse, Sasaki, Fujimoto, & Tsukita, 1998; Günzel & Alan, 2013; Morrow ve ark., 2010). Her bir klaudin molekülü bir kısa NH₂ terminal sitoplazmik kısım, iki ekstrasellüler kısım, dört transmembran kısım ve bir uzun COOH terminal sitoplazmik kısımdan oluşur. Klaudinler okludinlerle benzer moleküler topolojiyi paylaşmasına rağmen sitoplazmik kısımları ve ikinci ekstrasellüler kısmı önemli derecede daha küçüktür. Farklı epitellerde 24 farklı klaudin molekülü tanımlanmıştır (Morrow ve ark., 2010; Mruk & Cheng, 2004; Van Itallie & Anderson, 2006). Testiste varlığı gösterilen 7 farklı klaudin bulunur, bunlar klaudin 1, 3, 4, 5, 7, 8 ve 11'dir. Bunlardan klaudin 3, 5 ve 11 kan-testis bariyer bütünlüğüne katkı sağlamaktadır (Toyama, Suzuki-Toyota, Maekawa, Ito, & Toshimori, 2008). Klaudinlerin ekspresyonu kan-testis bariyerinin oluşumuyla aynı zamana denk gelir, bu süre fareden doğumdan sonraki yaklaşık 6-16. günlerdir. Tight junction bağlantısının formasyonu için en önemli protein klaudindir (Morrow ve ark., 2010). Klaudin-11 nakavt farelerle yapılan çalışmalarda normal bir spermatogenez süreci için

hayati olan kan-testis bariyerinin bütünlüğünde önemli rol oynadığı ve çalışmadaki farelerin kısır olduğu gösterilmiştir (Cheng & Mruk, 2002; Mruk & Cheng, 2004).

3. Junctional Adhesion Molekülleri

İmmünoglobülin süper ailesinin üyesi olan JAM epitelyal ve endotelyal hücrelerde bulunur (Balda & Matter, 2000; Cheng & Mruk, 2002). Farklı dokularda JAM'lar 36 kDa'dan 41 kDa'na kadar değişen molekül ağırlıklarına sahiptir. JAM'ın üç klasik (JAM-A, B, C) ve dört ilgili protein (JAM-4, JAM-L, CAR, ESAM) olmak üzere toplam 7 üyesi bulunmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda JAM A, B, C sırasıyla JAM 1, 2, 3 olarak isimlendirilmiş fakat daha sonra isimleri değiştirilmiştir (Muller, 2003). JAM-A ve JAM-B Sertoli hücresinde eksprese edilirken JAM C spermatidlerde, eksprese edilir. Sertoli hücresinde kan-testis bariyeri bölgesinde JAM-A yer alır. JAM-B Sertoli hücresinde ektoplazmik özelleşmelerde bulunur. Spermatidlerde eksprese edilen JAM-C sertoli hücrelerinin ektoplazik özelleşme bölgelerinde bulunur. Seminifer tübülden spermatozoonların salınımı ve spermatositlerin kan-testis bariyerinden geçişi JAM-B ekspresyonu ile düzenlenir (Zhang & Lui, 2015). Yapılan çalışmalarla JAM'ın okludin, ZO-1 ve cingulin ile kolokelize olduğu gösterilmiştir. Okludinlerin ve klaudinlerin aksine JAM farklı topografik yapı gösterir. Her bir JAM bir intrasellüler kısım, bir transmembran kısım ve bir ekstrasellüler kısımdan oluşur. Ekstrasellüler kısım iki zincir arası disülfid bağları ile iki V şekilli immünoglobülin benzeri halkadan oluşur. JAM'ın COOH (karboksil) ucu ZO-1'in PDZ3 kısmı ile bağlantılıdır (Mruk & Cheng, 2004).

4. Trisellulin

Trisellulin ilk kez Ikenouchi ve arkadaşları tarafından 2005 yılında keşfedilmiştir. Trisellulin iki veya üç hücrenin kesiştiği noktalarda dikey olarak bulunan tight junction integral membran proteinidir. Yapısal olarak 4 transmembran bölge içeren trisellulinin epitelyal bariyer için önemli olduğu, ekspresyonunun engellenmesi durumunda epitelyal bariyerin tehlikeye girdiği ve tight junctionların düzensizleştiği gösterilmiştir (Ikenouchi ve ark., 2005). Testis, böbrek, beyin, ince bağırsak gibi birçok organda bulunan trisellulin testiste özellikle bazal kompartmanda ve spermatozoonların bulunduğu bölgede gösterilmiş, ayrıca testesteron kaybı ile trisellulin seviyesinde azalma olduğu da bildirilmiştir (Mruk & Cheng, 2015).

Periferal Proteinler

Tight junction integral membran proteinlerini hücre iskeletine bağlayan periferal membran proteinlerinden en iyi bilineni zonula okludenstir. Bunun dışında cingulin ve symplekin de periferal membran proteinleri arasındadır (Mruk & Cheng, 2004).

1. Zonula Okludens

Zonula okludens (ZO), Membran-İlişkili Guanilat Kinaz (MAGUK) homolog protein ailesinin bir üyesidir. Bu ailede, ZO-1, ZO-2 ve ZO-3 olmak üzere üç farklı zonula okludens tipi bulunur. Bu proteinler, hücre çoğalması ve farklılaşmasını düzenleme, membran organizasyonunu kontrol etme, sinyal iletim yollarını yönetme ve hücre kutuplaşmasını sağlama gibi önemli biyolojik süreçlerde görev alırlar.

Bu protein ailesinin her üyesinin moleküler yapısında, protein-protein etkileşimleri açısından kritik öneme sahip üç temel alan bulunur:

Guanilat kinaz (GK) alanı: Mayalardan evrimleşmiş bir enzim bölgesidir.

Src-homoloji-3 (SH3) alanı: Aktin ile etkileşimde bulunabilir. Bu durum, MAGUK homolog ailesine bağlı membran proteinleri ile hücre iskeletinin bir parçası olan aktin arasında bir ilişki olduğunu gösterir.

Postsynaptic Density-95/Discs-large/ZO-1 (PDZ) alanı: Bu alanlar, multiprotein komplekslerinin oluşumunu düzenler, sıkı bağlantı proteinlerini bir araya getirir ve sinyal moleküllerini aktive eder.

PDZ alanına sahip proteinler, sıkı bağlantı (tight junction) bölgelerinde yer alan çoklu protein komplekslerinin oluşumunda görev alırken, PDZ alanına sahip olmayan proteinler, bu bölgelerde PDZ alanı bulunan proteinler tarafından kontrol edilir veya doğrudan sıkı bağlantı membran proteinleri ile etkileşime girer. MAGUK protein ailesinin bir diğer önemli alanı olan SH3 alanı, aktin filamanlarıyla doğrudan etkileşim kurabilir. Bu özellik, MAGUK proteinleri ile hücre iskelet sistemi arasında bir bağlantı olduğunu ortaya koyar. Bu etkileşim, hücre yapısının stabilizasyonunda ve sıkı bağlantıların işlevselliğinin sürdürülmesinde kilit bir rol oynar. (Cheng & Mruk, 2002; Mruk & Cheng, 2004).

Zonula okludens proteinleri tight junction dışında adherens junction ve gap junction bağlantı kompleksleriyle de iletişim içindedirler. Zonula okludens proteinlerinin adherens junction

proteinlerinden kaderin ile olan bağlantısı alfa-katenin aracılığı ile sağlanırken nektin proteini ile olan bağlantı afadin aracılığı ile sağlanır. Gap junction ile olan bağlantı direk konneksin proteini ile gerçekleşir. Ayrıca zonula okludens proteinleri okludin, kladin, JAM, trisellulin gibi tight junction proteinleri ile de direk bağlantılıdır (Bauer, Zweimueller-Mayer, Steinbacher, Lametschwandtner, & Bauer, 2010).

Tanımlanan ilk zonula okludens proteini ZO-1'dir. 225 kDa ağırlığında, polipeptit yapıdaki ZO-1, 160 kDa ağırlığında olan ZO-2 ve 130 kDa ağırlığında olan ZO-3 ile PDZ bölgesi aracılığı ile bağlantı kurar. Bütün zonula okludens proteinleri aktin filamanları ile direk olarak bağlantılıdır. Testiste ZO-1 ve ZO-2'nin varlığı gösterilmiş fakat ZO-3'ün varlığı gösterilememiştir (Mruk & Cheng, 2004). Testiste ZO-1 sadece tight junction bağlantı bölgelerinde gözlenmez aynı zamanda apikal ektoplazmik özelleşme bölgelerinde de bulunur. Sertoli hücreleri tarafından sentezlenen ZO-1 germ hücreleri tarafından sentezlenmez (Mruk & Cheng, 2015; Su, Kopera-Sobota, Bilinska, Cheng, & Mruk, 2013). ZO-1'in ekspresyonu, fare ve sıçan testislerinde 7-14 günlük dönemde başlar ve bu süreç, doğumdan sonraki 13-15. günlerde kan-testis bariyerinin oluşumuna denk gelir. ZO-1'in bilinen iki ana izoformu bulunmaktadır: α^+ ve α^- izoformları. Bu izoformlar, tight junctionların oluşumu, sürdürülmesi ve düzenlenmesinde kilit rol oynar. Her iki izoform da testislerde, hem ergenlik hem de erişkinlik dönemlerinde yoğun olarak eksprese edilir (Willott ve ark., 1992). ZO-1, tight junctionların membran altı hücre iskeleti ile integral membran bileşenleri arasında bir mekanokimyasal bağlantı oluşturur. Bu bağlantı, hücre yapısının stabilizasyonunu ve hücreler

arası iletişimi destekler. ZO-1'in PDZ bölgesi, klaudin ve okludin proteinlerinin C-terminal (COOH) uçlarına 1:1 oranında baēlanır. Bu baēlanma, tight junctionların stabilizasyonunda ve hücresel bütünlüğün korunmasında önemli bir rol oynar (Mruk & Cheng, 2004).

2. Cingulin

Cingulin, tight junctionların sitoplazmik kısmında bulunan, 140 kDa ve 108 kDa moleküler aēırlıklarına sahip iki farklı yapıda bulunan bir fosfoproteindir (Citi, Sabanay, Kendrick-Jones, & Geiger, 1989). Cingulin, testisteki tight junction bölgelerinde yer alan bir proteindir. Bu bölgede ZO-1'e göre daha uzakta konumlanmasına rağmen, seçici bariyerin sürdürölmesi için hayati bir rol oynar. Cingulin, miyozin ve paramiyozin gibi diēer hücre iskeleti proteinleriyle yüksek düzeyde yapısal benzerlik gösterir ve bu sayede hücresel iskelet ile sıkı baēlantılar arasında bir baē oluşturur. Cingulin, diēer tight junction proteinleri ile de etkileşim halindedir. Özellikle, ZO-1, ZO-2, ZO-3, AF-6, miyozin ve okludin gibi proteinlerle doğrudan ilişki kurar. Rat ve fare testislerinde, cingulinin, kan-testis bariyeri yakınında, bazal bölgede ZO-1 ile aynı konumda bulunduēu gözlemlenmiştir. Bu proteinin, sadece Sertoli-Sertoli hücre baēlantılarında deēil, aynı zamanda Sertoli-spermatid hücre baēlantılarında da yer aldıēı tespit edilmiştir. Bu etkileşimler, kan-testis bariyerinin korunması ve spermatogenez sürecinin düzenlenmesi aēısından kritik öneme sahiptir. (Mruk & Cheng, 2004).

3. Symplekin

Symplekin, 126,5 kDa moleküler ağırlığa sahip bir protein olup, epitelyal hücrelerde tight junctionların bulunduğu bölgelerde yer alır. Yapılan immünohistokimya ve immüngold elektron mikroskopi çalışmaları, Sertoli hücrelerinde symplekin varlığını ortaya koymuştur. Ancak, damar endotel hücrelerinde symplekinin varlığı gözlemlenmemiştir (Keon, Schäfer, Kuhn, Grund, & Franke, 1996). Symplekin proteini, tight junction bağlantı bölgelerindeki lokalizasyonunun yanı sıra, hücrelerin çekirdek plazmasında da yaygın olarak bulunur (Mruk & Cheng, 2004). Symplekin dört ayırıcı alana sahiptir: N-terminal Ssu72 bağlanma alanı (NTD), Cstf-64 bağlanma bölgesi, CPSF-73 bağlanma bölgesi ve C-terminal bölgesi. Bu alanlar, symplekinin farklı proteinlerle etkileşim kurmasını ve işlevsel olarak görevlerini yerine getirmesini sağlar (Keon ve ark., 1996).

Sonuç

Seminifer tübül epitelinde tight junctionlar sertoli hücreleri arasında yer alır. Bu bağlantı kompleksi seminifer tübül epitelinde diğer epitel türlerinden farklı olarak apitelin üçte birlik bazale yakın bölgesinde yerleşim gösterir. Tight junction bağlantı kompleksi bu bölgede kan-testis bariyerini oluşturur. Kan-testis bariyeri immünolojik ve biyokimyasal mikro ortam oluşturarak infertiliteyi önler. Seminifer tübül epitelinde bulunan tight junction yapısının detaylı şekilde öğrenilmesi özellikle kan-testis bariyerinin bütünlüğünün değerlendirilmesine katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

Ando-Akatsuka, Y., Saitou, M., Hirase, T., Kishi, M., Sakakibara, A., Itoh, M., . . . Tsukita, S. (1996). Interspecies diversity of the occludin sequence: cDNA cloning of human, mouse, dog, and rat-kangaroo homologues. *The Journal of cell biology*, 133(1), 43-47.

Balda, M. S., & Matter, K. (2000). *Transmembrane proteins of tight junctions*. Paper presented at the Seminars in cell & developmental biology.

Bauer, H., Zweimueller-Mayer, J., Steinbacher, P., Lametschwandtner, A., & Bauer, H. (2010). The dual role of zonula occludens (ZO) proteins. *BioMed Research International*, 2010.

Cheng, C. Y., & Mruk, D. D. (2002). Cell junction dynamics in the testis: Sertoli-germ cell interactions and male contraceptive development. *Physiological reviews*, 82(4), 825-874.

Citi, S., Sabanay, H., Kendrick-Jones, J., & Geiger, B. (1989). Cingulin: characterization and localization. *Journal of Cell Science*, 93(1), 107-122.

Cummins, P. M. (2012). Occludin: one protein, many forms. *Molecular and cellular biology*, 32(2), 242-250.

Ergün, L. (2008). Erkek genital sistem. *Özer A. Ankara: Nobel Yayın*, 251-268.

Farquhar, M. G., & Palade, G. E. (1963). Junctional complexes in various epithelia. *The Journal of cell biology*, 17(2), 375-412.

Feldman, G. J., Mullin, J. M., & Ryan, M. P. (2005). Occludin: structure, function and regulation. *Advanced drug delivery reviews*, 57(6), 883-917.

Furuse, M., Fujita, K., Hiiragi, T., Fujimoto, K., & Tsukita, S. (1998). Claudin-1 and-2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *The Journal of cell biology*, 141(7), 1539-1550.

Furuse, M., Hirase, T., Itoh, M., Nagafuchi, A., Yonemura, S., Tsukita, S., & Tsukita, S. (1993). Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J Cell Biol*, 123(6 Pt 2), 1777-1788.

Furuse, M., Sasaki, H., Fujimoto, K., & Tsukita, S. (1998). A single gene product, claudin-1 or-2, reconstitutes tight junction strands and recruits occludin in fibroblasts. *The Journal of cell biology*, 143(2), 391-401.

Gerber, J., Heinrich, J., & Brehm, R. (2016). Blood–testis barrier and Sertoli cell function: lessons from SCCx43KO mice. *Reproduction*, 151(2), R15-R27.

Günzel, D., & Alan, S. (2013). Claudins and the modulation of tight junction permeability. *Physiological reviews*, 93(2), 525-569.

Heiskala, M., Peterson, P. A., & Yang, Y. (2001). The roles of claudin superfamily proteins in paracellular transport. *Traffic*, 2(2), 92-98.

Hou, W.-G., Zhao, J., Li, Z., Li, W., Li, T., Xiong, L.-Z., & Zhang, Y.-Q. (2012). Effects of electromagnetic pulse irradiation on

the mouse blood-testicle barrier. *Urology*, 80(1), 225. e221-225. e226.

