

## Üreme Biyoteknolojisinde Kök Hücre ve Organ Kullanımı

Ramazan ÖRDEK<sup>1\*</sup>, Cengiz YILDIZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum, Jinekoloji ve Suni Tohumlama AD, Hatay

<sup>2</sup>Yalova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Yalova

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-9741-2383>

<sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-9166-8836>

\*Sorumlu yazar: ramazanordek074@gmail.com

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihiçesi:

Geliş tarihi: 19.07.2024

Kabul tarihi:28.10.2024

Online Yayınlanma: 17.03.2025

#### Anahtar Kelimeler

Hücre

Kök hücre

Transplantasyon

Spermatogonyal kök hücre

### ÖZ

Zigotun oluşumundan trilyonlarca hücreye ulaşması ve farklılaşarak yeni özellikler kazanan hücrelerin bölünmelerindeki programlanma dikkatleri üzerine çekmektedir. Organizmada ömrünü tamamlayan ve ölen hücrelerin yerlerine yenileri meydana gelmektedir. Canlıların vücudundaki tüm hücrelerin ilk ana hücresine "kök hücre" denir ve bu hücreler farklı hücre tiplerine dönüşebilme yeteneğine sahiptirler. Kök hücreler normal hücrelerden 3 temel özellik bakımından ayrılmaktadır. Bunlar; kök hücreler sonsuz bölünme ve çoğalma yeteneğine sahiptir, özelleşmemiş hücrelerdir ve son olarak bu hücreler birçok değişik hücreye dönüşebilme özelliğine sahiptirler. Günümüzde kök hücreler standardize edilmiştir ve Uluslararası Kök Hücre Tedavisi Organizasyonu (ISCT) standartlarına tabidir. Transplantasyon işleminde kök hücre kaynağı olarak aynı hayvan (*ototransplantasyon*), aynı tür (*allograft transplantasyon*) veya farklı bir tür (*ksenotransplantasyon*) kullanılabilir. Kök hücre nakli; hücrel süspansiyonun (spermatogonyal kök hücre) veya dokuların transplantasyonu (testis ve ovaryum) şeklinde iki farklı yöntemle uygulanabilir. Kök hücrenin eldesi, transplantasyonu ve tedavi amacıyla kullanımı günümüzde en güncel konulardan biri olma yolunda ilerlemektedir. Günümüzde çözüm bulunamayan pek çok hastalığın tedavisinde kök hücre ve doku nakillerinden yararlanılabilmektedir. Yapılan çalışmalar kök hücrelerin veteriner hekimlik alanında kullanımının oldukça önemli olduğunu göstermektedir. Yakın bir gelecekte, veteriner hekimlikte bir takım hastalıkların tedavilerinde kök hücrenin çok önemli bir uygulama alanına sahip olacağı düşünülmektedir.

## Stem Cell and Organ Use in Reproductive Biotechnology

### Research Article

#### Article History:

Received: 19.07.2024

Accepted: 28.10.2024

Available online: 17.03.2025

#### Keywords:

Cell

Stem cell

Transplantation

Spermatogonial stem cell

### ABSTRACT

The programming of the division of cells that differentiate and gain new characteristics from the formation of the zygote to trillions of cells draws attention. New cells are formed in the organism in place of cells that complete their lifespan and die. The first main cell of all cells in the body of living beings is called a "stem cell" and these cells have the ability to transform into different cell types. Stem cells differ from normal cells in terms of 3 basic characteristics. These are; stem cells have the ability to divide and multiply infinitely, they are unspecialized cells and finally these cells have the ability to transform into many different cells. Today, stem cells are standardized and subject to the standards of the International Organization for Stem Cell Therapy (ISCT). In the transplantation process, the same animal (autotransplantation), the same species (allograft transplantation) or a different

species (xenotransplantation) can be used as a stem cell source. Stem cell transplantation can be applied with two different methods as cellular suspension (spermatogonial stem cell) or tissue transplantation (testis and ovary). The acquisition, transplantation and use of stem cells for treatment purposes are on their way to becoming one of the most current topics today. Stem cell and tissue transplants can be used in the treatment of many diseases that have not been cured yet. Studies have shown that the use of stem cells in veterinary medicine is very important. It is thought that in the near future, stem cells will have a very important application area in the treatment of some diseases in veterinary medicine.

---

**To Cite:** Ördek R, Yıldız C., 2025. Üreme biyoteknolojisinde kök hücre ve organ kullanımı. Kadirli Uygulamalı Bilimler Fakültesi Dergisi, 5(1): 192-212.

## **Giriş**

Zigotun oluşumundan başlayarak trilyonlarca hücreye ulaşması ve farklılaşarak yeni özellikler kazanan hücrelerin bölünmelerindeki programlanma bilim dünyasının dikkatini çekmektedir (Şahin ve ark., 2005; Sağsöz ve Ketani, 2008). Organizmada ömrünü tamamlayan ve ölen hücrelerin yerine yeni hücreler meydana gelmektedir. Ayrıca, yabancı antijenlere karşı koymak için organizma özel immun hücreler üretmektedir. Göz hücreleri görme, pankreas hücreleri salgı, akciğer hücreleri ise solunum için farklılaşırlar. Canlıların vücudundaki tüm hücrelerin ilk ana hücresine “kök hücre” denir ve bu hücreler farklı hücre tiplerine dönüşebilme yeteneğine sahiptirler (Sağsöz ve Ketani, 2008).

Hayvan fetal ve kordon kanı greftleriyle bir takım enfeksiyonların tedavisi üzerine çalışmalar yapan Süreyya Tahsin Aygün, insan yaşamını uzatma yolunun doğum sonrasında atılan plasenta ve kordon hücrelerinin tedavi amacıyla kullanılmasında olduğunu ifade etmiştir. Embriyonal karsinom hücresinin kültür ortamında üretilmesi, kök hücre alanındaki ilk önemli adımlardan biri olmuştur (Şahin ve ark., 2005; Sağsöz ve Ketani, 2008).

Bu derlemenin amacı, üreme biyoteknolojisinin ilgi alanına giren bazı kök hücre ve organ naklinin canlıların reproduktif yaşamları üzerindeki etkilerini anlayabilmektir.

## **Biyoteknolojinin tanımı**

Sözlükte canlı üretim bilimi anlamına gelen biyoteknoloji terimi, biyo-tekno ve loji sözcüklerinin birleşmesiyle oluşmuş, farklı nitelikteki ürünlerin, canlı materyallerden faydalanılarak üretilmesi anlamına gelmektedir. Fakat biyoteknoloji denince ilk olarak mikroorganizmalardan farklı ürünlerin eldesi akla gelse de, kaydedilen son gelişmelerle mikroorganizmalardan veya gelişmiş canlılardan elde edilen parçalarla ortaya konulan üretimler de biyoteknolojinin kapsamı alanına girmektedir (Şahin, 1987).

### **Reprodüktif biyoteknolojinin tanımı, amacı, faydaları ve konuları**

Canlılarda reprodüksiyon ile alakalı genetik materyali korumak, gelişimini sağlamak, kalıtsal özellikleri diğer bireylere aktarmak amacıyla bazı biyolojik bilgi ve tekniklerin uygulanması işlemine reprodüktif biyoteknoloji denir (Çevik, 2020).

Veteriner hekimliği ve hayvan yetiştiriciliği bakımından öncelikli amaç, in vivo ve in vitro şartlarda gen kaynaklarının uzun vadeli korunması ve sayıca fazla miktarda yavru elde edilmesidir (Pabuccuoğlu, 2021).

Reprodüktif biyoteknolojiden elde edilmesi beklenen faydalar şunlardır:

- Erkek ve dişi damızlıklardan sayıca fazla miktarda yavru elde edebilme
- Zorunlu kesime giden damızlık hayvanlardan kesimden sonra da yararlanabilme
- Biyo-reaktör üretimi ve klonlama gibi biyoteknolojileri gen transferi ile uygulayabilme

Reprodüktif biyoteknoloji konuları erkek ve dişi canlılar ayrı ayrı değerlendirildiğinde bir takım farklılıklar göstermektedir. Bu bağlamda dişilerde uygulanabilecek biyoteknolojik çalışmalar embriyo ve hormonal kontrol ile alakalı konular olarak ikiye ayrılabilir. Erkeklerde yapılacak çalışmalar ise başlıca sperma ve suni tohumlama ile ilgili konulardır (Pabuccuoğlu, 2021).

### **Hücrenin keşfi ve kök hücrenin tarihsel gelişimi**

Hücre, organizmanın yapısal ve işlevsel özellikler gösteren en küçük yapı birimidir. Robert Hooke, mikroskopik inceleme sonucu şişe mantar parçasının yan yana dizilmiş bitişik kısımlardan oluştuğunu gözlemlemiş, etrafı çevrili ve iç kısımları boş olan bu yapı odalarını hücre (Cellula: latince küçük odacık) olarak adlandırmıştır. Bu isme 1665 yılında yayınladığı Micrographia adlı kitapta da yer vermiştir. 1839'da Matthias Jakob Schleiden ve Theodor Schwann; "hücre teorisi"ni ortaya koymuşlardır. Bu teoriye göre:

1. Hücre, yaşamın en küçük işlevsel yapısıdır. Canlılar bir veya daha çok hücreden oluşur.
2. Oluşan yeni hücreler kendilerinden önceki hücrelerin bölünmesi sonucu oluşur.
3. Organizmanın bütün yaşam fonksiyonları kendi hücrelerinin içinde meydana gelir.
4. Tüm hücreler, kendi fonksiyonlarını regüle eden kalıtsal bilgiyi sonraki neslin hücrelerine aktarır (Ateş, 2016).

1878'de kök hücre kapsamında memeli ovumunun ilk kez canlı vücudu dışında döllenişle başlamış olan in vitro çalışmalar günümüzde organizmanın klonlanması ve organ üretimi konusunda da gelişme kaydetmiştir (Özen ve Gül Sancak, 2014).

1900 yılı başlarında araştırmacılar kan hücrelerinin hepsinin tek hücreden köken aldığını fark etmişlerdir (Ateş, 2016).

1960: Farelerde teratokarsinomaların embriyonik germ hücrelerinden kökenlendiği ve embriyonik karsinom hücrelerinin bir anaç hücre olduğu bulunmuştur (Ateş, 2016).

1963: Ernest McCulloch ve James Till; farelerdeki kemik iliği hücrelerinin nakil sonrası kendilerini yenileme kapasitelerinin bulunduğunu ifade etmişlerdir (Ateş, 2016).

1968: İlk insan ovumu in vitro ortamda döllenmiştir (Ateş, 2016).

1976: Mezenkimal kök hücreleri ilk kez tanımlanmıştır (Friedenstein, 1976).

1978: İlk IVF bebeği (tüp bebek) İngiltere’de dünyaya gelmiştir (Ateş, 2016).

1981: Evans ve Kaufman, blastosistlerin iç hücre kitlesinden (ICM) fare embriyonal kök hücrelerini (EKH) elde etmişler. Ayrıca, in vitro ortamda pluripotent özellikteki fare EKH’leri üretmek için gerekli olan kültür şartlarını hazırlamışlardır (Evans ve Kaufman, 1981).

1995-96: Rhesus maymunları ve marmosetlerden EKH’ler elde edilmiş ve elde edilen bu hücreler in vitro ortama yerleştirilmiştir (Thomson ve ark., 1995).

1998: IVF laboratuvarında kriyoprezerve ya da taze 36 tane embriyodan beş tane insan EKH serisi üretildiği raporlanmıştır (Thomson, 1998).

2000: İnsan embriyonik kök hücrelerinin pluripotent özellikte olduğu anlaşılmıştır (Sağsöz ve Ketani, 2008).

2003: Science Dergisi kök hücre alanındaki gelişmeleri en önemli 10 tıp olayı arasında göstermiştir (Ateş, 2016).

2004: Güney Koreli bilim insanları 30 adet insan embriyosunu klonlayarak blastosist seviyesine getirmişler, ancak bu embriyoların yalnızca birinden kök hücre elde edebilmişlerdir (Sağsöz ve Ketani, 2008).

2006: İndüklenebilir pluripotent kök hücreleri (iPSC)’nin viral veya viral olmayan vektörler kullanılarak, bazı maddelerin kültür ortamına ilave edilmesiyle genleri aktif hale getirilmiş ve geriye farklanmaları sağlanmıştır (2012 Nobel Ödülü) (Takahashi ve Yamanaka, 2006).

2010: Gazzon Muvdi ve Quinones, erişkin tip kök hücrelerin uygun ortamda farklılaşmadan veya özelleşmeden bulunduğunu ve kök hücrelerin sinyalleşmeler sonucu kendi aralarındaki ilişkiyi regüle ettiğini ispatlamışlardır (Gearhart ve Addis, 2010).

### **Kök hücre**

Değişik hücre tiplerine dönüşebilme kabiliyeti (differensiyasyon), kendi kendini yenileme gücü (self-renewal) ve canlı kaldıkça yaşamlarını sürdürebilme karakteristiğine sahip olan hücrelere kök hücre denir (TÜBA, 2009; Andrades ve ark., 2011; Özen ve Gül Sancak, 2014). Bu tip hücreler birçok dokuda bulunmakla birlikte buldukları dokulardaki

dejenere olan hücrelerin yenilenmesinden sorumludurlar (Schatten, 2007). Bu hücrelerin herhangi bir dokuya has özellikleri bulunmaz ve uygun bir sinyalle karşılaşmadıklarında farklılaşmazlar. Kök hücrenin ne tür hücreye farklılaşacağını hücre çekirdeğindeki genler düzenler. Bu genlerden gelen uyarımlara göre farklı hücre tiplerine dönüşebilmektedirler (Güneş, 2005; Cannazik ve Polat, 2014).

Bir hücrenin kök hücre sınıfına girebilmesi için 5 kriter bulunmaktadır:

1. Bölünebilme özelliği uzun sürmeli ve kendini yenileyebilme kapasitesine sahip olmalı,
2. Özelleşmemiş olmalı,
3. Özelleşen hücelere dönüşebilmeli,
4. Hasarlı dokuya transplante edildiğinde kaynak dokuyu işlevsel açıdan tekrar çoğaltabilmeli,
5. In vivo ortamda doku hasarı olmadığı durumlarda da farklılaşan kuşaklara destek sağlamalıdır (Ural, 2006; Erol ve Arıcan, 2008; Cannazik ve Polat, 2014).

### **Kök hücrenin özellikleri**

#### **Bölünme ve kendini yenileme (Self-Renewal)**

Kök hücreler, buldukları dokularda onarım için yeni bir hücreye ihtiyaç oluncaya kadar özelleşmeden bölünebilme kabiliyetine sahiptirler (Erol ve Arıcan, 2008; Cannazik ve Polat, 2014). Hücrelerin bölünebilme yeteneklerini kromozomun uç kısımlarındaki telomer adındaki DNA zinciri belirler. Telomerlerin uzunluğu ne kadar fazla ise hücreler o ölçüde fazlaca bölünebilirler. Telomeraz enzimi telomerlerin uzun kalmasının devamlılığını sağlar. Bu enzim hücrede ne kadar aktif rol oynar ise telomerlerin uzunluğu da o ölçüde korunabilir. Fazla yoğun telomeraz enzimi aktivasyonundan kaynaklı kök hücreler çok sayıda bölünebilme özelliğine sahiptirler (Sağsöz ve Ketani, 2008; Thore ve ark., 2008).