Ikenouchi, J., Furuse, M., Furuse, K., Sasaki, H., Tsukita, S., & Tsukita, S. (2005). Tricellulin constitutes a novel barrier at tricellular contacts of epithelial cells. *The Journal of cell biology*, 171(6), 939-945.

Inagaki, M., Irie, K., Ishizaki, H., Tanaka-Okamoto, M., Miyoshi, J., & Takai, Y. (2006). Role of cell adhesion molecule nectin-3 in spermatid development. *Genes to Cells*, 11(9), 1125-1132.

Keon, B. H., Schäfer, S., Kuhn, C., Grund, C., & Franke, W. W. (1996). Symplekin, a novel type of tight junction plaque protein. *The Journal of cell biology*, 134(4), 1003-1018.

Lui, W.-Y., Mruk, D., Lee, W. M., & Cheng, C. Y. (2003). Sertoli Cell Tight Junction Dynamics: Their Regulation During Spermatogenesis 1. *Biology of Reproduction*, 68(4), 1087-1097.

Moroi, S., Saitou, M., Fujimoto, K., Sakakibara, A., Furuse, M., Yoshida, O., & Tsukita, S. (1998). Occludin is concentrated at tight junctions of mouse/rat but not human/guinea pig Sertoli cells in testes. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 274(6), C1708-C1717.

Morrow, C. M., Mruk, D., Cheng, C. Y., & Hess, R. A. (2010). Claudin and occludin expression and function in the seminiferous epithelium. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 365(1546), 1679-1696.

Mruk, D. D., & Cheng, C. (2010). Tight junctions in the testis: new perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 365(1546), 1621-1635.

Mruk, D. D., & Cheng, C. Y. (2004). Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Endocrine reviews*, 25(5), 747-806.

Mruk, D. D., & Cheng, C. Y. (2015). The mammalian blood-testis barrier: its biology and regulation. *Endocrine reviews*, 36(5), 564-591.

Muller, W. A. (2003). Leukocyte–endothelial-cell interactions in leukocyte transmigration and the inflammatory response. *Trends in immunology*, 24(6), 326-333.

Pelletier, R., & Byers, S. W. (1992). The blood-testis barrier and Sertoli cell junctions: Structural considerations. *Microscopy research and technique*, 20(1), 3-33.

Pelletier, R., Okawara, Y., Vitale, M. L., & Anderson, J. M. (1997). Differential Distribution of the Tight-Junction-Associated Protein ZO-1 Isoforms α^+ and α^- in Guinea Pig Sertoli Cells: A Possible Association with F-Actin and G-Actin. *Biology of Reproduction*, 57(2), 367-376.

Russell, L. (1977). Movement of spermatocytes from the basal to the adluminal compartment of the rat testis. *Developmental Dynamics*, 148(3), 313-328.

Saitou, M., Furuse, M., Sasaki, H., Schulzke, J.-D., Fromm, M., Takano, H., . . . Tsukita, S. (2000). Complex phenotype of mice

lacking occludin, a component of tight junction strands. *Molecular biology of the cell*, 11(12), 4131-4142.

Siu, M. K., & Cheng, C. Y. (2004). Extracellular matrix: recent advances on its role in junction dynamics in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Biology of Reproduction*, 71(2), 375-391.

Steed, E., Balda, M. S., & Matter, K. (2010). Dynamics and functions of tight junctions. *Trends in cell biology*, 20(3), 142-149.

Su, L., Kopera-Sobota, I. A., Bilinska, B., Cheng, C. Y., & Mruk, D. D. (2013). Germ cells contribute to the function of the Sertoli cell barrier: an in vitro study. *Spermatogenesis*, 3(3), e26460.

Thumfart, K. M., & Mansuy, I. M. (2023). What are Sertoli cells? Historical, methodological, and functional aspects. *Andrology*, 11(5), 849-859.

Toyama, Y., Suzuki-Toyota, F., Maekawa, M., Ito, C., & Toshimori, K. (2008). Disruption of ectoplasmic specializations between Sertoli cells and maturing spermatids by anti-nectin-2 and anti-nectin-3 antibodies. *Asian journal of andrology*, 10(4), 577-584.

Tsukita, S., & Furuse, M. (2002). Claudin-based barrier in simple and stratified cellular sheets. *Current opinion in cell biology*, 14(5), 531-536.

Tsukita, S., Furuse, M., & Itoh, M. (2001). Multifunctional strands in tight junctions. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2(4), 285-293.

Van Itallie, C. M., & Anderson, J. M. (2006). Claudins and epithelial paracellular transport. *Annu. Rev. Physiol.*, 68, 403-429.

Zhang, X., & Lui, W.-Y. (2015). Transforming growth factor- β 3 regulates cell junction restructuring via MAPK-mediated mRNA destabilization and Smad-dependent protein degradation of junctional adhesion molecule B (JAM-B). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 1849(6), 601-611.

BÖLÜM V

Neonikotinoidler

İlknur ÜNDAĞ¹
Hasan Hüseyin DÖNMEZ²

Giriş

Dünya nüfusunun 2050 yılına gelindiğinde ortalama %30 artması beklenmektedir. Artan nüfus oranı gıdaya olan talebin atmasına neden olacak bu da gıda üretimini arttırmayı gerekli kılacaktır. Gıda üretiminde artış, tarım alanlarının sınırlı olması sebebiyle mevcut koşullarda sürdürülebilir üretimin desteklenmesi ve arttırılması ile mümkün görünmektedir (Popp, Pető, & Nagy, 2013). Gıda üretiminin %50'sinden fazlası zararlılar tarafından yok olmaktadır. Bu nedenle, böcek ilaçları tarım endüstrisi için temel malzemelerden biri haline gelmiştir. Organofosfor ve karbamatların

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Konya/Türkiye, Orcid: 0000-0001-8495-3930, ilknur-undag@selcuk.edu.tr

² Prof. Dr., Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Konya/Türkiye, Orcid: 0000-0003-4664-8489, hdonmez@selcuk.edu.tr

uzun süreli kullanımı, bu maddelere karşı direnç gelişmesine yol açarak böcek öldürücülerinin etkinliğini azaltmış ve yeni etki mekanizmalarına sahip insektisitlerin acilen geliştirilmesini gerekli kılmıştır. Neonikotinoidler, organofosfor ve karbamatlar gibi asetilkolinestraz aktivitesini inhibe etmek yerine, böcek öldürücü amaca ulaşmak için normal sinir iletimini engellemek üzere böcek postsinaptik nikotinik asetilkolin reseptörleri üzerinde etki ederek pazar talebini karşılamaktadır. Böcek ilaçlarının kullanımıyla böceklerin saldırma olasılığı azaltılır ve ürün veriminin artması sağlanır. Böcek ilaçları arasında neonikotinoidler, sistemik yapıları, zararlılara karşı etkinlikleri, yüksek menzilli özellikleri ve düşük memeli toksisitesi nedeniyle mahsullerde yaygın olarak kullanılan bir böcek ilacı sınıfı haline gelmiştir (Alsafran, Rizwan, Usman, Saleem, & Al Jabri, 2022; C. Zhang ve ark., 2024).

Neonikotinoidler, ilk olarak 1990'larda piyasaya sürülen ve tarım, veterinerlik ve konut alanlarında yaygın olarak kullanılan bir böcek ilacı sınıfıdır. Bu kimyasal bileşikler, nikotin sentetik türevleridir ve böceklerin sinir sistemine etki ederek onları felç eder ve öldürür. Neonikotinoidlerin böcek kontrolündeki yüksek etkinlikleri, düşük dozlarda bile etkili olmaları ve kolay uygulanabilir olmaları, onları dünya çapında yaygınlaştırmıştır. (X. Zhang ve ark., 2023). Düşük memeli toksisitesi olduğu varsayılan neonikotinoidler, eski böcek ilaçları organofosfat ve karbamatların yerini almak üzere geliştirildi. Yaygın kullanımları, sistemik etkileri ve çevrede yıllarca kalıcılıkları göz önüne alındığında, neonikotinoid kalıntılarının toprak, su, toz, hava ve gıda maddelerinde yaygın olarak bulunması şaşırtıcı değildir. Neonikotinoidlerin çevresel kalıntılarının vahşi türlerde ve insanlarda davranışsal ve sağlık

etkileriyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Han, Tian, & Shen, 2018; Tu ve ark., 2023; Q Zhang ve ark., 2018; Zhao ve ark., 2020)

Neonikotinoidlerin 1990 yılında tanıtılmasından bu zamana 120'den fazla ülkede böcek kontrolünde kullanılan tarım, veterinerlik ve konut böcek ilaçlarından biri haline gelmiştir. Neonikotinoidlerin ticari olarak temin edilen ilk bileşigi imidakloprid, 1990'ların başından beri kullanılmaktadır. Daha sonra üretilen arasında birinci nesil neonikotinoidler kloropiridillerdir. Bunlardan bazıları; imidakloprid, tiakloprid, asetamiprid, nitenpiram, paichongding ve sikloksaprittir. İkinci nesil neonikotinoidler klorotiyazollerdir. İmidaclothiz, tiametoksam ve klotianidin ikinci nesil neonikotinoidlere örnektir. Üçüncü nesil neonikotinoidler furanillerdir; dinotefuran. Dördüncü nesil neonikotinoidler sülfoksiminler; sülfoksafloor. Bu bileşikler suda kolayca çözünmektedir bu nedenle uygulanabilirliği (sulama, tohum kaplama, ağaç enjeksiyonları, yaprak ve toprak spreyleri) oldukça kolaydır (Alsafran ve ark., 2022; A. Anadón, I. Ares, M. Martínez, M. Martínez-Larrañaga, & M. Martínez, 2020; Anderson, Dubetz, & Palace, 2015; Wang ve ark., 2018).

Neonikotinoid maruziyeti

Neonikotinoidler, suda çözünme özelliği sayesinde bitkiler tarafından kökler veya yapraklar yoluyla hızla emilir ve bitki dokularında sistemik olarak dağılarak tüm bitkiyi koruma altına alır. Bu özellik, zararlılarla mücadelede bitkinin her bir bölümünün etkili bir şekilde korunmasını sağlar. Kolayca uygulanabilir ve uygulama sonrasında delici böceklerle ve kök yiyen böceklerle karşı etkilidirler (Byrne & Toscano, 2006; Castle, Byrne, Bi, & Toscano, 2005).

Neonikotinoidlerin kısa bir biyolojik yarı ömre sahip olduğu düşünülse de, son araştırmalar bu böcek ilaçlarının çevrede 1 günden 19 yıla kadar değişen sürelerle kalabildiğini ortaya koymuştur. Bu nedenle, sürekli olarak bu böcek ilaçlarına maruz kalınmaktadır ve bu ilaçlar yiyecek veya içme suyu yoluyla, mesleki sprey yan ürünlerinin solunum veya deri yoluyla temasıyla ve termit veya evcil hayvan haşere kontrol tedavilerinden sonra iç mekan hava kirliliği yoluyla emilebilir. Buna paralel olarak, neonikotinoid kalıntıları çok çeşitli yiyeceklerde, yüzey sularında tespit edilmiştir. Neonikotinoidler maruz kalan hayvanlar ve insanlar için ciddi bir sağlık sorunu oluşturabilir (Bonmatin ve ark., 2015; Costas-Ferreira & Faro, 2021; Garrido Frenich, Martínez Vidal, Pastor-Montoro, & Romero-González, 2008; Goulson, 2013; Katić ve ark., 2021; Tişler, Jemec, Mozetič, & Trebše, 2009; Xu ve ark., 2019).

Neonikotinoid toksisitesi

Neonikotinoidler, nikotinik asetilkolin reseptör agonistleri olarak işlev görür ve böceklerin merkezi sinir sistemindeki nikotinik asetilkolin reseptörlerine yüksek bir bağlanma afinitesi gösterir. Düşük konsantrasyonlarda sinir uyarımına yol açarken, yüksek konsantrasyonlarda reseptörleri bloke ederek felç ve ölüme neden olurlar. Neonikotinoidler, omurgalı nikotinik asetilkolin reseptörlerine böceklere kıyasla daha güçlü bir şekilde bağlanırlar, bu nedenle böcekler için seçici olarak daha toksiktirler. Bunlar genellikle çok küçük miktarlarda bile böcekler için toksiktir; örneğin, bal arılarında imidakloprid ve klotianidin yutulması durumunda LD50 dozu diklorodifeniltrikloroetan için LD50'nin yaklaşık 1/10.000'idir (Alsafran ve ark., 2022; Goulson, 2013; Tomizawa & Casida, 2005).

Neonikotinoidlerin başlangıçta düşük memeli toksisitesi sergilediğini düşünülmüştür. Ancak, yaygın kullanımının ardından neonikotinoidlerin hem omurgalılar hem de omurgasızlar üzerinde çeşitli toksik etkilere yol açabileceği giderek daha net bir şekilde ortaya çıkmıştır. Son çalışmalar neonikotinoidlerin neden olduğu nörotoksositeye daha fazla dikkat edilmesi gerektiğini öne sürmektedir. Yapılan çalışmalarda neonikotinoidlerin ve metabolitlerin büyük bir kısmının idrar yoluyla atıldığı bildirilmiştir. Ana bileşikler de dâhil olmak üzere neonikotinoid kalıntıları insanlarda kanda, serumda tespit edilmiş ve sağlık üzerine potansiyel olumsuz etkilerinin bulunduğu öne sürülmüştür (Chen ve ark., 2023; Han ve ark., 2018; H. Zhang ve ark., 2021; Quan Zhang ve ark., 2018). Neonikotinoidlerin memeliler üzerinde düşük toksisiteye sahip olduğu yönündeki başlangıçtaki görüşe rağmen, bu maddelerin hayvanlar ve insanlar üzerinde nörotoksosite, üreme toksisitesi, hepatotoksosite ve genotoksosite gibi çeşitli toksik etkilere yol açabileceğini gösteren kanıtlar giderek artmaktadır (Bal ve ark., 2012; Wang ve ark., 2018; Yardimci ve ark., 2014).

Nörotoksosite

Nikotine benzer kimyasal yapıya sahip olan neonikotinoidler, son yıllarda bitki ve hayvan sağlığında böcekleri kontrol etmek için kullanılan, en yaygın pestisitlerden biri haline gelmiş en yeni sentetik insektisit sınıfıdır (A. Anadón, I. Ares, M. Martínez, M.-R. Martínez-Larrañaga, & M.-A. Martínez, 2020). Neonikotinoid pestisitler, omurgasızların merkezi sinir sisteminde yaygın olarak dağılmış olan nikotinik asetilkolin reseptörlerinin güçlü agonistleri olarak hareket ederek hedef böceklerde nörotoksitelerini uygulurlar (Breer & Sattelle, 1987; Tomizawa & Casida, 2003).

Nikotinik asetilkolin reseptörleri, ligand kapılı iyon kanalları olarak işlev görür ve aktive edildiklerinde, dinlenme ya da duyarsızlaşmış bir duruma geri dönmeden önce birkaç milisaniye boyunca küçük kasyonların geçişine izin verir (Dani, 2015). Neonikotinoidler, nikotinik asetilkolin reseptörlerinin alfa alt birimlerine güçlü bir şekilde bağlanır ve bu reseptörleri bloke ederek nöromusküler felce ve sonunda ölüme yol açar (Bartlett ve ark., 2018; Goulson, 2013). Neonikotinoidlerin memeli nikotinik asetilkolin reseptörlerine düşük afinitesi ve kan-beyin bariyerinden düşük penetrasyon gösterdiği varsayımı, bu böcek ilacı sınıfının organofosfatlar ve karbamatlar gibi eski böcek ilaçlarına kıyasla memeliler için nispeten düşük toksisiteye sahip olduğu düşüncesini desteklemiştir (Anderson ve ark., 2015; Costas-Ferreira & Faro, 2021; Mohamed ve ark., 2009). Yapılan bir çalışmada neonikotinoid uygulaması sonrasında uygulanan dozun %5'ı beyinde tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada uygulama sonrasında beyinde pestisit tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda beyin dokusunda birikimin doza bağlı olarak arttığı en fazla birikimin uygulamadan 12 saat sonra gerçekleştiği ayrıca yaşa bağlı olarak beyin dokusunda daha fazla miktarda pestisit bulunduğu sonuçları ortaya konulmuştur. Neonikotinoid pestisitlerinin kan-beyin bariyerini geçme yeteneğine sahip olduğunu ve beyin dokusunda uygulanan toplam dozun %0,8'inden %5'ine kadar değişebilen seviyelere ulaştığını göstermektedir. Erken yaşta neonikotinoidlere maruz kalma, nöroenezin azalması, nöron göçündeki bozulmalar ve doğru nöronal gelişimin engellenmesiyle birlikte nöroinflamasyona yol açar. Yetişkinlikte ise neonikotinoidler, nörodavranışsal toksisiteye neden olur. Bu etkiler, nikotinik asetilkolin reseptörleri üzerindeki

düzenleyici etkilerle ilişkilidir ve bunun sonucunda nörokimyasal değişiklikler meydana gelir. Bu değişiklikler arasında nikotinik asetilkolin reseptör ekspresyonunun azalması, asetilkolinesteraz aktivitesindeki bozulmalar ve nigrostriatal dopaminerjik sistemin işlevinde ciddi değişiklikler bulunur. Tüm bu etkiler, oksidatif stres, nöroinflamasyon ve nihayetinde nöronal ölüme yol açan bir dizi hücre içi sinyal yolunun aktivasyonunu tetikleyebilir (Arturo Anadón ve ark., 2020; Costas-Ferreira & Faro, 2021; Katić ve ark., 2021; Terayama ve ark., 2016).