#### **Kök hücrelerin farklılaşması (Plastisite)**

Dokulardan elde edilen kök hücrelerin, uygun ortam koşulları ve sinyallerle değişik doku hücrelerine dönüşebilmesi olayına plastisite (transdiferansiyasyon) denir (İnan ve Özbilgin, 2009). Kök hücreler farklılaşabilme potansiyeline göre; totipotent, pluripotent ve multipotent olmak üzere 3 kategoriye ayrılmaktadırlar (Koerner ve ark., 2006; Cannazik ve Polat, 2014).

#### **Totipotent kök hücreler**

Totipotent özellik bir kök hücrenin sahip olabileceği en yüksek güç olarak tanımlanmaktadır. Spermatozoon ile yumurtanın fertilizasyonu (döllenme) sonucu oluşan

zigot, farklılaşma kapasitesi en yüksek olan totipotent kök hücredir. Üç germ tabakasındaki hücrelerin tamamını oluşturma kabiliyetine sahip olmakla birlikte uygun koşullarda fonksiyonel bir organizmayı en baştan oluşturabilecek tüm hücelere dönüşebilme özelliği bulunan hücre tipidirler. Embriyonal gelişim aşamasındaki hücreler, zigot oluşumundan sonra, ilk birkaç bölünmede totipotent olma kabiliyetini muhafaza ederler.

### **Pluripotent kök hücreler**

Bu hücreler fertilizasyondan sonra, embriyonal hücre bölünmesinin dördüncü gününden itibaren (döllenmeden 16 blastomerli döneme kadar) totipotent olma özelliklerini kaybederek, daha düşük farklılaşma gücüne sahip olan pluripotent hücre tipine dönüşürler (Lanza ve ark., 2005; Morgani ve ark., 2013; Çerçi ve Erdost, 2019). Kısacası, preimplantasyon döneminin 4. gününde oluşan blastosist aşamasındaki embriyoda mevcut olan hücrelerdir. Embriyonal gelişimin dördüncü gününde, embriyo (blastosist aşamasında) üç temel katman meydana getirmektedir. Blastosist; trofoblast hücreleri, blastosöl ve iç hücre kitlesi (Inner Cell Mass, ICM) olarak üç temel yapıdan oluşur. Trofoblast, gelişim sürecinde plasentayı oluşturur. ICM'nin, gelişim aşamasında vücuttaki tüm dokuları oluşturma özelliği bulunmaktadır (Elçin, 2009). Bu hücreler germ yapraklarına (endoderm, ektoderm, mezoderm) ait doku ve organları oluşturabilme kabiliyetine sahip olmaları bakımından totipotent kök hücrelerle benzerlik gösterirler (Tekeli ve ark., 2016). Bu hücreler plasental yapıları oluşturamaz ve dolayısıyla yeni bir organizmayı meydana getiremezler. Hücreler, embriyonal gelişimin ileri dönemlerinde uterus duvarına implante oluncaya kadar pluripotenttirler.

### **Multipotent kök hücreler**

Embriyonal gelişimin ileri aşamasına ait olan bu hücreler, implantasyondan sonra multipotent (üç germ yaprağına ait hücelere dönüşebilme) karakteristik kazanırlar. Bu hücrelerin, gelişim evresinde bölündükçe daha düşük kapasitede farklılaşma özelliği bulunur. Pluripotent özellikteki kök hücelere göre kısmen farklılaşmış kök hücre özelliği gösterirler. Bu hücrelerin başlıcaları, hematopoietik kök hücreler (HKH) ve mezenkimal kök hücrelerdir (MKH). Bu hücreler erişkin bireylerin tek bir germ yaprağına ait ve birbirine yakın hücelere farklılaşabilme özelliği bulunan hücrelerdir (Lynch, 2011).

Kök hücreler elde edildikleri kaynaklara göre; embriyonik, fetal ve erişkin tip kök hücreler olarak üç grupta toplanırlar (Özer, 2018).

### **Embriyonik kök hücreler**

Blastosist aşamasındaki bir embriyoda implantasyon sonrası plasenta yapısını oluşturacak olan trofoblast hücrelerinden (trofektoderm) oluşan dış kısım ve nodus embriyonalis denen ICM'den meydana gelen iç kısım olmak üzere iki farklı hücre tipi bulunur. Bu hücreler, erken embriyonik evrede ICM'den elde edilir ve in vitro olarak tüm somatik hücre tiplerine dönüşebilme kabiliyeti bulunur. Bu kök hücre tipi embriyonun gövdesine ait bütün hücre tabakaları (endoderm, ektoderm, mezoderm) ile onlardan köken alacak organ ve sistemleri oluşturma yetkinliğine sahip pluripotent özellikteki kök hücrelerdir (Özer, 2018). Telomerleri uzun olduğundan bu hücrelerin çoğalma kapasiteleri epey fazla olmakla birlikte uzun süre bölünmeye devam edebilme özellikleri bulunur. Uygun laboratuvar koşullarında 2 yıl kadar yaşayabilirler (Şenel, 2002; Güneş, 2005; Karaşahin, 2012).

Günümüzde embriyonal kök hücrelerle ilgili çalışmalar etik kısıtlamalardan kaynaklı olarak sınırlandırılmıştır (Özen ve Gül Sancak, 2014).

Somatik hücre çekirdek transferi yöntemi (üreme amaçlı kopyalama) ile hastalara özel embriyonik kök hücre üretme imkanı bulunmaktadır. Bu yöntemde; somatik bir hücre çekirdeği, çekirdeği çıkartılmış bir ovum hücresine aktarılır. Şekillenen bu yeni hücrenin blastosist aşamasına kadar ilerlemesi sağlanır. Daha sonrasında da ICM'nin hücresel tedavi amacıyla kullanılması sağlanır. Ayrıca oluşan bu blastosist aşamasındaki embriyonun uterusu transferi ile (klonlama) yeni bir canlı meydana gelmesi de sağlanabilir. Dolly adındaki koyunun üretilmesi üreme amaçlı kopyalama yöntemiyle başarıyla gerçekleştirilmiş ve bu yöntem daha sonra diğer canlılarda da uygulanmıştır. Bu yöntem, somatik bir hücrenin embriyonik olarak yeniden programlanabileceğini sunması yönüyle önem taşımaktadır (Özen ve Gül Sancak, 2014).

### **Fötal kök hücreler**

Fötal kök hücre kaynağı, kendiliğinden veya çeşitli anomaliler nedeniyle abortusla sonlanan ya da sonlandırılan gebeliklerden elde edilen fötuslardır. Sınırsız sayıda bölünebilme ve kendilerini yenileme gücüne sahiptirler. Embriyolardan elde edilen bu hücreler pluripotent özelliğe sahiptirler. Farklılaşp kromozom sayılarını yarıya indirerek ovum ve spermatozoona dönüşebilirler. Ancak bir başlarına yeni bir canlı oluşturamazlar. Kültür ortamında her türlü hücreye dönüşebilmeleri sebebiyle embriyonik kök hücreye alternatiflerdir. 5-10 haftalık fötusun gonadal çatısında bulunan primordiyal germ hücrelerinden köken aldıkları gibi amniyon sıvısı ve plasentadan da elde edilebilirler (Özer, 2018).

### **Erişkin tip kök hücreler (ETKH)**

Kemik iliği, periferik kan, yağ doku, deri, kalp kası, nöron, amniyotik sıvı, göbek kordonu ve uterus gibi dokulardan köken alan kök hücrelerdir. Organizmanın çeşitli doku ve organlarında bulunan, gerektiğinde kendini çoğaltabilen, multipotent özellikteki farklılaşmamış kök hücrelerdir. Örneğin; beyin kök hücrelerinden kan ve kas hücreleri oluşturulabilir. İçinde buldukları dokuları onararak dokunun devamlılığını sağlamak başlıca görevleridir. Bu tip hücreler özelleşmiş hücrelere dönüşmeden önce sınırlı çoğalma özelliğine sahip olan progenitör veya öncül hücrelere dönüşürler (Özer, 2018).

Günümüzde hücresel tedavide; insan embriyonal kök hücresi (hESC) %13, fetal kök hücre %2, göbek kordonu kök hücresi %10 ve erişkin tip kök hücreler ise %75 oranlarında kullanım alanı bulmaktadır (George, 2011).

### **Kök hücrelerin işlevi**

Hematopoietik kök hücre, karaciğer ve sinir kök hücrelerinde; hasarlı yere nakledildiğinde kaynak dokuyu işlevsel bakımdan yeniden fonksiyonel duruma getirir. Örneğin; kemik iliği mezenkimal hücreleri kalp dokusuna aktarıldığında bu hücreler kardiyomiyositlere farklılaşarak hasarlı dokuyu işlevsel hale getirebilirler (Kruse ve ark., 2008).

### **Kök hücre transplantasyonu**

Kök hücre tedavisinde sistemik uygulamalar kılcallarda emboli oluşumuna sebebiyet verebileceğinden lokal uygulamalar tercih edilmiştir (Deak ve ark., 2010). Günümüzde kök hücreler standardize edilmiştir ve Uluslararası Kök Hücre Tedavisi Organizasyonu (ISCT) standartlarına tabidir (Dominici ve ark., 2006).

Transplantasyon işleminde kök hücre kaynağı olarak aynı hayvan (*ototransplantasyon*), aynı tür (*allograft transplantasyon*) veya farklı bir tür (*ksenotransplantasyon*) kullanılabilir (Gade ve ark., 2012). Vetstem, Medistem ve Histostem gibi bazı şirketler, ortopedik ve diğer yaralanmalarda kullanılmak üzere otolog, allojenik veya ksenojenik kök hücreler üretmektedirler (Dalgın ve Meral, 2017).

Kök hücre nakli; hücresel süspansiyonun (spermatogonyal kök hücre) veya dokuların transplantasyonu (testis ve ovaryum) şeklinde iki farklı yöntemle uygulanabilir.



## **Hücresel süspansiyon transplantasyonu**

Fertil bir erkek farenin testis hücreleri (spermatogonyal kök hücre) doğrudan alıcı infertil bir erkeğin seminifer tübüllerinin lümenine mikroenjektör ile nakledilebilir; böylece spermatogenez oluşturulabilir ve donör haplotipini bir sonraki nesle aktaran spermatozoa üretilebilir. Fare ve ratlarla yapılan çalışmalarda süspansiyon halindeki donör kök hücrelerinin testiküler kullanımı için 3 mikroenjeksiyon yöntemi bulunmaktadır. İlk yöntemde hücresel süspansiyon bir mikropipet yardımıyla seminifer tubullere verilerek hücrelerin rete testisten geçişi olur ve diğer tubullere ulaşırlar. İkinci yöntemde hücresel süspansiyon mikropipet yardımıyla doğrudan rete testise aktarılır. Üçüncü yöntemde donör kök hücreleri direkt olarak rete testise giden efferent kanala verilir (Ogawa ve ark., 2003; Brinster ve Nagano, 1998). Kök hücrelerin testis içerisine verilmesinin başarılı olup olmadığını görebilmek amacıyla testislere triptan mavisi enjekte edilir. Transplantasyon sonrası testisteki donör kök hücrelerinin çoğalması histolojik olarak muayene edilir. Bilgisayar destekli görüntüleme yöntemleri de bu amaçla kullanılabilir (Dobrinski ve ark., 1999). Dişi germ hattındaki kök hücrelerin çoğalması doğum öncesi sona erdiğinden yetişkinlerde bulunan tek germ hattı kök hücreleri spermatogonyal kök hücrelerdir (Zheng ve ark., 2014; Akar ve ark., 2019).

Hücresel transplantasyon ilk kez Brinster ve Zimmermann (1994) tarafından farelerde denenmiştir. Bu çalışmada donör farenin testisinden alınan hücre süspansiyonu içerisindeki spermatogonyal kök hücre (SSC) infertil bir konak fareye verildiğinde spermatogenez olayının şekillendiği bildirilmiştir. Bu fareler çiftleştirildiğinde donör farenin kalıtsal özelliklerini taşıyan yavruların meydana geldiği ifade edilmiştir. Bu çalışma sonrası homolog türler arasında rat, keçi, domuz, köpek, koyun ve maymun gibi değişik canlılarda da bu nakil işlemi başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Böylece farklı türler arasında da SSC nakillerinin (ksenotransplantasyon) yapılabileceği gösterilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada rattan alınan SSC, fare seminifer tubullerinde kolonize olmuş ve bu hücrelerin farklılaşması sonucunda normal özelliklere sahip olan rat spermi üretilebilmiştir (Clouthier ve ark., 1996).

## **Spermatogonyal kök hücreler (SSC)**

SSC'ler, belli bir türün genomunu bir nesilden bir nesile aktarabilen ve aynı zamanda pluripotent kök hücrelere dönüşme kapasitesine sahip olan tek yetişkin kök hücreleridir (Guan ve ark., 2006; Seandel ve ark., 2007; Kanatsu-Shinohara ve ark., 2008; Aponte, 2015). Ayrıca, temel üç embriyonik katmandan hücreler oluşturabilmektedirler.

SSC, canlının hayatı boyunca kök hücre havuzunun devamlılığını sağlamak için kendini yeniler, germ hücreye dönüşür ya da apoptoz sonucu hücrenin ölümü meydana gelir (Dym,

1994). Erişkin testisinde normal spermatogenez ve fertilitenin devamlılığı; spermatogonyal kök hücre yenilenmesi ve farklılaşması arasında bulunan dengeye bağlıdır. Bu iki süreç; kök hücre gen ekspresyonuyla intrinsik olarak ve niş adı verilen mikroçevreden gelen uyarımlar sonucu ekstrinsik olarak regüle edilir (Dadoune, 2007; Yanar ve ark., 2017). Kök hücrelerin bölünme ve farklılaşmalarında önemli bir yeri olan; bu hücrelerin içinde olduğu ve onların geleceğini belirleyen in vivo veya in vitro mikroçevreye kök hücre yuvası (Stem Cell Niche) adı verilmektedir. Niş adı verilen mikroçevre sertoli hücresi, peritubuler miyoid hücre ve Leydig (intersitisyel) hücresinden meydana gelir (Chen ve ark., 2005; Hess ve ark., 2006; Chen ve Liu, 2015; Heinrich ve DeFalco, 2019).

Sertoli hücreleri, SSC ve germ hücrelerinin beslenmelerini sağlayarak spermatogenezisi destekleyen uyarımları yönetmektedir. Bu hücreler, glial hücre hattı türevli nörotrofik faktörü (GDNF) ve bazik fibroblast büyüme faktörünü (bFGF) salmak suretiyle in vitro SSC yenilenmesine destek olurlar. Peritubuler miyoid hücre ve Leydig hücresi; koloni-stimulan faktör1 (CSF1) üretimi sayesinde GDNF ile sinerjistik olarak etkilerini gösterirler. Leydig hücreleri ise testosteron hormonu üretimi sayesinde gonadların gelişimi ve spermatogenezisin devamlılığını sağlarlar (Ateş, 2016).