Üreme toksisitesi

Yapılan çalışmalar neonikotinoidlerin üreme toksisiteye neden olabileceğini göstermiştir. Neonikotinoid maruziyetinin germ hücrelerin apoptozunda artışa testis dokusunda, spermatogenezde, sperm canlılığı ve hızı üzerinde histolojik olarak olumsuz bir etkiye neden olduğunu ortaya koymuştur. Yapılan bir çalışmada neonicotinoidlerin testosteron seviyesinde azalmaya neden olduğunu ortaya konulmuştur. Dişi sıçanlar üzerinde yürütülen başka bir çalışmada, imidakloprid verilen sıçanların yumurtalık ağırlığında azalma ile birlikte foliküllerde, antral foliküllerde ve atretik foliküllerde önemli patomorfolojik değişiklikler gözlemlenmiştir. Dahası, bu doz LH, FSH ve progesteron seviyelerinde de önemli değişikliklere neden olmuştur. Yapılan farklı bir çalışmada, neonikotinoid olan klotianidin 4 hafta boyunca günlük farklı dozlarda uygulanmış ve sonuç olarak seminer epitelinde doza bağlı olarak dejenerasyon olduğu belgelenmiştir. Düşük klotianidin konsantrasyonlarının bile açlık gibi stres koşulları altında zararlı olabileceği bildirilmiştir. Neonikotinoidlerden asetamipritin erkek farelerin üreme fonksiyonu üzerindeki etkisini incelemek için

yapılan bir çalışmada, asetamiprid maruziyetinin seminifer tübüllerde ve Leydig hücrelerinde hasara ve Leydig hücrelerinin mitokondri ve endoplazmik retikulumunun dejenerasyonuna yol açtığı ortaya konulmuştur (Bal ve ark., 2012; Han ve ark., 2018; Hirano ve ark., 2015; Kapoor, Srivastava, & Srivastava, 2011; Najafi, Razi, Houshyar, Shah, & Feyzi, 2010; Wang ve ark., 2018; J.-j. Zhang ve ark., 2011).

Hepatotoksisite

Hepatotoksisite, karaciğerde disfonksiyon veya hasar oluşumunu ifade eder. Bu durum, yalnızca doğrudan birincil bileşiğin toksik etkisinden değil, aynı zamanda reaktif bir metabolitin varlığından ya da hepatositleri, safra kanalı epitel hücrelerini veya karaciğer damar sistemini etkileyen bağışıklık aracılı bir tepki sonucunda da ortaya çıkabilir. Bir kimyasal ajan tarafından ortaya çıkarılan hepatotoksik tepki, ana bileşik veya toksik metabolit olabilen toksik maddenin konsantrasyonuna, enzimlerin farklı ekspresyonuna ve asinüs boyunca kandaki kofaktörlerin konsantrasyon gradyanına bağlıdır (Deng, Luyendyk, Ganey, & Roth, 2009; Kedderis, 1996; Saukkonen ve ark., 2006; Singh, Bhat, & Sharma, 2011)

Karaciğer, metabolizma ve dış toksinlerin atılması için önemli bir organdır bu nedenle neonikotinoid hasarı için ana hedef organ olduğu gösterilmiştir. Bazı araştırmacılar, fare ve sıçanlarda neonikotinoidlere maruziyetin ardından hepatotoksisite ve karaciğer karsinogenitesine odaklanarak karaciğerde histolojik değişiklikler, enzim aktivitesinde bozukluklar ve karaciğer hasarını rapor etmişlerdir. Neonikotinoid maruziyetinin karaciğer fonksiyonunu

etkilediği ve enterohepatik dolaşım dengesini bozduğu bunun da karaciğer toksisitesine yol açabileceği ortaya konulmuştur. Toksikolojik araştırmalar, neonikotinoidlerin reaktif oksijen türlerindeki artışın tetiklediği inflamasyonun, karaciğer fonksiyonlarında değişikliklere neden olabileceğini ortaya koymuştur. Hepatik hücrelerin neonikotinoidlere duyarlılığı artmış olabilir çünkü bunlar safra içinde oldukça çözünür ve bu da karaciğerde daha yüksek konsantrasyonlara ve potansiyel toksisite indüksiyonuna katkıda bulunur (Chakroun ve ark., 2016; Chen ve ark., 2023; Swenson & Casida, 2013; Toor, Sangha, & Khera, 2013; Zheng ve ark., 2020).

Genotoksisite

Literatürde neonikotinoidlerin genotoksisitelerini değerlendirmek amacıyla kromozom anomalisi, kardeşi kromatid değişimleri, mikronükleus testi gibi yöntemler kullanılmıştır. Dünya çapında pestisitlerin genotoksisitesine yönelik endişeler bulunması nedeniyle konu ile ilgili bir çok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalardan birinde neonikotinoidlerden imidaklopridin insan kan lenfositlerinde mutajenik aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada da neonikotinoid insektisit olan thiacloprid de genotoksisiteye neden olduğu ortaya konulmuştur. Tiaklopridin farklı konsantrasyonlarında lenfositlerde azalmış nükleer bölünme indeksi, proliferasyon indeksi ve mitotik indeks belirlemişlerdir. Benzer şekilde insan lenfositlerinde asetamipridin de genotoksisitesi tespit edilmiştir. Çalışmalarda neonikotinoidlerin sıçan, tavşan ve insan üzerinde genotoksisiteye sahip olabileceği ileri sürülmüştür. Neonikotinoidler DNA ve kromozom bütünlüğünü değiştirebilir, gen mutasyonuna neden olabilir. Fakat yapılan araştırmaların çoğu

in vitro çalışmalar olup, neonikotinoidlerin genotoksisitesi ile ilgili sonuçları doğrulamak için in vivo çalışmalara da ihtiyaç duyulmaktadır (Costa ve ark., 2009; Han ve ark., 2018; Kocaman, Rencüzoğulları, & Topaktaş, 2014; Kocaman & Topaktaş, 2007).

Oksidatif stres

Oksidatif stres, reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerinin etkisiyle, omurgalılar ve omurgasızlarda lipit, DNA ve protein hasarını tetikleyebilen önemli bir faktör olarak kabul edilir. Birkaç popölasyon temelli alışma, Neonikotinoidlere maruz kalma ile DNA hasarının oksidatif stres biyobelirteçleri arasında pozitif ilişkiler olduğunu bildirmiştir (Koureas, Tsezou, Tsakalof, Orfanidou, & Hadjichristodoulou, 2014; Mehmet Ozsan & Kececi, 2024; H. Zhang ve ark., 2021) Hücrede oksidatif stresin artmasıyla oluşan reaktif oksijen türleri, lipid ve protein moleküllerinin çift bağlarını ve DNA bazlarının çift bağlarını etkileyerek, bunlardan bir hidrojen atomunun kopmasına ve zincir oksidasyon reaksiyonlarının başlamasına neden olarak yapılarının bozulmasına yol açar. Oksidatif stres tüm hücrelerde fizyolojik olaylar sırasında canlılığın belirleyicisi veya fizyopatolojik hasarın habercisi olabilir (Avci, Yavru, & Dik, 2014; Dik, Dik, Tufan, & Er, 2024; Dik, Gülersoy, & Simsek, 2024; Hatipoğlu, Dik, & Gülersoy, 2022; Hatipoğlu, Özsan, Dönmez, & Dönmez, 2023; M Ozsan, Hatipoglu, Donmez, Ündag, & Donmez, 2024; Mehmet Ozsan & Kececi, 2024).

Son yıllarda, neonikotinoidlerin hedef dışı organizmalar üzerindeki toksik etkileri ve bu etkilerin altında yatan mekanizmalar giderek daha fazla dikkat çekmiştir. Bu bağlamda, neonikotinoidlerin farklı toksisite türlerinde oksidatif stresin

belirleyici bir rol oynadığı vurgulanmaktadır. Bıldırcınlarda yapılan bir çalışmada neonikotinoid kaynaklı oksidatif stresin karaciğer ve üreme sistemi üzerinde olumsuz etkilerini ortaya koymuştur (Tokumoto ve ark., 2013). Yapılan başka bir çalışmada zebra balığında neonikotinoidlerin oksidatif hasara ve DNA hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Ge ve ark., 2015). Neonikotinoidlerin neden olduğu oksidatif stres, hücrelerin antioksidan savunma sistemini harekete geçirirken, DNA, lipitler ve proteinler gibi temel hücresel makromoleküllerde hasara yol açabilir. Bu stresin devamında, hücre ölümü apoptotik veya nekrotik mekanizmalarla gerçekleşebilir. Süreç boyunca DNA hasarı, lipit peroksidasyonunun artışı ve proteinlerin yapısal bozulması gözlemlenebilir. (Wang ve ark., 2018; Weidinger & Kozlov, 2015).

Sonuç

Neonikotinoidler merkezi sinir sisteminde yaygın olarak dağılmış olan nikotinik asetilkolin reseptörlerinin güçlü agonistleri olarak hareket eder, nikotinik asetilkolin reseptörlerinin alfa alt birimlerine sıkıca bağlanır ve bunları bloke ederek nöromüsküler felce ve nihayetinde ölüme neden olur. Başlangıçta neonikotinoidlerin düşük memeli toksisitesi sergilediği düşünülmüştür. Fakat, yapılan çalışmalarda neonikotinoidlerin omurgalılar ve omurgasızlar üzerinde çeşitli toksik etkilere sahip olabileceği bildirilmiştir. Son çalışmalar neonikotinoidlerin neden olduğu toksisiteye daha fazla dikkat edilmesi gerektiğini göz önüne sermektedir. Yapılan in vitro ve in vivo çalışmaların çoğaltılıp derinleştirilerek ortaya konulan toksisite sonuçlarının doğrulanmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

Alsafran, M., Rizwan, M., Usman, K., Saleem, M. H., & Al Jabri, H. (2022). Neonicotinoid insecticides in the environment: A critical review of their distribution, transport, fate, and toxic effects. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(5), 108485.

Anadón, A., Ares, I., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M.-R., & Martínez, M.-A. (2020). Neurotoxicity of neonicotinoids. In *Advances in Neurotoxicology* (Vol. 4, pp. 167-207): Elsevier.

Anadón, A., Ares, I., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M., & Martínez, M. (2020). Chapter Four—Neurotoxicity of neonicotinoids. *Advances in Neurotoxicology*, 4, 167-207.

Anderson, J., Dubetz, C., & Palace, V. (2015). Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: a literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects. *Science of the Total Environment*, 505, 409-422.

Avci, O., Yavru, S., & Dik, I. (2014). Determination of lipid peroxidation biomarkers in Vero cell line inoculated with Bovine Ephemeral Fever Virus. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 30(4), 217-221.

Bal, R., Türk, G., Tuzcu, M., Yilmaz, O., Kuloglu, T., Gundogdu, R., . . . Çambay, Z. (2012). Assessment of imidacloprid toxicity on reproductive organ system of adult male rats. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 47(5), 434-444.

Bartlett, A. J., Hedges, A. M., Intini, K. D., Brown, L. R., Maisonneuve, F. J., Robinson, S. A., . . . de Solla, S. R. (2018). Lethal and sublethal toxicity of neonicotinoid and butenolide

insecticides to the mayfly, *Hexagenia* spp. *Environmental pollution*, 238, 63-75.

Bonmatin, J.-M., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreutzweiser, D., Krupke, C., . . . Mitchell, E. (2015). Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 35-67.

Breer, H., & Sattelle, D. B. (1987). Molecular properties and functions of insect acetylcholine receptors. *Journal of Insect Physiology*, 33(11), 771-790.

Byrne, F. J., & Toscano, N. C. (2006). Uptake and persistence of imidacloprid in grapevines treated by chemigation. *Crop Protection*, 25(8), 831-834.

Castle, S. J., Byrne, F. J., Bi, J. L., & Toscano, N. C. (2005). Spatial and temporal distribution of imidacloprid and thiamethoxam in citrus and impact on *Homalodisca coagulata* populations. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 61(1), 75-84.

Chakroun, S., Ezzi, L., Grissa, I., Kerkeni, E., Neffati, F., Bhourri, R., . . . Mehdi, M. (2016). Hematological, biochemical, and toxicopathic effects of subchronic acetamiprid toxicity in Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 25191-25199.

Chen, Y., Yu, W., Zhang, L., Cao, L., Ling, J., Liao, K., . . . Zhao, M. (2023). First evidence of neonicotinoid insecticides in human bile and associated hepatotoxicity risk. *Journal of Hazardous Materials*, 446, 130715.

Costa, C., Silvani, V., Melchini, A., Catania, S., Heffron, J., Trovato, A., & De Pasquale, R. (2009). Genotoxicity of imidacloprid in relation to metabolic activation and composition of the commercial product. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 672(1), 40-44.

Costas-Ferreira, C., & Faro, L. R. (2021). Neurotoxic effects of neonicotinoids on mammals: what is there beyond the activation of nicotinic acetylcholine receptors?—A systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 8413.

Dani, J. A. (2015). Neuronal nicotinic acetylcholine receptor structure and function and response to nicotine. *International review of neurobiology*, 124, 3-19.

Deng, X., Luyendyk, J. P., Ganey, P. E., & Roth, R. A. (2009). Inflammatory stress and idiosyncratic hepatotoxicity: hints from animal models. *Pharmacological reviews*, 61(3), 262-282.

Dik, I., Dik, B., Tufan, Ö., & Er, A. (2024). Evaluation of potential antiviral activities of antimicrobial peptides in fish mucus. *Fundamental & Clinical Pharmacology*.

Dik, I., Gulersoy, E., & Simsek, A. (2024). Importance of Biomarkers and Cytokines in the Prognosis of Canine Parvovirus Infection. *Pakistan Veterinary Journal*, 44(3).

Garrido Frenich, A., Martínez Vidal, J., Pastor-Montoro, E., & Romero-González, R. (2008). High-throughput determination of pesticide residues in food commodities by use of ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 390, 947-959.

Ge, W., Yan, S., Wang, J., Zhu, L., Chen, A., & Wang, J. (2015). Oxidative stress and DNA damage induced by imidacloprid in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(6), 1856-1862.

Goulson, D. (2013). An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50(4), 977-987.

Han, W., Tian, Y., & Shen, X. (2018). Human exposure to neonicotinoid insecticides and the evaluation of their potential toxicity: An overview. *Chemosphere*, 192, 59-65.

Hatipoğlu, D., Dik, I., & Gülersoy, E. (2022). Determination of Oxidative Stress and Antioxidant Activities in Dogs Infected with Canine Distemper Virus. *Van Veterinary Journal*, 33(3), 67-70.

Hatipoğlu, D., Özsan, M., Dönmez, H. H., & Dönmez, N. (2023). Hepatoprotective effects of *Nigella Sativa* oil against acrylamide-induced liver injury in rats. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1-22.

Hirano, T., Yanai, S., Omotehara, T., Hashimoto, R., Umemura, Y., Kubota, N., . . . Aihara, Y. (2015). The combined effect of clothianidin and environmental stress on the behavioral and reproductive function in male mice. *Journal of Veterinary Medical Science*, 77(10), 1207-1215.

Kapoor, U., Srivastava, M., & Srivastava, L. (2011). Toxicological impact of technical imidacloprid on ovarian morphology, hormones and antioxidant enzymes in female rats. *Food and chemical toxicology*, 49(12), 3086-3089.

Katić, A., Kašuba, V., Kopjar, N., Lovaković, B. T., Čermak, A. M. M., Mendaš, G., . . . Pizent, A. (2021). Effects of low-level imidacloprid oral exposure on cholinesterase activity, oxidative stress responses, and primary DNA damage in the blood and brain of male Wistar rats. *Chemico-Biological Interactions*, 338, 109287.

Kedderis, G. L. (1996). Biochemical basis of hepatocellular injury. *Toxicologic pathology*, 24(1), 77-83.

Kocaman, A. Y., Rencüzoğulları, E., & Topaktaş, M. (2014). In vitro investigation of the genotoxic and cytotoxic effects of thiacloprid in cultured human peripheral blood lymphocytes. *Environmental Toxicology*, 29(6), 631-641.

Kocaman, A. Y., & Topaktaş, M. (2007). In vitro evaluation of the genotoxicity of acetamiprid in human peripheral blood lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 48(6), 483-490.

Koureas, M., Tsezou, A., Tsakalof, A., Orfanidou, T., & Hadjichristodoulou, C. (2014). Increased levels of oxidative DNA damage in pesticide sprayers in Thessaly Region (Greece). Implications of pesticide exposure. *Science of the Total Environment*, 496, 358-364.

Mohamed, F., Gawarammana, I., Robertson, T. A., Roberts, M. S., Palangasinghe, C., Zawahir, S., . . . Buckley, N. A. (2009). Acute human self-poisoning with imidacloprid compound: a neonicotinoid insecticide. *PloS one*, 4(4), e5127.

Najafi, G. R., Razi, M., Houshyar, A., Shah, M. S., & Feyzi, S. (2010). The effect of chronic exposure with imidacloprid insecticide on fertility in mature male rats.

Ozsan, M., Hatipoglu, D., Donmez, H., Ündag, İ., & Donmez, N. (2024). Protective effect of nigella sativa on some hematological parameters in rats exposed to acrylamide. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 34(4).

Ozsan, M., & Kecici, T. (2024). The Protective Effects of Nigella Sativa on the Antioxidant System and Certain Cytokine Levels in Rats Exposed to Experimental Acrylamide. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 40(3).

Popp, J., Pető, K., & Nagy, J. (2013). Pesticide productivity and food security. A review. *Agronomy for sustainable development*, 33, 243-255.

Saukkonen, J. J., Cohn, D. L., Jasmer, R. M., Schenker, S., Jereb, J. A., Nolan, C. M., . . . Strader, D. B. (2006). An official ATS statement: hepatotoxicity of antituberculosis therapy. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 174(8), 935-952.

Singh, A., Bhat, T., & Sharma, O. (2011). Clinical biochemistry of hepatotoxicity. *J Clinic Toxicol S*, 4, 2161-0495.

Swenson, T. L., & Casida, J. E. (2013). Neonicotinoid formaldehyde generators: Possible mechanism of mouse-specific hepatotoxicity/hepatocarcinogenicity of thiamethoxam. *Toxicology letters*, 216(2-3), 139-145.

Terayama, H., Endo, H., Tsukamoto, H., Matsumoto, K., Umezu, M., Kanazawa, T., . . . Kawakami, S. (2016). Acetamiprid

accumulates in different amounts in murine brain regions. *International journal of environmental research and public health*, 13(10), 937.

Tišler, T., Jemec, A., Mozetič, B., & Trebše, P. (2009). Hazard identification of imidacloprid to aquatic environment. *Chemosphere*, 76(7), 907-914.

Tokumoto, J., Danjo, M., Kobayashi, Y., Kinoshita, K., Omotehara, T., Tatsumi, A., . . . Yokoyama, T. (2013). Effects of exposure to clothianidin on the reproductive system of male quails. *Journal of Veterinary Medical Science*, 75(6), 755-760.

Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2003). Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annual review of entomology*, 48(1), 339-364.

Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2005). Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45(1), 247-268.

Toor, H. K., Sangha, G. K., & Khera, K. S. (2013). Imidacloprid induced histological and biochemical alterations in liver of female albino rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 105(1), 1-4.

Tu, H., Wei, X., Pan, Y., Tang, Z., Yin, R., Qin, J., . . . Qiu, R. (2023). Neonicotinoid insecticides and their metabolites: Specimens tested, analytical methods and exposure characteristics in humans. *Journal of Hazardous Materials*, 457, 131728.

Wang, X., Anadón, A., Wu, Q., Qiao, F., Ares, I., Martínez-Larrañaga, M.-R., . . . Martínez, M.-A. (2018). Mechanism of

neonicotinoid toxicity: impact on oxidative stress and metabolism. *Annual review of Pharmacology and Toxicology*, 58(1), 471-507.

Weidinger, A., & Kozlov, A. V. (2015). Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: oxidative stress versus signal transduction. *Biomolecules*, 5(2), 472-484.

Xu, M., Huang, H., Li, N., Li, F., Wang, D., & Luo, Q. (2019). Occurrence and ecological risk of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and pesticides in typical surface watersheds, China. *Ecotoxicology and environmental safety*, 175, 289-298.

Yardimci, M., Sevgiler, Y., Rencuzogullari, E., Arslan, M., Buyukleyla, M., & Yilmaz, M. (2014). Sex-, tissue-, and exposure duration-dependent effects of imidacloprid modulated by piperonyl butoxide and menadione in rats. Part I: oxidative and neurotoxic potentials. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 65(4), 387-398.

Zhang, C., Li, Y., Yang, N., You, M., Hao, J., Wang, J., . . . Zhang, M. (2024). Electrochemical sensors of neonicotinoid insecticides residues in food samples: from structure to analysis. *Talanta*, 267, 125254.

Zhang, H., Zhang, N., Zhou, W., Zeng, X., Wang, X., Zhan, M., . . . Li, Z. (2021). Profiles of neonicotinoid insecticides and their metabolites in paired saliva and periodontal blood samples in human from South China: association with oxidative stress markers. *Ecotoxicology and environmental safety*, 212, 112001.

Zhang, J.-j., Yi, W., Xiang, H.-y., LI, M.-x., LI, W.-h., WANG, X.-z., & ZHANG, J.-h. (2011). Oxidative stress: role in

acetamiprid-induced impairment of the male mice reproductive system. *Agricultural sciences in China*, 10(5), 786-796.

Zhang, Q., Li, Z., Chang, C., Lou, J., Zhao, M., & Lu, C. (2018). Potential human exposures to neonicotinoid insecticides: A review. *Environmental pollution*, 236, 71-81.

Zhang, Q., Wang, X., Li, Z., Jin, H., Lu, Z., Yu, C., . . . Zhao, M. (2018). Simultaneous determination of nine neonicotinoids in human urine using isotope-dilution ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Environmental pollution*, 240, 647-652.

Zhang, X., Huang, Y., Chen, W.-J., Wu, S., Lei, Q., Zhou, Z., . . . Chen, S. (2023). Environmental occurrence, toxicity concerns, and biodegradation of neonicotinoid insecticides. *Environmental research*, 218, 114953.

Zhao, Y., Yang, J., Ren, J., Hou, Y., Han, Z., Xiao, J., & Li, Y. (2020). Exposure level of neonicotinoid insecticides in the food chain and the evaluation of their human health impact and environmental risk: An overview. *Sustainability*, 12(18), 7523.

Zheng, M., Qin, Q., Zhou, W., Liu, Q., Zeng, S., Xiao, H., . . . Gao, J. (2020). Metabolic disturbance in hippocampus and liver of mice: A primary response to imidacloprid exposure. *Scientific reports*, 10(1), 5713.

BÖLÜM VI

Müller Hücreleri

Seda ORHANGAZI¹
Yasemin ÖZNURLU²

Giriş

Müller hücreleri, ilk olarak 1851 yılında Alman anatomist Heinrich Müller tarafından balık, kurbağa ve güvercin retinasında radyal lifler olarak tanımlanmış (Müller, 1856; Hamon & ark., 2016) ve 1892 yılında Cajal tarafından gösterilmesiyle şekli tam olarak anlaşılmıştır (Kolb, 2007).

Omurgalı retinası, her biri farklı morfolojik, gelişimsel ve antijenik özellikler sergileyen dört tip glia hücresi içermektedir. Müller hücreleri en baskın olan glial hücredir ve retinal glia'nın %90'ını temsil etmektedir. Müller hücrelerini, astrositler ve mikroglia takip eder. Dördüncü glial hücre türü olan

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Van, Orcid: 0009-0005-9871-569X, sedaorhangazi@yyu.edu.tr

² Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Konya, Orcid: 0000-0002-6296-3107, yoznurlu@selcuk.edu.tr

oligodendrositler memeli retinasında yoktur (Newman & Reichenbach, 1996).

Müller hücreleri, retina hücrelerinin yaklaşık %4-5'ini oluşturur (Hamon & ark., 2016). MSS'nin diğer bölgelerindeki astrositler, oligodendrositler ve endotelial hücreler tarafından yerine getirilen işlevlerin çoğunu gerçekleştirir (Newman & Reichenbach, 1996). Esas görevleri sinir sisteminin oluşumu ve gelişimi sırasında nöronlara destek olmaktır. Sinaps oluşumunda görev aldıkları bilinmektedir. Bununla birlikte nöronların uygun ortamda çalışabilecekleri mikrohabitatların korunması ve bazı hücrelerin bölünmesinde rolü vardır (Bakırcı, 2013).

Mikroglial hücrelerin mezodermal kökenli olduğu bilinmektedir (Chan-ling, 1994). Ancak retinal nöroepitelyumdan köken alan tek glial hücre Müller hücreleridir (Hamon & ark., 2016). Son çalışmalar, Müller hücrelerinin kökenini krista nöralis hücreleri olarak da göstermektedir (Vecino & ark., 2016). Embriyonik dönemin sonlarına doğru multipotent progenitör hücrelerden gelişirler (Liu & ark., 2014). Normal şartlarda olgun retinada mitotik olarak aktif değildirler ancak belirli koşullar altında hücre döngüsüne yeniden girebilirler (Roesch & ark., 2008).

Müller Hücre Morfolojisi

Müller hücreleri, retina boyunca dikey olarak yerleşen ve her bir retina tabakasında hücresel uzantıları ile karakterize olan bir morfolojiye sahiptir. Yapılan çalışmalar, Müller hücrelerinin radyal olarak hizalandığını ve bipolar morfolojiye sahip olduğunu göstermiştir (Wang & ark., 2017).

Müller hücreleri ışığın dokuya girdiği vitreusdan dış sınırlayıcı zara kadar retina boyunca yerleşmişlerdir ve stratejik bir konuma sahiptirler (Franze & ark., 2007). İç nükleer tabakada (INL) yer alan hücre gövdesi, iç pleksiform tabakadan (IPL) geçerek retinanın vitreal yüzeyine ulaşan bir iç gövde oluşturmaktadır. Müller hücrelerinin üst kısmı, retinayı vitreusdan ayıran iç sınırlayıcı zarı oluşturur (Kobat & Turgut, 2020). Hücrenin dış kısmında sitoplazma daralarak fotoreseptörlerin arasından geçer ve iç segmentin dış ucuna kadar uzanır. Müller hücreleri arasındaki dezmozom ve zonula adherensler, dış sınırlayıcı zarı (stratum limitans gliae eksternum) şekillendirir. Bu zar çubuk ve koni hücreleri ile retinanın iç katmanları arasında önemli bir metabolik bariyer oluşturur (Kobat & Turgut, 2020; Kulualp & Genç, 2023).

Müller hücreleri spesifik huni benzeri biçimleri, retina içindeki düzenli ve paralel yönelimleri sayesinde ışığın vitreustan retinadaki fotoreseptörlere iletilmesini sağlar (Roesch & ark., 2008). Müller hücreleri glikojen ve mitokondri yanında vimentin ve glial fibriler asidik protein (GFAP) için immünoreaktif olan intermediyer filamentler içerir (Kolb, 2007). Müller hücrelerinin sitoplazmasında bulunan mitokondri ışık saçılımının azaltılmasına yardımcı olur. Yapılan çalışmalar, Müller hücrelerinin, fiber optik plakalara benzer şekilde, memeli gözünde çubuk ve koni fotoreseptörlerine ışık sağlamak için bir huni görevi gördüğünü göstermiştir (Kobat & Turgut, 2020).

Müller glia'nın sayısı ve yoğunluğu türlere ve retinadaki konumlarına göre değişiklik göstermektedir. Örneğin tavşan retinasında Müller glia hücreleri fazla sayıda nöronun gözlendiği

merkezi retinada daha fazlayken, daha az sayıda nöronun bulunduğu periferik retinada ise az sayıdadır (Eastlake, Luis & Limb, 2020).

Müller Hücrelerinin Fonksiyonları

1. Nörotransmitter alımıyla sinaptik aktivitenin düzenlenmesi

Müller hücreleri, ekstrasellüler nörotransmitterlerin alımı ve metabolizasyonu yoluyla sinaptik aktiviteyi düzenlemektedir (Bringmann & ark., 2013). Retinadaki ana uyarıcı nörotransmitter fotoreseptörler, bipolar hücreler ve retinal ganglion hücreleri tarafından salınan glutamattır. Glutamat nöronal uyarılabilirliği ve sinaptik aktiviteyi düzenler, ancak aşırı glutamat nöronların aşırı uyarılmasına neden olarak hücre ölümüne yol açabilir (Eastlake & ark., 2019). Müller hücrelerinde glutamat, glia-spesifik enzim olan glutamin sentetaz tarafından hızla glutamine dönüştürölür veya glutatyon üretimi ve retina nöronlarının oksidatif metabolizması için yakıt üreten diğler biyokimyasal yollarda substrat olarak kullanılmaktadır (Bringmann ve ark., 2009). Müller hücreleri, salınan fazla glutamatın büyük ölçüde temizlenmesini sağlayarak sinaptik aralıktan glutamatı uzaklaştırır ve nöron iletimlerini düzenler, Böylece uyarıcı sinapsların normal çalışmasını ve nörotoksitenin önlenmesini sağlamaktadır (Bringmann & ark., 2013; Taylor & ark., 2003).

2. Fotoreseptörler ve nöronlara trofik, anti-oksidatif destek

Müller hücreleri, nöronlarla simbiyotik ilişki içinde etkileşime girer. Müller hücreleri, glutamin, laktat, alanin ve α -ketoglutarat dahil olmak üzere oksidatif nöronal metabolizmanın substratlarını

 retir (Poitry & ark., 2000); bu substratlar, metabolik stres dönemlerinde ( rneğin karanlıkta) fotoreseptörler ve nöronlar tarafından kullanılır (Reichenbach & Bringmann 2013).

Retina, görsel olarak uyarılmış potansiyel sinyalleri oluşturmak ve iletmek için yüksek metabolik hızını sürdürmesi gerekir; böylece mitokondride büyük miktarda reaktif oksijen metabolitleri (ROM)  retilir. Bu nedenle, retinal hücreler diğer dokulardan daha yüksek oksidatif basınca sahiptir ve antioksidan korumaya büyük oranda ihtiya ı vardır. Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROT)  retimi ve hücrelerin antioksidan kapasitesindeki dengesizlikten kaynaklanmaktadır. Oksidatif stres, genellikle glokom, yaşa bağlı makula dejenerasyonu (ARMD), diyabetik retinopati (DR) ve retinitis pigmentosa gibi önemli retinal dejeneratif hastalıklarla ilişkilidir. Müller hücreleri, nöronal hasara karşı güçlü antioksidan faktörler salgılayarak oksidatif stresini  nleme veya hafifletme konusunda kilit bir rol oynarlar. Özellikle, yüksek düzeyde glutamat taşıyıcılarına sahip olan Müller hücreleri, glutamat, sistein ve glicin'den sentezlenen glutatyonun üretimini destekleyerek, eksitotoksik retinal hasarı önlerler (Eastlake & ark., 2019).