SSC'lerin kendi kendini yenileme ve farklılaşması somatik hücrelerde çevresel kaynaklı dış (ektrinsik) etkenler ve germ hücrelerindeki iç (intrinsik) kalıtsal programlarla düzenlenmektedir (Düzağaç ve ark., 2013).

Testisteki seminifer epitelin germ kök hücreleri olan SSC'ler spermatogenezisin kurucu hücreleridir. Günümüze kadar SSC nakli; fare, rat, koyun, domuz, köpek ve maymun gibi değişik canlı türlerinde başarılı olarak uygulanmıştır (Ogawa ve ark., 2000; Kanatsu-Shinohara ve ark., 2003). Çeşitli hayvan çalışmaları, değişik yaştaki donörlerden alınan SSC'lerin kriyoprezervasyon yöntemiyle başarılı bir şekilde saklanabileceğini, çözülme ve nakil işlemi sonrasında spermatojenik potansiyellerini muhafaza ederek yeniden spermatogenez geçirmek suretiyle fonksiyonel yapılı işlevsel spermatozoonlar üretebileceğini göstermektedir (Dobrinski ve ark., 2000). Shetty ve ark. (2013), kemoterapiye maruz bırakılan maymunlar üzerinde yürüttükleri çalışmada; dondurma sonrası nakledilmiş SSC'lerde, GnRH antagonisti hormonla yapılan supresyon sonucu spermatogenezisin arttığını bildirmişlerdir. Kaydedilen bu gelişme insanların infertilite problemlerinin tedavisi için umut kaynağı olmuştur.

İnsanda SSC nakli ilk kez 1999'da gerçekleştirilmiştir. Manchester'da yapılan bu çalışma; lenfoma hastası 12 erkek üzerinde denenmiş ve bu hastaların üreme durumlarını içeren bir yayın yapılmıştır (Radford ve ark., 1999). Yapılan bir başka çalışmada, fare

testislerine insan SSC nakli uygulanmış ve sağlıklı proliferasyon sonucu bu hücrelerin 6 ay boyunca canlı kaldığı bildirilmiştir. Farklılaşmamış olan bu kök hücreler 1 ay sonra spermatogonyumlara dönüşmüşler fakat mayoz geçirememiş ve apoptoza uğramışlardır. Bu çalışmada; nakledilen insan SSC'leri fare sertoli hücrelerince tanınarak doğru yere göç edebilmiş, proliferere olabilmış ve hayatta kalabilmişlerdir (Nagano ve ark., 2002).

### **Testiküler doku parçacıklarının transplantasyonu**

Testis transplantasyonunun klinik uygulaması, genetik olarak değerli bir pre-pubertal erkek hayvanın üreme potansiyelini korumak için çok önem arz etmektedir (Pukazhenti ve ark., 2005). Testis dokusu ksenotransplantasyon tekniği ile yabancı türlerde ektopikal bölgelere greftlenen (nakledilen) testis eksplantlarında sperm üretimi gerçekleştirilmiştir. Testis doku parçacıklarının immün yetmezliği olan çıplak konakçı farelere (nude mice) allogreftlenmesi (aynı türler arası nakil) veya ksenogreftlenmesi (farklı türler arası nakil), çiftlik hayvanı üretiminde ve prepubertal erkek onkoloji hastalarında germ hattının korunması için yeni bir araçtır. Honaramooz ve ark. (2003), germ hücre naklinin bağışıklığı yeterli alıcı keçilerde donör kaynaklı spermatogenez ve fertilité ile sonuçlanıp sonuçlanmayacağını araştırmak için, testis hücrelerini (insan alfa-1 antitripsin ekspresyon yapısındaki) transgenik donör keçilerden prepubertal vahşi tip alıcı keçilerin testislerine nakletmişlerdir. Puberta sonrasında, beş alıcıdan ikisinin ejakülatlarında donör kaynaklı transgeni taşıyan sperm tespit edildiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca bir alıcının çiftleştirilmesi sonucu, biri donörden türetilen 15 transgenik yavru elde edildiğini bildirmişlerdir. Bu veriler, kemirgen olmayan türlerde germ hücre naklinden sonra donör hücre kaynaklı sperm üretimi ve genetiğin (donör haplotipinin) bir sonraki nesle aktarılmasına ilişkin ilk rapor olma özelliğine sahiptir.

Honaramooz ve ark. (2002) yaptıkları bir başka çalışmada, neonatal fare, domuz ve tekelerden alınan testis fragmanlarının, immün yetmezliği olan çıplak konakçı farelerin sırt derisinin altına nakledilmesiyle bu küçük testis parçalarının, orijinal lokal yerleri dışında büyüdüğünü ve farklılaştığını rapor etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada yeni doğan fare, domuz veya keçilerden alınan testis dokusunun fare konakçılara greftlenmesiyle morfolojik olarak tam spermatogenez gösterdiği ve sperm hücresi elde edildiğini bildirmişlerdir. Alıcı fareler yüksek seviyelerde folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) sağlamak için kısırlaştırılmış ve konakçı farelerin endokrin sisteminin, farklı hayvan türlerinden ksenotransplante edilmiş testis dokularının gelişimini desteklediği, testis parçacıklarının boyutunda bir artış olduğu ve sperm hücresinin elde edildiği bildirilmiştir.

Testis dokusu ksenograft uygulamasının, konağın endokrin sisteminin donör testis greft gelişimini desteklediği ve pubertayı hızlandırdığı araştırmalar sonucunda açıkça bildirilmiştir (Honaramooz ve ark., 2002). Normal testis dokularında seminifer tübül sıvısı (STF) rete testiste yeniden emilirken greftlerde rete dokusunun olmaması STF'nin emilimini bozar ve tübüllerde birikerek tübüler şişkinliğe neden olur. Transplantasyon döneminde, özellikle türler arası uygulamada, ksenograftların seminifer tübüllerinde rete testislerinin olmamasından kaynaklanan bir lümen dilatasyonu şekillenir (Honaramooz ve ark., 2007).

### **Testiküler doku parçacıklarının kriyoprezervasyonu**

Fare testisinin dondurulması, genetik kaynakların korunması ve suşun kurtarılması amacıyla yardımcı üreme teknolojisinde önemli bir araçtır. Bu teknik, hücre bütünlüğünün ve testislerin endokrin fonksiyonlarının korunmasını sağlayabilir. Prepubertal erkeklerin testislerinde SSC'lerin varlığı, fertilitenin daha sonraki yaşamlarında korunması ve restorasyonu için klinik olarak uygun seçenekler sunar. Erkek germ hücresi ve testis dokusunun nakline dayanan yeni yaklaşımlar, kemoterapi öncesinde sağlıklı testis dokusunun dondurulmasıyla testis kanseri hastalarında fertilitenin restorasyonu sonrasında sınırlı sayıda sperm hücresi üretmek için düşünülebilir. Bu konudaki çalışmaların çoğu, infertilitenin ileride intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) tedavisinde kullanılmak üzere testis dokusunun işlenmesi veya greftlenerek sperm üretiminin geri kazanılması için önerilmiştir (Al-Hasani ve ark., 1999; Shinohara ve ark., 2002; Yıldız ve ark., 2013).

### **Prepubertal testis dokusunun kriyoprezervasyonu**

Bu yöntemde araştırmacılar DMSO-etilen glikol-sükroz ve DMSO-sükroz kombinasyonlarının kullanımını tercih etmektedirler. Prepubertal testisin seminifer tubuluslarında SSC'lerin bazal kısma yerleşmesini Sertoli hücreleri sağlamaktadır. SSC'ler bazal membrana tamamen yerleştikten sonra bazal ve adluminal kompartman arasında kan-testis bariyeri oluşumu için sıkı bağlantılar şekillenir (Kervancıoğlu, 2018). Otomatik kontrollü hızlı dondurma, gamet ve somatik doku bankasında en yaygın kullanılan tekniktir. İnfertil erkeklerden alınan testis dokusu, hücre süspansiyonları veya doku parçaları halinde (Hovatta ve ark., 1996) kriyoprotektan ajan (CPA) olarak gliserol kullanılarak dondurulur. Brook ve ark. (2001), %4 fetal sığır serumu içeren Leibovitz ortamında farklı CPA'lar kullanarak yavaş programlanmış soğutma ile insan testis dokusunu başarıyla dondurmuşlardır.

Yıldız ve ark. (2013), farklı CPA'ların kriyoprezerve ve allotransplante yenidoğan fare testis dokusunda spermatogenez ve steroidogenez üzerindeki etkilerini test etmek amacıyla

yaptıkları çalışmada; yenidoğan fare testislerinin dondurulması ve çözülmesi için en etkili CPA'nın DMSO olduğunu, yavaş dondurma ile vitrifikasyon tekniklerinin de bu amaçla kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

### **Ovaryum doku parçacıklarının transplantasyonu**

Ovaryum doğal olarak neovaskülarizasyon sürecini destekleyen bol miktarda anjiyojenik faktör içermesi nedeniyle transplantasyon için oldukça uygun bir yerdir. Ovaryum doku transplantasyonunun temel amacı, özellikle kanser tedavisi (kemo/radyoterapi) gören genç ve yetişkin kadınlarda ovaryum endokrin fonksiyonunun ve fertilitenin yeniden sağlanmasıdır (Donnez ve ark., 2013). Özellikle çocuklar veya genç hastalarda fertilitiyi korumak için; çok sayıda primordial ve primer folikülün depolanmasına izin veren ovaryum dokusunun dondurularak saklanması en iyi seçenektir. Primordial foliküller, hormonal tedaviye ihtiyaç duymadan dışı üreme yaşamının herhangi bir aşamasında dondurularak saklanabilir (Donfack ve ark., 2017).

Ovaryum naklinin uygunluğu, doku kalınlığının doğru hazırlanmasını ve en uygun nakil bölgesinin bulunmasını gerektirmektedir. Ovaryumun doğal plastisitesi, yeniden damarlanabileceği ve normal fizyolojisini hızla restore edebileceği farklı bölgelere greftlemeyi kolaylaştırır. Ovaryum dokusu ortotopik olarak pelvis boşluğuna veya heterotopik olarak deri altı bölgelere, rektus kası ve subperitoneal dokunun (Donfack ve ark., 2017) yanı sıra böbrek kapsülüne veya yağ yatağına nakledilebilir. Böbrek kapsülüne transplantasyon, greft sağkalımını artıracak mükemmel kan temini nedeniyle daha çok tercih edilmiştir (Youm ve ark., 2015).

Ortotopik transplantasyonun ana avantajı, yardımcı üreme tekniklerine gerek duyulmaksızın doğal gebelik oluşabilmesidir. Dezavantajı ise, ovaryum boyutu nedeniyle sınırlı sayıda fragman nakledilebilmektedir. Ayrıca ciddi pelvik yapışmalara neden olabilen invaziv bir işlemdir (Demeestere ve ark., 2009).

Fareler üzerinde yürütülen bir çalışma, kriyoprezervasyon ile ovaryumun bir bütün olarak ortotopik nakli sonrasında ilk doğumu tanımlamıştır (Parrot, 1960). İnsanlarda, ovaryum dokusu kriyoprezervasyonu ve greftleme kullanılarak elde edilen ilk doğum Donnez ve ark. (2004) tarafından rapor edilmiş ve insan üreme tıbbında bir dönüm noktası olmuştur. Günümüze kadar dondurularak saklanan ovaryum dokusunun naklinden sonra 70 adet sağlıklı bebeğin doğumu (Silber, 2016) rapor edilmiştir.

Gosden ve ark. (1994) koyunlarda, yavaş dondurma ile dondurularak saklanan ovaryum dokusunun ortotopik ototransplantasyonundan sonra siklik aktivitenin, hamileliğin ve canlı

doğumun meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Santos ve ark. (2009), iki taraflı ovarektomize keçilerde küçük ovaryum parçalarının ortotopik ototransplantasyonu ve kriyoprezervasyonundan sonra hormon uygulamaksızın endokrin fonksiyonun geri kazanıldığını ve tam foliküler gelişim gösterdiğini bildirmişlerdir.

Heterotopik nakil işleminin avantajları; invaziv prosedürlerden kaçınma, greftin kolay erişilebilirliği, kortikal dilimler için artan kapasite, şiddetli pelvik yapışıklıklar ortotopik transplantasyonu engellese bile greftleme için uygunluk sağlar (Kim, 2012). Ayrıca genel anestezi kullanımı gerekli değildir ve nakledilen parçaların çıkarılması kolaydır (Filatov ve ark., 2016). Heterotopik transplantasyondan sonra doğal gebelik beklenemez ve bu yüzden gebelik için IVF gereklidir.

İnsan ovaryum dokusunun bağışıklığı yetersiz çıplak farelere (nude mice) ksenograftlanması, ovaryum fonksiyonunu ve folikül gelişimini *in vivo* değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır (Van Eyck ve ark., 2009). Çıplak farelerde timus olmadığından olgun T lenfositleri üretmezler ve bu yüzden immün yanıtın birçok tipine karşı tepki oluşturamazlar. Böylece çıplak fareler allogreftleri hatta ksenogreftleri bile reddetmezler (Fransolet ve ark., 2015). Hayvan deneylerinde donmuş-çözdürülmüş ovaryum dokusunun transplantasyonu sonucunda antral folikül gelişiminin ve canlı doğumun meydana geldiği bildirilmiştir (Schubert ve ark., 2008; Donfack ve ark., 2017).

Dath ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada, insan ovaryum dokusunun çıplak farelere ksenotransplantasyonunu intraperitoneal (IP), deri altı (SC), ovarian bursa (OB) boşluğu ve kas içi (IM) olmak üzere dört farklı bölgeye greftleyerek karşılaştırmışlar. Greftlemeden bir hafta sonra, dört bölgede de büyüyen foliküllerin görüldüğünü ve birkaç sekonder folikülün tespit edildiğini bildirmişlerdir. IP, SC, IM ve OB greftlemeden sonra foliküler aktivasyon gözlemlenmesine rağmen, hareketsiz primordial folikül havuzunun, greftleme bölgesinden bağımsız olarak, greftlemeden 3 hafta sonra tükenmediği bildirilmiştir. Böylece, dört aşılama bölgesinin tümünün, donmuş çözülmüş insan ovaryum dokusunun nakilden kısa süre sonra erken foliküler büyümeyi eşit olarak desteklediği ifade edilmiştir.

## **Sonuç**

Birçok hastalık mekanizmasının açıklanamadığı günümüzde; doğru tedavi yöntemlerinin uygulanabilmesi için bu hastalık mekanizmalarının aydınlatılmasına yönelik çok sayıda çalışma yürütülürken; diğer yandan kök hücrelerin bu hastalıklarda nasıl ve hangi yollarla etki edeceği üzerine de bir takım çalışmalar yürütülmektedir. Böylece kök hücrenin elde edilmesi, nakli ve tedavi amacıyla kullanımı günümüzde en güncel konulardan biri olma

yolunda ilerlemektedir. Yapılan çalışmalar kök hücrelerin kullanımının oldukça önemli olduğunu göstermektedir. Yakın bir gelecekte, hastalıkların tedavisinde kök hücre, doku ve organ naklinin çok önemli bir uygulama alanına sahip olması beklenmektedir.