3. Fotoreseptör ve retinal gangliyon hücrelerine destek

Retinadaki fotoreseptörler görmede kilit rol oynarlar. Bu hücreler sahip oldukları fotopigmentler sayesinde belli dalga boyundaki ışınları absorbe ederek, ışınları beynin analizleyeceği elektriksel sinyallere dönüştürmede görev alırlar. Rodlar sadece farklı ışık şiddetlerini algılamada, koniler ise ışık şiddeti ile birlikte farklı dalga boylarını da algılamada rol alırlar. Retinal ganglion

hücrelerinin canlılığı, görme fonksiyonunun sürdürülmesi için gereklidir. Müller hücreleri fotoreseptörlerden özellikle konilerin işlevini desteklemede ve retinal ganglion hücrelerinin homeostazisi, nörotransmitterlerin hücre dışı konsantrasyonunu tamponlanması ve bu hücrelere enerji sağlanmasında çok önemli rol oynamaktadır (Toft-Kehler & ark., 2014).

Müller hücreleri, astrositler ve mikrogliya gibi gliaların nörotrofik faktörleri sentezlediği ve bunların doğrudan veya dolaylı olarak nörotrofik süreçlere aracılık edebildiği bildirilmiştir (Reichenbach & Bringmann 2013). Müller hücreleri tarafından nörotrofin ailesinden Fibroblast büyüme faktörleri (FGF), Siliyer nörotrofik faktör (CNTF) ve Glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör (GDNF) üretilmektedir (Eastlake & ark., 2019; Uğurlu, 2009). Nörotrofinler ve büyüme faktörleri, nöronların hayatta kalması, farklılaşması ve gelişmesinde rol oynar (Venisa & ark., 2016).

4. Kir4.1-aracılı potasyum homeostazisi

Müller hücreleri, ekstraselüler boşluğun ozmolaritesi de dâhil olmak üzere çevrelerindeki mikroçevreyi düzenlemekten sorumludur (Pfeiffer, Marc & Jones, 2020). Müller hücreleri, iyon ve su taşınmasıyla osmotik ve iyonik homeostazı düzenlerler (Reichenbach & Bringmann 2013).

Hücre sel uyarılabilirliğin ve K⁺ iyon homeostazının kontrolünde merkezi rol oynayan potasyum kanalları (Kir kanalları), türlerine ve konumlarına bağlı olarak hücrede çeşitli fizyolojik işlevlere sahiptir (Emre, 2020). İçe doğru doğrultucu potasyum kanalı Kir4.1, çoklu organ sistemlerinde eksprese edilen tetramerik bir transmembran proteinidir. Merkezi sinir sistemi (MSS) içinde

Kir4.1, retinadaki ana glial hücre türü olan Müller hücresinden eksprese edilir. Bu kanal yapısal olarak aktif olduğundan, K⁺, hücrenin uyarılma durumuna bağlı olarak Müller hücrelerine girebilir veya çıkabilir (Connors & Kofuji, 2006).

Retinadaki Müller hücrelerinin önemli bir rolü, ışıkla uyarılmış nöronal aktiviteden kaynaklanan hücre dışı K⁺ konsantrasyonundaki değişiklikleri tamponlamaktır (Connors & Kofuji, 2006). Ekstraselüller potasyum (K⁺) konsantrasyonundaki aktiviteye bağlı dengesizlikler, Kir4.1'in ekspresyonu tarafından kolaylaştırılmaktadır (Reichenbach & Bringmann, 2013; Eastlake & ark., 2019).

5. AQP4 aracılı su homeostazisi

Aquaporin-4 (AQP4) yüksek nöronal aktivitenin neden olduğu ozmotik dengesizliği kontrol etmektedir. Müller hücreleri, retinadaki ekstraselüler homeostazın kontrolünde rol oynar ve AQP4 aracılığıyla çözünen maddelerin ve suyun dışarı atılmasına bağlı bir düzenleyici hacim azalması mekanizmasıyla hücre şişmesini düzenlemektedir (Netti & ark., 2020).

6. Karbon dioksitin taşınması/uzaklaştırılması ve ekstrasellüler pH'ın düzenlenmesi

Müller hücreleri, karbondioksiti uzaklaştırarak ekstrasellüler pH'yı düzenler ve böylece nöronları aşırı uyarılmaya karşı korur (Reichenbach & Bringmann, 2013). Fotoreseptör hücreler, yüksek oksijen ve glikoz kullanmaları ile ilişkili olarak vücuttaki tüm hücreler arasında en yüksek oksidatif metabolizma oranına sahip olan hücrelerdir. Glikoz metabolizması sonucunda çok fazla karbondioksit ve su üretilmektedir. Müller hücreleri metabolik

atıkları kana ve vitreusa yeniden dağıtır. Karbon dioksit, ‘karbon dioksit sifonlaması’ adı verilen bir mekanizma ile temizlenir; karbonik anhidrazlar tarafından hızla bikarbonat ve protonlara hidratlanır. Karbonik anhidraz II, Müller ve amacrin hücrelerinde lokalize olurken, membrana bağlı karbonik anhidraz XIV, glial hücrelerde ve vasküler endotelde bulunur (Reichenbach & Bringmann, 2013).

7. Kan-retina bariyerinin düzenlenmesi ve retinanın neovaskülarizasyonu

Müller hücrelerinin en önemli işlevlerinden biri retinal kan akışını düzenlemesi ve kan retina bariyerinin oluşumuna katkıda bulunmasıdır. Kan- retina bariyeri iki önemli unsur tarafından oluşturulmuştur. Retinada hem dış hem de iç kan retina bariyeri olmak üzere iki bariyer vardır. Bu iki bariyer retinaya madde girişini kontrol ederler. İç kan retina bariyerini retinal kapillarların endotel hücreleri, dış kan retina bariyerini ise retina pigment epiteli oluşturur. Endotel hücreleri arasında ve retina pigment epiteli hücreleri arasında zonula okludensler vardır, bu bağlantılar düşük permeabiliteye sahip bir mikroçevre oluşturur. İç kan retina bariyeri birbirine sıkı bağlantılarla bağlı tek sıralı endotel hücreleri, bu hücrelere bitişik astrosit, Müller hücreleri, perisitler ve diferensiyel olmuş nöronlardan oluşur. Müller hücreleri ve astrositler sıkı bağlantıları ve tight-junction proteinlerinin sentezini indüklemeleriyle düşük sıvı geçirgenliğine sahip bir alan oluştururlar ve bu şekilde bariyer görevinde yer alırlar. Müller hücreleri, trombospondin-1 ve glial hücre dizisinden türetilen nörotrofik faktör gibi faktörlerin salgılanmasıyla vasküler

endotelinin bariyer fonksiyonunu arttırır (Çerman, Yenice & Kazokoğlu, 2011; Cholkar & ark., 2013).

Hipoksi, enflamasyon veya glikoz yoksunluğuna yanıt olarak Müller hücreleri, vasküler geçirgenliği artıran vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve tümör nekroz faktörü gibi faktörler üretir. Müller hücrelerinin, iskemik koşullar altında retina neovaskülarizasyonunu önleyen retina vasküler endotel hücreleri için kalıcı bir antiproliferatif ortam sağladığı ileri sürülmüştür (Reichenbach & Bringmann, 2013).

Müller Glia'nın Farklılaşma Potansiyeli (Müller Stem Cells)

Müller hücreleri, nöral retinanın ana glial hücresi olması ve retinanın tüm kalınlığı boyunca uzanan tek retina hücre tipi olarak diğer nöronlar ve retinal kan damarları ile yakın temas göstermesi nedeniyle sağlıklı retinada nöronal işlevi desteklemede önemli roller oynar. Retinanın tüm katmanlarına yerleşmeleri sayesinde endojen rejeneratif olayları tetikleyebilirler (Too & Simunovic, 2021). Müller hücrelerinin memeli retinasında kök/progenitör hücreler olarak hareket etme potansiyeli vardır. Retina hasarlarında, Müller hücreleri farklılaşarak çoğalabilir, hasarlı retinal bölgelere göç ederek kayıp nöronlara farklılaşabilirler (Liu, Wang & Su, 2019). Hasarlı olmayan retinada bu şekilde işlev görmedikleri için kök hücre olarak kabul edilip edilmemeleri tartışma konusudur (Hamon A & ark., 2016).

Nöral kök hücre üretme potansiyelleri nedeniyle Müller hücreleri, retinal dejeneratif hastalıklarda gelecekteki hücre bazlı

terapötik yaklaşımlarda önemli bir etkiye sahip olacağı yapılan çalışmalarda gösterilmektedir (Reichenbach & Bringmann, 2013).

Müller Hücre Gliozu

Müller hücreleri, retinadaki hemen hemen her patolojik değişikliğe yanıt olarak ‘aktif’ veya ‘reaktif’ hale gelir. Bu reaksiyona Müller hücre gliyozu denir. Müller hücre gliyozu; mikrogliyal aktivasyonu, vasküler değişiklikleri ve lökositlerin retina dokusuna göçünü sağlayarak patolojik uyaranlara karşı retinanın tepkisini oluşturur (Bringmann & ark., 2006). Retinal hasarlardan sonra erken reaktif glioz, nöroprotektiftir ve doku hasarının derecesini sınırladığı düşünülür. Daha sonraki aşamalarda veya daha ciddi vakalarda glial skar oluşumu gözlenir ve Müller hücre fonksiyonunun bozulması nöron kaybına yol açabilir (Uğurlu, 2009).

Müller hücre gliyozunun başlatılması için mikrogliya ve Müller hücreleri arasında bir etkileşim gereklidir. Özellikle mikrogliyal hücreler, Müller hücreleri tarafından çeşitli trofik faktörlerin üretimini modüle eder. Bu trofik faktörlerden bazıları hayatta kalmayı destekler, bazıları da fotoreseptör hücrelerinin ölümünü destekler (Bringmann & ark., 2006). Reaktif Müller hücreleri, nöronları daha fazla hasardan koruma amacıyla FGF2 (fibroblast büyüme faktörü), CNTF (silier nörotrofik faktör), GDNF (Glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör) gibi bir dizi büyüme faktörünün sentezini ve salgılanmasını gerçekleştirir (Uğurlu, 2009). Patolojik koşullar altında ise Müller hücreleri, fotoreseptör kalıntılarının hızlı bir şekilde temizlenmesini destekler (Roesch & ark., 2008).

Müller hücre gliozu, hem spesifik olmayan tepkiler (örneğin nedensel uyarandan bağımsız stereotipik değişiklikler) hem de patojenik faktör veya mekanizmaya bağlı olan spesifik tepkiler ile karakterizedir. Retina hasarı için erken hücrel belirteç olarak kullanılabilecek, retina hastalıklarına ve yaralanmalara karşı en duyarlı spesifik olmayan yanıt, ara filament proteini olan glial fibriler asidik proteinin (GFAP) ekspresyonudur. Müller hücrelerinin spesifik gliotik tepkilerinin önemli örneği, normal olarak nörotransmitter geri dönüşümünde ve amonyak detoksifikasyonunda rol oynayan Müller hücrelerine özgü bir enzim olan glutamin sentetazın (GS) salınımındaki değişiktir. Işık veya retina dekolmanının neden olduğu fotoreseptör dejenerasyonu sonrasında meydana gelen glutamat salgılayan nöronların kaybından sonra Müller hücrelerinde GS ekspresyonu azalırken, hepatik retinopati sırasında dokuyu yüksek amonyak seviyelerinden arındırmak için GS aktivitesinin gerekli olduğu durumlarda artmış bir ekspresyon gözlenir (Bringmann & ark., 2006).

Yaralanmadan hemen sonra gliosis oluşumu nöroprotektif amaçlıdır ve nörotrofik faktörlerin ve antioksidanların salınması gibi dokuyu daha fazla hasardan korumaya yönelik hücrel bir girişimi temsil etmektedir. Bununla birlikte, aktive Müller hücreleri tarafından salınan vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi faktörlerden bazıları hem nöroprotektif hem de zararlı etkilere sahip olabilir; çünkü VEGF, vasküler sızıntıyı ve neovaskülarizasyonu indükleyerek hastalığın ilerlemesini şiddetlendirebilir. Benzer şekilde, iskemiye yanıt olarak ve erken diyabetik retinopatide Müller hücreleri, nitrik oksit sentetazın indüklenebilir formunun ekspresyonunu artırır. Enzimatik olarak oluşan nitrik oksit, retinal

damarları genişleterek iskemiye önler ve düşük nitrik oksit, N -metil-D- aspartat (NMDA) reseptör kanallarının kapanması aracılığıyla glutamat toksisitesine karşı nöronları korur (Bringmann & ark., 2006).

Müller Hücrelerinin Klinik Önemi

Müller hücrelerinin yerleşimleri dikkate alındığında, doku boyunca nöronal aktiviteyi etkileme ve bunlardan etkilenme konumundadır. Bu nedenle, radyal dağılımları nedeniyle retinal hasarı saptayan ilk glial hücrelerden biridir ve retina mikroçevresindeki herhangi bir değişikliğe hızlı yanıt verirler (Hoz & ark., 2016). Müller hücrelerinde işlev bozukluğu, proliferatif vitreoretinopati (PVR), diyabetik retinopati (DR), maküler ödem, retinal ven tıkanıklığı, maküler telenjiyektazi tip 2, yaşa bağlı maküler dejenerasyon (ARMD), retina dejenerasyonu, hepatik ve metanol kaynaklı retinopati ve glokom gibi vitreoretinal hastalıkların gelişmesine neden olabilir (Kobat & Turgut, 2020).

1. Retina Dekolmanı

Nöral retina, travma veya inflamatuvar göz hastalıklarında veya retinada delik ve yırtık varlığında pigment epitelinden ayrılabilir (Bringmann & ark., 2006). Ayrılma, fotoreseptörleri enerji besinlerinin kaynağı olan koryokapillaristen ayırır ve nöral retinanın dış katmanlarında hipoksi ve hipoglisemiye neden olur (Lewis & ark., 1999). Azalan enerji kaynağı fotoreseptör hücre ölümüne ve ardından retinal dejenerasyona neden olur (Mervin & ark., 1999). Ayrılmış retinadaki glial hücrelerin aktivasyonu, ayrılmanın oluşmasından hemen sonra başlar. Ayrılmadan sonra nöronlarda glutamat tükenirken, Müller hücrelerinde artan bir glutamin içeriği

görülür. Retina dekolmanında Müller hücreleri çoğalmaya başlar ve GFAP ve vimentinin ekspresyonu belirgin şekilde artar. Müller hücreleri, ayrılmış retinanın yüzeylerine göç eder ve burada çoğalır (Bringmann & ark., 2006).

2. Diyabetik Retinopati

Diabetes mellitus, klinik tablo ve patogenezi açısından, kendine özgü humoral ve dokusal değişimlerle karakterize, kronik hiperglisemi tablosuyla seyreden bir metabolizma hastalığıdır (İnan, 2012). Retinal hücre ölümü ile diyabetik retinopati gelişimi arasında güçlü bir ilişki vardır (Xi & ark., 2005). Diyabetik retinanın Müller hücrelerinde hem proliferasyon hem de apoptozis gözlenir (Bringmann & ark., 2006). Hiperglisemi apoptoz yoluyla Müller hücre ölümüne neden olmaktadır (Xi & ark., 2005). Diyabetik retinadaki fonksiyonel kayıp ve nöron ölümü Müller hücrelerindeki reaktif değişikliklere bağlanabilir (Bringmann & ark., 2006).

3. Diyabetik Maküler Ödem

Diyabetik maküler ödem (DMÖ) makula bölgesinde ekstrasellüler alanda sıvı birikimi ve buna eşlik eden retinal kalınlık artışı olarak tanımlanır. Sıvı birikimi sıklıkla maküler alanda özellikle dış pleksiform ve iç nükleer tabakada belirgindir (Parça, 2019). Müller hücreleri hücrelerarası sıvı transportundan ve ekstrasellüler sıvının retinal dolaşıma taşınmasından sorumludur. Diyabetik ödemden ilk etkilenen Müller hücreleridir. Müller hücre metabolizmasının bozulmasıyla birlikte, hücre içinde K^+ ve su birikir (Kerimoğlu & Türk, 2017). Retina ödemi, kan-retina bariyerinin açılmasından veya retina hücrelerinin şişmesinden kaynaklanabilir. Makula ödemi gelişiminin başlıca sebebinin damar

sızıntısı olduğu düşünölmektedir (Bringmann & ark., 2006). Hücresel şişme sonrasında apoptoz gelişir. Kan-retina bariyeri yıkımı meydana geldiğinde, sıvı interstisyel boşluğa geçer ve iç tabakalarda küçük kistlerin oluşumuna neden olur. Bu sıvı, dış tabakada daha büyük kistlerin meydana gelmesine yol açar (Kerimoğlu & Türk, 2017)

Kronik hiperglisemi, hiperkolesterolemi, ileri glikasyon son ürünleri, serbest oksijen radikalleri ve protein kinaz C aktivasyonu vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) düzeylerini artırır. VEGF aracılığıyla inflamatuvar hücre göçü ve adezyonu artar (Bringmann & ark., 2006). VEGF vasküler geçirgenliği artırdığı gibi endotel hücreleri üzerine mitojenik etkisi nedeniyle yeni damar oluşumlarını da tetikleyebilmektedir. VEGF endotel hücrelerinde lökosit aktivasyonuna ve sitokin üretimine neden olur. Ortama salınan sitokinler inflamatuvar cevabı uyarır ve daha fazla VEGF salınımına sebep olurlar (Kerimoğlu & Türk, 2017). Lökositler endotel disfonksiyonuna neden olur ve iç kan-retina bariyeri bozulur. Böylece biriken intraretinal ve subretinal sıvı, makula yapısını ve fonksiyonunu bozar. Makulada yoğun bulunan ve oblik seyreden Müller hücrelerinin şişerek hasar görmesi ve eksternal limitan membrandaki sıkı okludin bağlantının kaybı da kistoid forma dönüşüme katkı sağlar (Bringmann & ark., 2006).

Müller hücreleri, retinal interstisyel alanlardaki su ve iyonik konsantrasyonların homeostazını kontrol etmede en önemli aktörlerden biridir (Spaide, 2016). Makuler ödemin etkili tedavisi için hem vasküler sızıntının inhibisyonunu hem de Müller hücreleri yoluyla birleştirilmiş osmolit ve su taşınmasının uyarılmasının gerektiği düşünölmektedir (Bringmann & ark., 2006). Müller

hücreleri, temel olarak Kir2.1 ve Kir4.1 kanalları aracılığıyla hücre içi K^+ konsantrasyonundaki değişiklikleri tamponlayabilir. Hücreler arası K^+ hareketi Müller hücrelerine doğru gerçekleşir ve ardından K^+ iyonlarının vitreusa veya kan damarlarına aktarılmasıyla tamponlanır. K^+ iyonları taşındığında, ayrıca suyun aquaporin 4 kanallarından da hareket etmesi indüklenir (Spaide, 2016).

4. Proliferatif Retinopatiler

Proliferatif vitreoretinopati (PVR), retina dekolmanı cerrahisinin sık görülen bir komplikasyonudur. PVR'nin uyumsuz, aşırı uyarılmış bir yara iyileşme sürecini temsil ettiği ileri sürülmektedir. Müller hücreleri de dahil olmak üzere retinal hücrelerin güçlü proliferasyonu ve retinanın her iki yüzeyinde fibroblastlar membranların oluşumu ile karakterize edilen bir hastalıktır (Bringmann & ark., 2006).

Yapılan çalışmalar, Müller hücrelerinin VEGF ve birçok önemli büyüme faktörünün fonksiyonel kaynağını temsil ettiğini ve bu nedenle fibrovasküler olayların ilerlemesini yönlendirebildiğini göstermektedir. Fibrovasküler doku retinadan vitreal boşluğa doğru ilerler ve bu dokudan kaynaklanan traksiyon kuvvetleri retina anatomisini tehdit ederek cerrahi müdahaleyi gerektirir (Guidry, King & Mason, 2009).

5. İskemi-Reperfüzyon

Retinal iskemi, yaygın görülen bir klinik tablodur. İskemi, bir dokuya kan akışının yetersizliğini ve buna bağlı olarak da hücreler enerji yetersizliği ile sonuçlanan patolojik bir durumu ifade eder (Osborne & ark., 2004).

İskemiye eşlik eden nöronal hücre kaybı esas olarak aşırı miktarda glutamat birikmesinden ve iyonotropik glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılmasından kaynaklanır. Müller hücreleri tarafından eksprese edilen glutamat taşıyıcı GLAST, retinadaki iskemik hasarı hafifletir. Retinal iskemi sırasında, glutamat nöronlardan giderek daha fazla salınırken, Müller hücrelerini depolarize eden yüksek hücre dışı K^+ nedeniyle glutamat alımı azalır (Bringmann & ark., 2006).

6. Hepatik Retinopati

Karaciğer yetmezliği olan hastalarda hepatik retinopati olarak adlandırılan retina bozukluğu gözlenir (Jung & Kim 2018). Hepatik retinopatinin, karaciğer yetmezliği olan hastalarda serum amonyak düzeyinin yüksek olmasından kaynaklandığı varsayılmaktadır. Birincil patolojik değişiklikler Müller hücrelerinde ve retina astrositlerinde bulunur (Bringmann & ark., 2006). Müller hücrelerinin şişmesi, vakuolizasyonu ve nekrozu hepatik retinopatinin karakteristik özellikleridir (Jung & Kim, 2018).

Retinada, fazla amonyağın detoksifikasyonu yalnızca Müller hücrelerinde amonyak ve glutamattan glutamin oluşumuyla gerçekleşir. Amonyağı detoksifiye etme gerekliliğinin neden olduğu yüksek metabolik aktivite, hücre çekirdeklerinin genişlemesi, glikojen tükenmesi ve mitokondrilerin şişmesine neden olur. Hücre şişmesi, vakuolizasyon, artan GFAP ve GS içeriği, K^+ kanallarının baskılanması ve membran depolarizasyonu gibi karakteristik Müller hücre değişiklikleri, artan amonyak seviyeleri ile ilişkilidir (Bringmann & ark., 2006).

7. Retinitis Pigmentosa

Retinitis pigmentosa (RP), fotoreseptör kaybının neden olduğu ve fundus muayenesinde görülebilen retina pigment birikimleri ile karakterize kalıtsal bir retina distrofidir (Hamel, 2006). Retinitis pigmentozada, fotoreseptör hücreleri ve iç retina nöronları ağırlıklı olarak apoptozis yoluyla ölür. Temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF veya FGF-2), beyinden türetilen nörotrofik faktör (BDNF), siliyer nörotrofik faktör (CNTF) ve GDNF gibi nörotrofik faktörler apoptozu inhibe eder ve retinal nöronların ve fotoreseptör hücrelerin hayatta kalmasını destekler. Müller hücreleri, özellikle nörotrofik faktörlerin salınımı ve bu faktörlerin etkilerine aracılık ederek, retina nöronlarının ve fotoreseptör hücrelerinin ölümü ve hayatta kalmasının düzenlenmesinde aktif rol oynar (Bringmann & ark., 2006).

Sonuç

Bu çalışmada, Müller hücrelerinin yapısı ve fonksiyonlarını açıklamayı amaçladık. Retina üzerinde yapısal ve metabolik açıdan kritik bir role sahip olan Müller hücrelerinde meydana gelen fonksiyon bozuklukları; retina dekolmanı, proliferatif retinopati, diyabetik retinopati, hepatik retinopati ve makula ödemi gibi çeşitli vitreoretinal hastalıkların gelişimine yol açabilmektedir. Bu hücrelerin işlevleri ve bu işlevlerin bozulmasının sonuçlarını daha iyi anlamak, bazı vitreoretinal hastalıklar için yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde büyük bir öneme sahiptir.

Müller hücrelerinin yapısal ve moleküler mekanizmaların incelenmesi, günümüzde aktif bir araştırma konusudur. Son yıllarda bu konuda önemli veriler elde edilmesine rağmen, bu araştırma alanı

hala başlangıç aşamasındadır ve yanıtlanmayı bekleyen birçok temel soru bulunmaktadır. Bu soruların yanıtlanabilmesi için daha kapsamlı ve derinlemesine çalışmalar yapılması gerektiği açıktır. Gelecek araştırmalar, bu hücrelerin fonksiyonlarını daha ayrıntılı bir şekilde inceleyerek, vitreoretinal hastalıkların tedaviye yönelik yeni stratejiler geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

Bakırcı Ç.M. (2013). Gözümüzde Bulunan Müller Hücreleri Nedir?. Evrim Ağacı. Erişim tarihi, 29 Kasım 2022. Erişim adresi, from <https://evrimagaci.org/s/1370>

Bringmann, A., Francke, M., Grosche, J., Osborne, N.N., Pannicke, T., Reichenbach, A., Skatchkov, S.N. & Wiedemann, P. (2006). Müller cells in the healthy and diseased retina. Progress in Retinal and Eye Research, 25(4), 397-424. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2006.05.003>

Bringmann, A., Grosche, A., Pannicke, T. & Reichenbach, A. (2013). GABA and glutamate uptake and metabolism in retinal glial (Müller) cells. Frontiers in endocrinology, 4, 48. <https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00048>

Bringmann, A., Iandiev, I., Pannicke, T., Wurm, A., Hollborn, M., Wiedemann, P., Osborne N. N. & Reichenbach, A. (2009). Cellular signaling and factors involved in Müller cell gliosis: neuroprotective and detrimental effects. Progress in retinal and eye research, 28(6), 423-451. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2009.07.001>

Çerman, E., Yenice, Ö. & Kazokoğlu, H. (2011). Diyabetik Maküla Ödeminde Patogenez. Retina-Vitreus/Journal of Retina-Vitreous, 19(3).

Connors, N. C., & Kofuji, P. (2006). Potassium channel Kir4.1 macromolecular complex in retinal glial cells. Glia, 53(2), 124-131. <https://doi.org/10.1002/glia.20271>

Eastlake, K., Luis, J. & Limb, G.A. (2020). Potential of Müller glia for retina neuroprotection. *Current eye research*, 45(3), 339-348. <https://doi.org/10.1080/02713683.2019.1648831>

Eastlake, K., Wang, W., Jayaram, H., Murray-Dunning, C., Carr, A. J., Ramsden, C. M., Vugler A., Gore K., Clemon N., Stewart M., Coffey P., Khaw P. T. & Limb, G. A. (2019). Phenotypic and functional characterization of müller glia isolated from induced pluripotent stem cell-derived retinal organoids: improvement of retinal ganglion cell function upon transplantation. *Stem Cells Translational Medicine*, 8(8), 775-784. <https://doi.org/10.1002/sctm.18-0263>

Emre, M. (2020). Potasyum İyon Kanallarının Yapısı ve Genel Özellikleri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 29(4), 276-290. Doi:10.17827/aktd.855712

Franze, K., Foça, C., Grosche, J., Guck, J., Reichenbach, A., Schild, D., Schinkinger, S., Skatchkov, S.N., Travis, K. & Uckermann, O. (2007). Müller cells are living optical fibers in the vertebrate retina. *PNAS: Living optical fibers*, 104(20). <https://doi.org/10.1073/pnas.0611180104>

Guidry, C., King, J.L. & Mason, J.O., (2009). Fibrocontractive müller cell phenotypes in proliferative diabetic retinopathy, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 50(4):1929-1939. <https://doi.org/10.1167/iovs.08-2475>

Hamel, C. (2006). Retinitis pigmentosa. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 1, 40. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-1-40>

Hamon, A., Perron, M., Roger, J.E. & Yang, X.J. (2016). Müller glial cell-dependent regeneration of the neural retina: An overview across vertebrate model systems. *Developmental Dynamics*, 245(7), 727-738. <https://doi.org/10.1002/dvdy.24375>

Hoz, R., Gallego, B.I., Ramírez, A.I., Ramírez, J.M., Rojas, B., Salazar, J.J. & Triviño, A. (2016). Retinal macroglial responses in health and disease. *BioMed Research International* 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/2954721>

İnan, S., (2012). Diabetik retinopati ve etiyopatogenezi. *Kocatepe Tıp Dergisi Kocatepe Medical Journal*, 15(2), s: 207-217. <https://doi.org/10.18229/ktd.56779>

Jung, E. & Kim, J. (2018). Aloin Inhibits Müller Cells Swelling in a Rat Model of Thioacetamide-Induced Hepatic Retinopathy. *Molecules*, 23(11), 2806. <https://doi.org/10.3390/molecules23112806>

Kerimoğlu, H. & Türk, H.B., (2018). Diyabetik retinopati ve diyabetik maküla ödeminde patogenezi.

Kobat, S., Turgut, B. (2020). Importance of Müller cells. *Beyoğlu Eye J*, 5(2), 59-63. Doi:10.14744/bej.2020.28290

Kolb, H. (2007). Glial cells of the retina by Helga Kolb, The Organization of the Retina and Visual System. Eds: Kolb H, Nelson R, Fernandez E, Jones B, Webvision.

Kulualp, M. & Genç, B. (2023). Reseptörler ve Duyu Organları, *Veteriner Özel Histoloji*, 5. Baskı, Malatya, Medipres Yayıncılık, s. 399.

Lewis, G., Mervin, K., Valter, K., Maslim, J., Kappel, P.J., Stone, J. & Fisher, S., (1999). Limiting the proliferation and reactivity of retinal Müller cells during experimental retinal detachment: the value of oxygen supplementation, *American Journal of Ophthalmology*, Volume 128, Issue 2, 165-172. [https://doi.org/10.1016/S0002-9394\(99\)00103-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9394(99)00103-8)

Liu, B., Avcı, D.J., Chen, S., Helms, J.A. & Smith, A.A. (2014). The capacity of neural crest-derived stem cells for ocular repair. *Birth Defects Research, Part C: Embryo Today: Reviews*, 102(3), 299-308. <https://doi.org/10.1002/bdrc.21077>

Liu, Y., Wang, C. & Su, G. (2019). Cellular signaling in Müller glia: progenitor cells for regenerative and neuroprotective responses in pharmacological models of retinal degeneration, *J Ophthalmol*, 2019, 5743109. <https://doi.org/10.1155/2019/5743109>

Mervin, K., Valter, K., Maslim, J., Lewis, G., Fisher, S. & Stone, J., (1999). Limiting photoreceptor death and deconstruction during experimental retinal detachment: the value of oxygen supplementation, *American Journal of Ophthalmology*, Volume 128, Issue 2, 155-164. [https://doi.org/10.1016/S0002-9394\(99\)00104-X](https://doi.org/10.1016/S0002-9394(99)00104-X)

Müller, H. (1856). *Untersuchungen über den Bau der Retina des Menschen*. Leipzig.

Netti, V.A., White, A., Di Giusto, G., Fernández, J., Ford, P., Echevarría, M. & Capurro, C.G. (2020). Aquaporin-4 facilitates cell proliferation in retinal müller cells: implications in neuromyelitis optica.

Newman, E. & Reichenbach, A. (1996). The Müller cell: a functional element of the retina. *Trends in Neurosciences*, 19(8), 307-312. Doi: 10.1016/0166-2236(96)10040-0

Osborne, N.N., Casson, J.R., Wood, J.P.M., Chidlow, G., Graham, M. & Melena, J. (2004). Retinal ischemia: mechanisms of damage and potential therapeutic strategies, *Progress in Retinal and Eye Research*, volume 23, Issue 1, pages 91-147. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2003.12.001>

Parça, O. (2019). Santral diyabetik maküla ödemi tedavisinde gerçek yaşam verileri.