### **Çıkar Çatışması Beyanı**

Makale yazarları herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

### **Araştırmacıların Katkı Oranı**

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

### **Kaynaklar**

Akar M, Genç MD, Kaya C, Çevik M., 2019. Spermatogonial kök hücre ve transplantasyonu/International Black Sea Coastline Countries Symposium-2.

Al-Hasani S, Demirel LC, Schopper B, Bals-Pratsch M, Nikolettos N, Kupker W, Ugur M, Sturm R, Diedrich K., 1999. Pregnancies achieved after frozen–thawed pronuclear oocytes obtained by intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa extracted from frozen–thawed testicular tissues from non-obstructive azoospermic men. Hum Reprod, 14(8): 2031–2035.

Andrades JA, Claros S, Palomo PJ, Puertas JML, Navas PZ, Guerado E, Monleon M, Araque MC, Becerra J., 2011. Skeletal regeneration by mesenchymal stem cells: What else?. Regenerative Medicine and Tissue Engineering-Cells and Biomaterials, 5, 107-144.

Aponte PM., 2015. Spermatogonial stem cells: Current biotechnological advances in reproduction and regenerative medicine. World J Stem Cells, 7(4): 669-680.

Ateş U., 2016. Kök hücreyi tanıyalım. İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Transplantasyon Dergisi, 1(1): 19-28.

Brinster RL, Zimmermann JW., 1994. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. Proc Natl Acad Sci, 91(24): 11298–11302.

Brinster RL, Nagano M., 1998. Spermatogonial stem cell transplantation, cryopreservation and culture. Seminars in Cell & Developmental Biology, 9(4): 401-409.

Brook PF, Radford JA, Shalet SM, Joyce AD, Gosden RG., 2001. Isolation of germ cells from human testicular tissue for low temperature storage and autotransplantation. Fertil Steril, 75(2): 269–274.

Cannazik O, Polat B., 2014. Kök hücre ve veteriner hekimlikte uygulama alanları. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 9(3): 198-205.

Chen C, Ouyang W, Grigura V, Zhou Q, Carnes K, Lim H, Zhao GQ, Arber S, Kurpios N, Murphy TL, Cheng AM, Hassell JA, Chandrashekar V, Hofmann MC, Hess RA, Murphy KM., 2005. ERM is required for transcriptional control of the spermatogonial stem cell niche. *Nature*, 436(7053): 1030-1034.

Chen SR, Liu YX., 2015. Regulation of spermatogonial stem cell self-renewal and spermatocyte meiosis by Sertoli cell signaling. *Reproduction*, 149, 159–167.

Clouthier DE, Avarbock MR, Maika SD, Hammer RE, Brinster RL., 1996. Rat spermatogenesis in mouse testis. *Nature*, 381(6581): 418–421.

Çerçi E, Erdost H., 2019. Kök hücre. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 14(2): 221-228.

Çevik M., 2020. Reprodüktif biyoteknoloji değerlendirme. Erişim: [avys.omu.edu.tr › storage › app › public › mfindik](http://avys.omu.edu.tr/storage/app/public/mfindik). Erişim tarihi: 20.04.2021

Dadoune JP., 2007. New insights into male gametogenesis: what about the spermatogonial stem cell niche? *Folia Histochem Cytobiol*, 45(3): 141–147.

Dalgın D, Meral Y., 2017. Stem cell therapy as a regenerative approach in veterinary medicine. *Van Veterinary Journal*, 28(2): 117-121.

Dath C, Van Eyck AS, Dolmans MM, Romeu L, Delle Vigne L, Donnez J, Van Langendonck A., 2010. Xenotransplantation of human ovarian tissue to nude mice: comparison between four grafting sites. *Human Reproduction*, 25(7): 1734-1743.

Demeestere I, Simon P, Emiliani S, Delbaere A, Englert Y., 2009. Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. *Hum Reprod*, 15, 649–665.

Deak E, Seifried E, Henschler R., 2010. Homing pathways of mesenchymal stromal cells (MSCs) and their role in clinical applications. *International Reviews of Immunology*, 29(5): 514–529.

Dobrinski I, Ogawa T, Avarbock MR, Brinster RL., 1999. Computer assisted image analysis to assess colonization of recipient seminiferous tubules by spermatogonial stem cells from transgenic donor mice. *Mol Reprod Dev*, 53, 142-148.

Dobrinski I, Avarbock MR, Brinster RL., 2000. Germ cell transplantation from large domestic animals into mouse testes. *Mol Reprod Dev*, 57(3): 270–279.

Dominici M, Le Blanc K, Mueller I., 2006. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international society for cellular therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4): 315-317.

Donfack NJ, Alves KA, Araújo VR, Córdova A, Figueiredo JR, Smitz J, Rodrigues APR., 2017. Expectations and limitations of ovarian tissue transplantation. *Zigot*, 25(4): 391-403.



Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, Madrid BM, Langendonck AV., 2004. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*, 364(9443): 1405–1410.

Donnez J, Dolmans MM, Pellicer A, Diazgarcia C, Serrano MS, Schmidt KT, Ernst E, Luyckx V, Andersen CY., 2013. Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation. *Fertil Steril*, 99(6): 1503–1513.

Düzağaç F, Güven Ü, Açıkgöz E, Öktem G., 2013. Spermatogonial kök hücrelerde kendini yenileme ve farklılaşma sürecinde etkili moleküller. *Derleme*, 15(55): 256-260.

Dym M., 1994. Spermatogonial stem cells of the testis. *Proc Natl Acad Sci*, 91(24): 11287–11289.

Elçin YM., 2009. Embriyonik kök hücreler, kök hücre biyolojisi ve klinik uygulamalar. *TÜBA Raporları* 20, 23-28.

Erol H, Arıcan M., 2008. Atlarda tendinitisin kök hücre ile sağaltımı I: Kök hücre nedir? Veteriner hekimliğinde kullanım alanları nedir? *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 14, 26-31.

Evans MJ, Kaufman MH., 1981. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*, 292, 154-156.

Filatov MA, Khramova YV, Kiseleva MV, Malinova IV, Komarova EV, Semenova M., 2016. Female fertility preservation strategies: cryopreservation and ovarian tissue in vitro culture, current state of the art and future perspectives. *Zygote*, 24, 635–653.

Fransolet M, Henry L, Labied S, Masereel MC, Blacher S, Noel A, Foidart JM, Nisolle M, Munaut C., 2015. Influence of mouse strain on ovarian tissue recovery after engraftment with angiogenic factor. *J Ova Res*, 8, 1-8.

Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN., 1976. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol*, 4(5): 267-274.

Gade NE, Pratheesh MD, Nath A, Dubey PK, Amarpal G, Sharma T., 2012. Therapeutic potential of stem cells in veterinary practice. *Vet World*, 5(8): 499-507.

Gearhart JD, Addis RC., 2010. The use of animals in human stem cells research: past, present and future. *ILAR Journal*, 51(1): 1-2.

George B., 2011. Regulations and guidelines governing stem cell based products: Clinical considerations. *Perspect Clin Res*, 2(3): 94-99.

Gosden RG, Baird DT, Wade JC, Webb R., 1994. Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at  $-196^{\circ}\text{C}$ . *Hum Reprod*, 9(4): 597–603.

Guan K, Nayernia K, Maier LS, Wagner S, Dressel R, Lee JH, Nolte J, Wolf F, Li M, Engel W, Hasenfuss G., 2006. Pluripotency of spermatogonial stem cells from adult mouse testis. *Nature*, 440(7088): 1199-1203.

Güneş AM., 2005. Kök hücre plastisitesi ve tıptaki kullanım alanları. *Güncel Pediatri*, 36- 42.