Pfeiffer, R.L., Marc, R.E. & Jones, W.B. (2020). Müller cell metabolic signatures: evolutionary conservation and disruption in disease. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 31(4), 320-329. Doi: 10.1016/j.tem.2020.01.005

Poitry, S., Poitry-Yamate, C., Ueberfeld, J., MacLeish, P. R., & Tsacopoulos, M. (2000). Mechanisms of glutamate metabolic signaling in retinal glial (Müller) cells. *Journal of Neuroscience*, 20(5), 1809-1821. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-05-01809.2000>

Reichenbach, A. & Bringmann, A. (2013). New functions of Müller cells. *Glia* 61(5), 651-678. <https://doi.org/10.1002/glia.22477>

Roesch, K., Cepko, C.L., Jadhav, A.P., Roska, B., Stadler, M.B., Sun, B.B. & Trimarchi, J.M. (2008). The transcriptome of retinal Müller glial cells. *J Comp Neurol*. 509(2), 225–238. <https://doi.org/10.1002/cne.21730>

Spaide, R.F. (2016). Retinal vascular cystoid macular edema: review and new theory. *Retina*, 36(10), 1823-1842. Doi: 10.1097/IAE.0000000000001158

Taylor, S., Srinivasan, B., Wordinger, R.J. & Roque, R.S. (2003). Glutamate stimulates neurotrophin expression in cultured Müller cells. *Molecular brain research*, 111(1-2), 189-197. [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(03\)00030-5](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(03)00030-5)

Toft-Kehler, A.K., Skytt, D.M., Poulsen, K.A., Brændstrup, C.T., Gegelashvili, G., Waagepetersen, H. & Kolko, M., (2014). Limited energy supply in Müller cells alters glutamate uptake. *Neurochemical research*, 39, 941-949. <https://doi.org/10.1007/s11064-014-1289-z>

Too, L.K. & Simunovic, M.P. (2021). Retinal stem/progenitor cells derived from adult Müller glia for the treatment of retinal degeneration. *Front. Cell Dev. Biol*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.749131>

Uğurlu, A. (2009). Negative regulation of Müller reprogramming by SIK2. Yüksek Lisans Tezi, Molecular Biology and Genetics, Boğaziçi University, İstanbul.

Wang, J., Farsiu, S., Kay, J.N., Mukherjee, D., O'Sullivan, M.L. & Puñal, V.M. (2017). Anatomy and spatial organization of Müller glia in mouse retina. *J Comp Neurol*, 525(8), 1759-1777. <https://doi.org/10.1002/cne.24153>

Xi, X., Gao, L., Hatala, D.A., Smith, D.G., Codisoti, M.C., Gong, B., Kern, T.S. & Zhang, J.Z. (2005). Chronically elevated glucose-induced apoptosis is mediated by inactivation of Akt in

cultured Müller cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 326, i. 3, p. 548-553.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.11.064>

BÖLÜM VII

HOX Genlerin Dişi Genital Sistemdeki Yeri ve Roller

Uğur TOPALOĞLU¹
Mehmet Erdem AKBALIK²

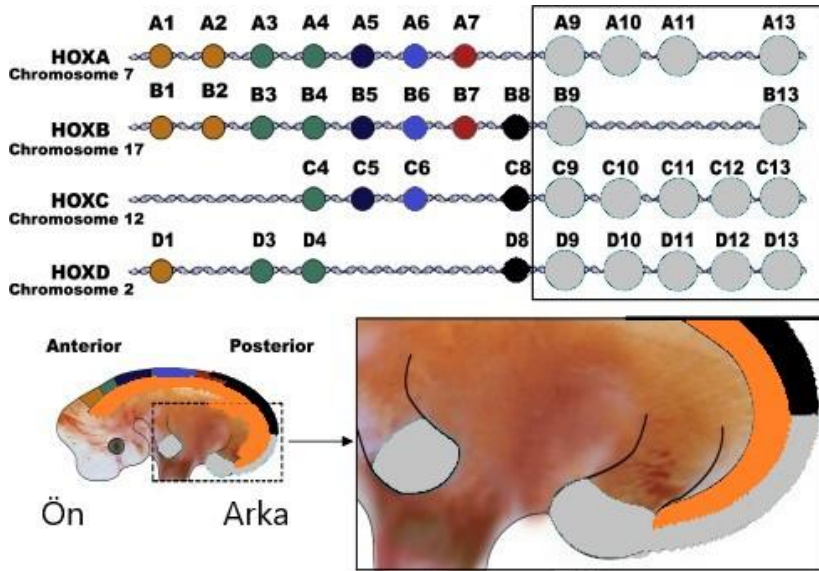
Giriş

HOX/Hox genleri, organizma segmentlerinin, antero-posterior veya kranio-kaudal eksen boyunca konumsal kimliğini belirleyen ve evrimsel olarak korunan çok genli bir aile olarak tanımlanır (Ekanayake & ark., 2022). HOX genleri ilk olarak Drosophila'da yapılan çalışmalar neticesinde tanımlanmış, dizilenmiş ve klonlanmıştır. Bunun sonucunda da HOX genlerinin gelişimsel

¹Doç. Dr. Uğur TOPALOĞLU, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır/Türkiye, Orcid: 0000-0002-8306-491X, ugur.topaloglu@dicle.edu.tr

² Prof. Dr. Mehmet Erdem AKBALIK, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır/Türkiye, Orcid: 0000-0001-9898-0593, erdem_akbalik@hotmail.com

kimliğin ana düzenleyicileri oldukları belirlenmiştir. Daha sonra yapılan araştırmalarda çeşitli HOX/Hox genleri birçok memeli türünde de tanımlanmıştır (Du & Taylor, 2016; Taylor, 2000). Tanımlanan Hox genleri memelilerde, kümeler halinde bitişik olarak yer alırken küme sayısı anatomik konuma göre değişir. HOX/Hox gen ailesi, insan ve farelerde sırası ile A/a, B/b, C/c, D/d harfleri ile gösterilen dört farklı kümeye dağılmış en az 39 HOX/Hox geninden meydana gelir. Bu kümelerin her biri 9 ile 13 gen içerip, sırasıyla 17q21, 7p14, 12q13 ve 2q31 kromozomlarına yerleşmiştir (Ekanayake & ark., 2022; Du & Taylor, 2016; Daftary & Taylor, 2006; Hubert & Wellik, 2024). Dört küme arasında örtüşen ekspresyon kalıpları doku ve organlar için genetiksel yönden yedek bir potansiyel olarak görev alır. Yani bir kümedeki tek bir genin homeotik dönüşümü bir paralog tarafından telafi edilebileceği ancak çift veya üçlü HOX/Hox gen mutasyonları sonucunda ise önemli fenotipik sonuçların doğacağı ifade edilmiştir (Ekanayake & ark., 2022). Omurgalılarda çoğaltılmış her Hox genine paralog denir. Bu terim genomik konuma, DNA dizisinin benzerliğine ve ekspresyona göre sınıflandırılmış bir tür içindeki ortolog Hox genlerini tanımlar. Örneğin; farelerde A, B ve D kümelerinde bulunan Hox1 paralog grubunun; Hoxa1, Hoxb1 ve Hoxd1 olacak şekilde üç üyesi vardır (Hubert & Wellik, 2024). Memelilerde sırasıyla 7, 17, 12 ve 2. kromozomlara yerleşmiş paralog hox genlerinin; 3' geni daha erken ve embriyonun rostral ile ön bölgelerinde eksprese olurken, 5' genleri daha sonra, kaudal ve daha arka bölgelerde eksprese olur. 9 ile 13. Hox genlerinin uzuv taslaklarında ve genital sistem dahil vücudun arka distal segmentlerinde eksprese olduğu gösterilmiştir (Zanatta & ark., 2010) (Şekil 1'de).

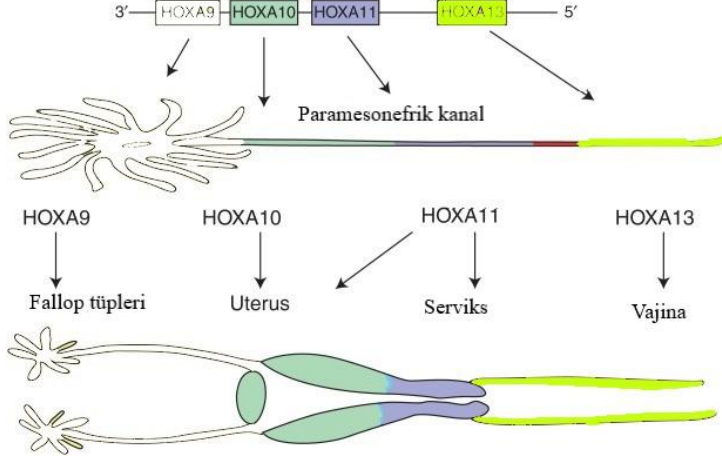


Şekil 1. Paralog Hox genlerinin sınıflandırılması ve embriyonun segmentlerine göre dağılımlarının gösterilmesi (Zanatta & ark., 2010)

Hox genleri; başta embriyogenezis olmak üzere embriyonik gelişim süresince oluşan doku ve organların morfogenezinin kontrolünü sağlamakla görevlidir. Ayrıca HOX/Hox genleri, omurlar ve uzuvlar gibi çeşitli vücut parçalarının üç boyutlu morfogenezisinde rol alır. Gelişim sırasında embriyonun aldığı genel şekil, HOX/Hox proteinlerinin ve yardımcı faktörlerinin eylemleri ve doğal olarak ekspresyonlarının, DNA düzenleyici unsurları tarafından kontrol edildiği yönünde rapor edilmiştir (Lufkin, 2005). Yine yapılan araştırmalarda HOX/Hox genlerinin doğum sonrası ve yetişkinlerde gözlemlendiği, bununla birlikte yetişkinlerde HOX/Hox genlerinin dişi üreme sisteminde, dermiste, akciğerde, kaslarda, hematopoietik sistemde, sinovyal kıkırdakta, sinir sisteminde, iskelette ve diğer dokularda eksprese olduğu gösterilmiştir (Hubert

& Wellik, 2024; Giampaolo & ark., 1994; Hutlet & ark., 2021; Rux & ark., 2021).

HOX/Hox genlerinin dişi üreme sistemindeki varlığı ve rolü ile ilgili çok sayıda çalışmaya rastlanılmıştır. Dişi üreme sisteminin morfolojik olarak farklılaşmasına, döngüsel endometriyal değişikliklere ve embriyo implantasyonunda HOX/Hox genlerinin doğrudan bir etkisi olduğu rapor edilmiştir (Ekanayake & ark., 2022). Gebeliğin ilk aşaması olan implantasyon; gelişmekte olan embriyo ile alıcı hale gelen endometriyum arasında senkronizasyon gerektiren karmaşık bir süreçtir. Bu sürecin, transkripsiyon faktörlerini kodlayan HOX/Hox genlerinin moleküler mekanizması tarafından kontrol edildiği belirtilmiştir (Vitiello, Kodaman & Taylor, 2007). İmplantasyon sonrası gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak dişi üreme sistemi, nihayetinde fallop tüpüne (yumurta kanalı), uterusu, servikse ve vaginanın üst kısmına dönüşen parametonefrik (Müllerian) kanaldan türeyerek gelişmektedir. Müllerian kanalındaki HOX genlerinin farklı ekspresyonları, dişi üreme kanalının gelişimini şekillendirir. Gelişen Müllerian kanalında, bir dizi posterior Abdominal B (Abd-B) HOX geninin A-P eksenini boyunca kısmen örtüşen desenlerde eksprese olduğu gözlenmiştir. Omurgalılarda, HOX/Hoxa9-13 paralog gruplarındaki HOX genlerinin, Müllerian kanalının gelişimi süresince karakteristik bir mekansal dağılım gösterdikleri bildirilmiştir (Du & Taylor, 2016; Taylor, 2000; Goodman, 2002; Taylor, Van den Heuvel & Igarashi, 1997). (Şekil 2’de).



Şekil 2: Müllerian kanalın gelişimini kodlayan HOX genlerinin karakteristik olarak mekansal dağılımı (Du & Taylor, 2016)

Dişi genital kanalında dağılım gösteren HOXA/Hoxa10 ve HOXA/Hoxa11'in, insan ve fare endometriyumundaki işlevsel değişimler dahil olmak üzere uterus morfolojisi ve farklılaşmasının kontrolünü sağlayan genler oldukları ifade edilmiştir (Ekanayake & ark., 2022). Bunlarla birlikte HOXA/Hoxa10 genin esas olarak yetişkin uterus ortamında meydana getirdiği değişiklikler sonucu doğurganlık için belirteç olarak ortaya çıkan ilk gen olduğuna dikkat çekilmiştir (Ekanayake & ark., 2022; Du & Taylor, 2016; Daftary & Taylor, 2006; Modi & Godbole, 2009). HOX/Hox kümelerinin 5' ucu arasında, embriyonik dönemde uterusun organogenezini düzenleyen Hoxa10 ve Hoxa11'in, adet döngüsü boyunca yetişkin endometriyumunda belirgin bir düzeyde oldukları gösterilmiştir. Ayrıca östrojen ve progesteron hormonlarının, Hoxa10 ve Hoxa11 ile sinerjik etkileşim içerisinde olduğu belirtilmiştir (Eun Kwon &

Taylor, 2004). Hox A geninin paralog genleri olarak benzer görevlere sahip olan Hox C ve Hox D genleri, HoxA genlerinin sahip olduğu başta endometrial proliferasyonun düzenlemesi gibi birçok role sahip olmaya aday oldukları rapor edilmiştir. Bununla ilgili yapılan bir çalışmada uterusun gelişimi ve düzenlenmesinde belirteç olarak görülen HOXA10 genin uterustaki ekspresyonu ile birlikte; HOXA9, HOXA11 ve HOXD10'nun da uterus ve dişi üreme kanalında eksprese olduğu bildirilmiştir. Ekspresyon HOXA9 için fallop tüpünü oluşturan bölgelerde, HOXA10 için gelişmekte olan uterusta, HOXA11 için gelişmekte olan uterusun alt kısmında ve servikte gözlenirken, HOXD10 ise gelişmekte olan üreme kanalında görülmüştür. Böylece bu genlerin başta implantasyon olmak üzere dişi üreme kanalının oluşumu ve gelişiminde kritik rollere sahip olabildikleri ve bu genlerin mutasyonları sonucunda infertilitenin şekillendiği bildirilmiştir. Özellikle Hoxa10 veya Hoxa11 ekspresyonunun olmaması sonucunda ise anormal uterus morfolojisi ve kısırlığın meydana geldiğine dikkat çekilmiştir (Xu & ark., 2014; Small & Potter, 1993; Satokata, Benson & Maas, 1995; Wong, Wintch & Capecchi, 2004). Bir başka araştırmada Hoxa9, Hoxa10, Hoxa11 ve Hoxa13 genlerinin, posterior olarak ifade edilen Drosophila geni abdominal-B'nin (Abd-B) homologları oldukları belirtilmiştir. Memelilerde, bu genlerin Müllerian kanallarının yetişkin genital yapılara farklılaşmasını düzenlediği ve hem kanal epitelinde hem de yan yana yerleşmiş stromal hücrelerde yüksek oranda eksprese oldukları rapor edilmiştir. Farelerde farklılaşma sürecinin en yoğun olduğu dönem olarak bilinen doğumdan sonraki iki hafta; Hoxa9, Hoxa10, Hoxa11 ve Hoxa13'ün kanal boyunca karakteristik yerlere göre dağılımları görülmüştür. Buna göre,

Hoxa9'un fallop tüpüyle sınırlı, Hoxa10'nun uterus epiteli, stroma ve kas dokuda, Hoxa11'in, servikal bez ve epitelde eksprese oldukları gözlenirken Hoxa13'ün vaginal epitelde güçlü bir şekilde eksprese olduğu tespit edilmiştir (Zanatta & ark., 2010; Taylor, Vanden Heuvel & Igarashi, 1997; Şekil 2). Bunlarla birlikte bu genlerin özellikle HoxA10 ve 11'in endometriyum hücrelerinin bölünmesi, çoğalıp farklılaşması ve menstrual döngünün düzenlenmesinin yanı sıra endometriozis etiyolojisinin teşhis edilmesinde kritik rollere sahip olduğu rapor edilmiştir (Zanatta & ark., 2010). Genelde dişi üreme sisteminde HOXA gen kümesinin en çok eksprese olan küme olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte HOXA genlerinin paraloglarından olan HOXB9'un ekspresyon yoğunluğunun servikte zayıf olduğu gösterilmiştir. HOXC kümesinin birçok üyesinin ise dişi üreme kanalında negatif olduğu, ancak HOXC9 ve HOXC10 genlerinin fallop tüpünde zayıf bir şekilde tespit edildiği bildirilmiştir. HOXD gen kümesinin şekillendirdiği ekspresyona bakıldığında; HOXD9'un fallop tüplerinde, endometriyumda ve servikte, HOXD10'nun endometriyumda ve servikte, HOXD11'in sadece endometriyumda, HOXD13'ün ise sadece servikte pozitif olduğu bildirilmiştir. Böylece bu genlerin dişi genital sisteminin gelişimi ve fizyolojik fonksiyonlarının yerine getirilmesinde kritik rollere sahip oldukları rapor edilmiştir (Ashary, Laheri & Modi, 2020). Ayrıca endometrial büyüme, farklılaşma ve implantasyon için gerekli oldukları bilinen HOXA10 ve HOXA11 ekspresyonlarının seks steroidleri ile doğrudan ilişki içerisinde oldukları belirtilmiştir. Ancak, endometrioziste HOXA10 ve HOXA11 ekspresyon yoğunluk seviyesinde azalma meydana geldiği ve buna da değişmiş

progesteron reseptörünün azalmış ekspresyonu ve aktivitesi, veya düzensiz progesteron yanıtının sebep olabileceği ifade edilmiştir. Böylece bu genlerin, ekspresyon yoğunluk seviyelerinde azalma görülmesi, doğrudan endometriozis ile ilişkili olduğu ve bu genlerin endometriozisin teşhis ve tedavisinde belirteç olabileceklerini göstermiştir (Çakmak & Taylor, 2010). Bir diğer çalışmada normal ve tümör gelişen endometriyumda HOX genlerinin ekspresyon seviyelerinde belirgin farklılıklar olduğu görülmüştür. Bu farklılıkların HOX genlerinden kaynaklanma durumuna göre tümör dokularındaki yukarı ve aşağı regülasyonunu düzenlediğini ve HOX genlerinin uterus kanserinin oluşumunda ve gelişiminde hayati bir rol oynadıkları bildirilmiştir. Çalışmada endometriyal tümör olan dokularda HOXB 5, HOXB 7, HOXB 9 ve HOXB 13 genlerinin ekspresyonu genel olarak normal endometrial dokudakinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bunların yanı sıra çalışmada farklı gen olarak HOXA 3, HOXA 4, HOXA 7, HOXA 9 ve HOXA 10'un da tümör dokularındaki sitoplazma ve çekirdekte normal dokulara oranla daha güçlü ekspresyon gösterdiği bildirilmiştir. Bu sonuçlar, HOX ekspresyon düzeylerinin normal dokulardan tümör dokularına doğru kademeli olarak arttığı ve bunun da HOX'ların endometriyum kanseri oluşumunu ve gelişimini düzenleyen bir protoonkogenik gen olarak hareket edebileceğini ortaya koymuştur (Yang & ark., 2024).

HOX genlerinin ovaryumlardaki varlığı ve rolü ile ilgili yapılan çalışmada; sığır ve fare ovaryumlarında HOXD1/Hoxd1, HOXA3/Hoxa3, HOXD4, HOXB7, HOXB9/Hoxb9 ve HOXC9/Hoxc9 genlerinin eksprese olduğu bildirilmiştir. Böylece bu genlerin; oositlerin olgunlaşması ve farklılaşması ile birlikte maternal-embriyonik geçişin kontrolünde önemli rollere sahip

oldukları ifade edilmiştir (Paul & ark., 2011). HOXA4, HOXA7 ve HOXA9 genlerinin normal ve neoplastik ovaryum epitel hücrelerinde değişen yoğunluk seviyelerinde eksprese olduğu gösterilmiştir. Normal ovaryum epitel hücrelerindeki ekspresyon seviyesinin, ovaryumdaki hücre dağılımına ve fizyolojik fonksiyonlara göre değiştiği ifade edilmiştir. Ayrıca ekspresyonun, ovaryum epitel hücrelerindeki tümörün invazivliği, hücre hareketlerinin artması ve farklılaşmasına paralel şekilde arttığı da bildirilmiştir (Ota & ark., 2009; Verlinsky & ark., 1995). Bunlara paralel şekilde insan ovaryumundaki HOXA7 ekspresyon yoğunluğunun folikülogenezis aşamasındaki ilkel foliküllerde yok denecek kadar az olduğu, birincil ve olgun foliküllerde ise yüksek seviyelerde olduğu rapor edilmiştir. HOXA7'nin ekspresyon seviyelerindeki bu farklılık; insan ovaryum folikülogenezi sırasındaki hücre tipine ve folikül evresine göre değiştiği belirtilmiştir. Böylece HOXA7 geninin ovaryum foliküllerinin proliferatif aktivitelerini düzenlediğine ve folikülerin olgunlaşmasında önemli bir rol oynadığına dikkat çekilmiştir (Ota & ark., 2006; Ota & ark., 2008; Zhang & ark., 2010). Bir diğer çalışmada normal ovaryumlarda düşük düzeyde ekspresyon gösteren HOXB13'ün; ovulasyon ve menstruel kanama sonucu oluşan ovaryum ve endometriyum epitel hücrelerinin hasarlı kısımlarının iyileşmesinde kritik bir işleve sahip olduğu rapor edilmiştir (Yamashita & ark., 2006). Bir diğer çalışmada HOXD10'nun; ovaryum kanserinin oluşumunda, gelişiminde ve metabolizmasında yer aldığı bildirilmiştir. Bunun sonucunda HOXD10 geninin ovaryum epitel kanserinin tedavisi için potansiyel bir belirteç olabileceği ifade edilmiştir (Hsu & ark., 2024).

HOX genlerinin dişi genital kanaldaki fallop tüpü (ovidukt) ve vaginadaki ekspresyonları ve rolleri ile ilgili araştırmaların oldukça kısıtlı olduğu g r lm şt r. Daha  nceki çalışmalarda (Xu & ark., 2014; Zanatta & ark., 2010) bildirildiği gibi HOXA9/Hoxa9 geninin fallop tüpünde eksprese olduğu ve bununla birlikte kısmen de olsa HOXA10'nun minimal seviyelerde ekspresyon gösterdiği bildirilmiştir. Minimal olarak gözlenen bu ekspresyon seviyenin de ektopik gebeliklerde ciddi bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Böylece fallop tüpünde aşırı artış gösteren HOXA10'nun ektopik implantasyonun oluşumu ve gelişimi ile doğrudan bir ilişki içerisinde olabileceği rapor edilmiştir (Salih & Taylor, 2004). Dişi  reme kanalının gelişimi sırasında vaginada eksprese olduğu bilinen HOXA13' n, üreme kanalında meydana gelen anomaliler durumunda HOXA10 ile birlikte vagina ve uterus anomalilerinde klinik olarak rol oynadıkları bildirilmiştir (Ekici & ark., 2013). İnsanlarda paramезonefrik (Müllerian) kanalın gelişimsel aplazisi olarak bilinen uterus ve vaginanın konjenital yokluğunun HOXA10 geninin mutasyonu sonucu oluştuğu rapor edilmiştir. Bunun sonucunda da bu genin, vagina ile uterusun gelişimi ve fizyolojisi için kritik bir öneme sahip olduğu belirtilmiştir (Lalwani & ark., 2008).

Sonuc

HOX genleri; transkripsiyon faktörlerini kodlayan, normal hücre büyümesi ve farklılaşmasını düzenleyen, doku kimliğinin temel belirleyicileri olarak tanımlanmıştır (Mark, Rijli & Chambon, 1997; Veraksa, Del-Campo & McGinnis, 2000; Villaescusa & ark., 2004). HOX genleri, dişi üreme kanalının embriyonik gelişimi sırasında pozisyonel kimliğin belirlenmesinde temel bir rol

oynamaktadır. Ayrıca bu genlerin mutasyonları ve normal ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler sonucunda üreme kanalının gelişiminde anormalliklerin şekillendiği belirlenmiştir. Dişı genital sistemde özellikle HOXA10 ve HOXA11 genlerinin önemli bir yer tuttuğu görölmektedir. Bu genlerin uterus biyogenezisi, yetişkin endometriyumunda endometriyal reseptivite, embriyo implantasyonu ve stromal hücre desidualizasyonu için vazgeçilmez oldukları düşünölmüştür. Ayrıca endometrial hiperplazi, endometrial kanser, adenomyozis, tekrarlayan implantasyon başarısızlığı, endometriozis ve açıklanamayan infertilite gibi çoğu çoklu durumun doğrudan bu genlerle ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Du & Taylor, 2016; Mishra & Modi, 2024). Bu bilgiler ışığında HOX genlerinin; dişı üreme sisteminin gelişimi ve fizyolojisinin yanı sıra dişı üreme sistemi ile ilgili hastalıkların teşhis ve tedavisindeki rollerinin önemli olduğu açık bir şekilde görölmüştür. Bu nedenle derlememiz, HOX/Hox genlerinin dişı üreme sisteminde yapılacak yeni çalışmalara literatür katkısı vereceğini kanısını taşımaktayız.

Kaynakça

Ashary, N., Laheri, S., & Modi, D. (2020). Homeobox genes in endometrium: from development to decidualization. *Int. J. Dev. Biol*, 64, 227-237.

Cakmak, H., & Taylor, H. S. (2010). Molecular mechanisms of treatment resistance in endometriosis: the role of progesterone-hox gene interactions. *Semin Reprod Med*, 28, 69-74.

Daftary, G. S. & Taylor, H. S. (2006). Endocrine regulation of HOX genes. *Endocr Rev*, 27(4), 331-355.

Du, H., & Taylor, H. S. (2016). The role of Hox genes in female reproductive tract development, adult function, and fertility. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 6, a023002.

Ekanayake, D. L., Małopolska, M. M., Schwarz, T., Tuz, R., & Bartlewski, P. M. (2022). The roles and expression of HOXA/Hoxa10 gene: A prospective marker of mammalian female fertility?. *Reprod Biol*, 22(2), 100647.

Ekici, A. B., Strissel, P. L., Oppelt, P. G., Renner, S. P., Brucker, S., Beckmann, M. W., & Strick, R. (2013). HOXA10 and HOXA13 sequence variations in human female genital malformations including congenital absence of the uterus and vagina. *Gene*, 518(2), 267-272.

Eun Kwon, H. Y. E., & Taylor, H. S. (2004). The role of HOX genes in human implantation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1034(1), 1-18.

Giampaolo, A., Sterpetti, P., Bulgarini, D., Samoggia, P., Pelosi, E., Valtieri, M., & Peschle, C. (1994). Key functional role

and lineage-specific expression of selected HOXB genes in purified hematopoietic progenitor differentiation. *Blood*, 84(11),3637-3647.

Goodman, F. R. (2002). Limb malformations and the human HOX genes. *Am J Med Genet*, 112, 256-265.

Hsu, C. Y., Tsai, C. C., Lin, H. Y., Chen, H. L., Ou, Y. C., Chiang, P. H., Suen, J. L., & Tsai, E. M. (2024). Gene Expression Profile Analysis of the Molecular Mechanism of HOXD10 Regulation of Epithelial Ovarian Cancer Cells. *J Cancer*, 15(5), 1213-1224.

Hubert, K. A., & Welik, D. M. (2024). Correction: Hox genes in development and beyond. *Development*, 1;151(5), dev202770.

Hutlet, B., Theys, N., Coste, C., Ahn, M. T., Doshishti-Agoli, K., Lizen, B., & Gofflot, F. (2016). Systematic expression analysis of Hox genes at adulthood reveals novel patterns in the central nervous system. *Structure and Brain Function*, 221, 1223-1243.

Lalwani, S., Wu, H. H., Reindollar, R. H., & Gray, M. R. (2008). HOXA10 mutations in congenital absence of uterus and vagina. *Fertility and sterility*, 89(2), 325-330.

Lufkin, T. (2005). Hox Genes: Embryonic Development. *Encyclopedia of Life Sciences*.

Mark, M., Rijli, F. M., & Chambon, P. (1997). Homeobox genes in embryogenesis and pathogenesis. *Pediatr Res*, 42, 421-429.

Modi, D., & Godbole, G. (2009). HOXA10 signals on the highway through pregnancy. *J Reprod Immunol*, 83(1-2), 72-8.

Ota, T., Choi, K. B., Gilks, C. B., Leung, P. C., & Auersperg, N. (2006). Cell type- and stage-specific changes in HOXA7 protein expression in human ovarian folliculogenesis: Possible role of GDF-9. *Differentiation*, 74, 1-10.

Ota, T., Asahina, H., Park, S. H., Huang, Q., Minegishi, T., Auersperg, N., & Leung, P. C. (2008). HOX cofactors expression and regulation in the human ovary. *Reprod Biol Endocrinol*, 6, 49.

Ota, T., Klausen, C., Salamanca, M. C., Woo, H. L., Leung, P. C., & Auersperg, N. (2009). Expression and function of HOXA genes in normal and neoplastic ovarian epithelial cells. *Differentiation*, 77(2), 162-171.

Paul, D., Bridoux, L., Rezsöhazi, R., & Donnay, I. (2011). HOX genes are expressed in bovine and mouse oocytes and early embryos. *Molecular Reproduction and Development*, 76, 436-449.

Rux, D., Helbig, K., Koyama, E. and Pacifici, M. (2021). Hox11 expression characterizes developing zeugopod synovial joints and is coupled to postnatal articular cartilage morphogenesis into functional zones in mice. *Dev Biol*, 477, 49-63.

Salih, S. M., & Taylor, H. S. (2004). HOXA10 gene expression in human fallopian tube and ectopic pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 190(5), 1404-1406.

Satokata, I., Benson, G., & Maas, R. (1995). Sexually dimorphic sterility phenotypes in Hoxa 10-deficient mice. *Nature*, 374(6521), 460-463.

Small, K. M., & Potter, S. S. (1997). Homeotic transformation and limb defects in HOXA11 mutant mice. *Genes Dev*, 7, 2318-2328.

Taylor, H. S. (2000). The role of HOX genes in the development and function of the female reproductive tract. *Semin Reprod Med*, 8(1), 81-89.

Taylor, H. S., Vanden Heuvel, G. B. & Igarashi, P. A. (1997). Conserved Hox axis in the mouse and human female reproductive system: late establishment and persistent adult expression of the Hoxa cluster genes. *Biol Reprod*, 57, 1338-1345.

Veraksa, A., Del Campo, M. & McGinnis, W., (2000). Developmental patterning genes and their conserved functions: from model organisms to humans. *Mol Genet Metab*, 69, 85-100.

Verlinsky, Y., Morozov, G., Gindilis, V., Strom, C. M., Freidin, M., Rechitsky, S., & Kuliev, A. (1995). Homeobox gene expression in human oocytes and preembryos. *Mol Reprod Dev*, 41(2), 127-132.

Villaescusa, J. C., Verrotti, A. C., Ferretti, E., Farookhi, R., & Blasi, F. (2004). Expression of Hox cofactor genes during mouse ovarian follicular development and oocyte maturation. *Gene*, 330, 1-7.

Vitiello, D., Kodaman, P. H., & Taylor, H. S. (2007). HOX genes in implantation. *Semin Reprod Med*. 25(6), 431-436.

Wong, K. H., Wintch, H. D., & Capecchi, M. R. (2004). Hoxa11 regulates stromal cell death and proliferation during neonatal uterine development. *Mol Endocrinol*, 18, 184-193.

Xu, B., Geerts, D., Bu, Z., Ai, J., Jin, L., Li, Y., Zhang, H., & Zhu, G. (2014). Regulation of endometrial receptivity by the highly expressed HOXA9, HOXA11 and HOXD10 HOX-class homeobox genes. *Hum Reprod.* 29(4), 781-90.

Yamashita, T., Tazawa, S., Yawei, Z., Katayama, H., Kato, Y., Nishiwaki, K., Yokohama, Y., & Ishikawa, M. (2006). Suppression of invasive characteristics by antisense introduction of overexpressed HOX genes in ovarian cancer cells. *Int J Oncol*, 28(4), 931-938.

Yang, J., Li, J., Li, S., Yang, Y., Su, H., Guo, H., Lei, J., Wang, Y., Wen, K., Li, X., Zhang, S., & Wang, Z. (2024). Effects of HOX family regulator-mediated modification patterns and immunity characteristics on tumor-associated cell type in endometrial cancer. *Mol Biomed.* 14; 5(1), 32.

Zanatta, A., Rocha, A. M., Carvalho, F. M., Pereira, R. M., Taylor, H. S., Motta, E. L., Baracat, E. C., & Serafini, P. C. (2010). The role of the Hoxa10/HOXA10 gene in the etiology of endometriosis and its related infertility: a review. *J Assist Reprod Genet.* 27(12),701-710.

Zhang, Y., Huang, Q., Cheng, J. C., Nishi, Y., Yanase, T., Huang, H. F., & Leung, P. C. (2010). Homeobox A7 increases cell proliferation by up-regulation of epidermal growth factor receptor expression in human granulosa cells. *Reprod Biol Endocrinol*, 8, 1-10.