Heinrich A, DeFalco T., 2019. Essential roles of interstitial cells in testicular development and function. *Andrology*, 8(4): 903-914.

Herthel DJ., 2002. Suspensory desmitis therapies. *Proc 12th ACVS Symp*, 165-167.

Hess RA, Cooke PS, Hofmann MC, Murphy KM., 2006. Mechanistic insights into the regulation of the spermatogonial stem cell niche. *Cell Cycle*, 5(11): 1164–1170.

Honaramooz A, Snedaker A, Boiani M, Scholer H, Dobrinski I, Schlatt S., 2002. Sperm from neonatal mammalian testes grafted in mice. *Nature*, 418(6899): 778–781.

Honaramooz A, Behboodi E, Megee SO, Overton SA, Homer HG, Echelard Y, Dobrinski I., 2003. Fertility and germline transmission of donor haplotype following germ cell transplantation in immunocompetent goats. *Biol Reprod*, 69(4): 1260–1264.

Honaramooz A, Megee SO, Rathi R, Dobrinski I., 2007. Building a testis: Formation of functional testis tissue after transplantation of isolated porcine (*Sus scrofa*) testis cells. *Biol Reprod*, 76(1): 43-47.

Hovatta O, Foudila T, Sieberg R, Johansson K, Von Smitten K, Reima D., 1996. Case report: Pregnancy resulting from intracytoplasmic injection of spermatozoa from a frozen–thawed testicular biopsy specimen. *Hum Reprod*, 11(11): 2472–2473.

İnan S, Özbilgin K., 2009. Kök hücre biyolojisi. *Sağlıkta Birikim Dergisi*, 1, 11-23.

Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Inoue K, Miki H, Ogura A, Toyokuni S, Shinohara T., 2003. Long-term proliferation in culture and germline transmission of mouse male germline stem cells. *Biol Reprod*, 69(2): 612–616.

Kanatsu-Shinohara M, Takehashi M, Shinohara T., 2008. Brief history, pitfalls, and prospects of mammalian spermatogonial stem cell research. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 73, 17-23.

Karaşahin T., 2012. Embriyonik kök hücreler. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 9(1): 65-71.

Kervancıoğlu G., 2018. Kanser hastalarında fertilitenin korunmasında kullanılan kriyoprezervasyon yöntemleri. *Tıp Fakültesi Klinikleri Dergisi*, 1(2): 17-26.

Kim JY., 2012. Control of ovarian primordial follicle activation. *Clin Exp Reprod Med*, 39(21): 10.

Koerner J, Nesic D, Romero JD, Brehm W, Mainil-Varlet P, Grogan SP., 2006. Equine peripheral blood-derived progenitors in comparison to bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 24(6): 1613-1619.

Kruse C, Danner S, Rapoport DH., 2008. Current stem cell technology: limitations and realistic expectations. *Engineering in Life Sciences*, 8(1): 13-18.

Lanza R, Gearhart J, Hogan B, Melton D, Pedersen R, Thomas ED, Thomson JA., 2005. *Essentials of stem cell biology II* nd Ed. Elsevier, Academic Press, ISBN 978-0-12-374729-7.

Lynch JA., 2011. *What are stem cells? Definitions at the intersection of science and politics*. Tuscaloosa, AL: University of Alabama Press.

Morgani SM, Canham MA, Nichols J, Sharov AA, Migueles RP, Ko MSH, Brickman J M., 2013. Totipotent embryonic stem cells arise in ground-state culture conditions. *Cell Rep*, 3(6): 1945-1957.

Nagano M, Patrizio P, Brinster RL., 2002. Long-term survival of human spermatogonial stem cells in mouse testes. *Fertil Steril*, 78(6): 1225-1233.

Ogawa T, Arechaga JM, Avarbock MR, Brinster RL., 2003. Transplantation of testis germinal cells into mouse seminiferous tubules. *Int J Dev Biol*, 41(1): 111–122.

Ogawa T, Dobrinski I, Avarbock MR, Brinster RL., 2000. Transplantation of male germ line stem cells restores fertility in infertile mice. *Nat Med*. 6, 29–34.

Özen A, Gül Sancak İ., 2014. Mesenchymal stem cells (Msc) and stem cell applications in veterinary medicine. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 61(1): 79-84.

Özer A.(Ed.), 2018. *Temel Histoloji*. Bursa: Dora.

Pabuccuoğlu S., 2021. *Biyoteknoloji Ders Notu*. Erişim tarihi: 20.04.2021

Parrot DMV., 1960. The fertility of mice with orthotopic ovarian grafts derived from frozen tissue. *J Reprod Fertil*, 1(3): 230–241.

Pukazhenti B, Comizzoli P, Travis AJ, Wildt DE., 2005. Applications of emerging technologies to the study and conservation of threatened and endangered species. *Reprod Fertil Dev*, 18(2): 77-90.

Radford JA, Shalet SM, Lieberman BA., 1999. Fertility after treatment for cancer: questions remain over ways of preserving ovarian and testicular tissue. *BMJ*, 319(7215): 935–936.

Sağsöz H, Ketani MA., 2008. Kök hücreler. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 1(2): 29-33.

Santos RR, Knijn HM, Vos PLAM, Oei CHY, Loon TV, Colenbrander B, Gadella BM, van den Hurk R, Roelen BAJ., 2009. Complete follicular development and recovery of

ovarian function of frozen–thawed, autotransplanted caprine ovarian cortex. *Fertil Steril*, 91(4): 1455–1458.

Schatten H., 2007. Introduction histology, cellular and molecular biology. In: *Comparative Reproductive Biology*. Ed.: Schatten H, Constantinescu GM, 64-65.

Schubert B, Canis M, Darcha C, Artonne C, Smitz J, Grizard G., 2008. Follicular growth and estradiol follow-up after subcutaneous xenografting of fresh and cryopreserved human ovarian tissue. *Fertil Steril*, 89(6): 1787–1794.

Seandel M, James D, Shmelkov SV, Falciatori I, Kim J, Chavala S, Scherr DS, Zhang F, Torres R, Gale NW, Yancopoulos GD, Murphy A, Valenzuela DM, Hobbs RM, Pandolfi PP, Rafii S., 2007. Generation of functional multipotent adult stem cells from GPR125+ germline progenitors. *Nature*; 449(7160): 346-350.

Shetty G, Uthamanthil RK, Zhou W, Shao SH, Weng CC, Taylor RC, Hermann BP, Orwig KE, Meistrich ML., 2013. Hormone suppression with GnRH antagonist promotes spermatogenic recovery from transplanted spermatogonial stem cells in irradiated cynomolgus monkeys. *Andrology*, 1(6): 886–898.

Shinohara T, Inoue K, Ogonuki N, Kanatsu-Shinohara M, Miki H, Nakata K, Kurome M, Nagashima H, Toyokuni S, Kogishi K, Honjo T, Ogura A., 2002. Birth of offspring following transplantation of cryopreserved immature testicular pieces and in-vitro microinsemination. *Hum Reprod*, 17(12): 3039–3045.

Silber S., 2016. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: scientific implications. *J Assist Reprod Genet*, 33(12): 1595–1603.

Şahin İ., 1987. *Biyoteknoloji ve tarım*. Dergipark: 12(5).

Şahin F, Saydam G, Omay SB., 2005. Kök hücre plastisitesi ve klinik pratikte kök hücre tedavisi. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*, 1(15): 48-56.

Şenel F., 2002. Kök hücreler. *Bilim ve Teknik Dergisi*, Şubat (eki), 1-15.

Takahashi K, Yamanaka S., 2006. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *J Cell*, 126(4): 663- 676.

Tekeli S, Arısu Naghavi E, Gökçe B, Sır G, Yiğittürk G, Çavuşoğlu T, Uyanıkgil Y., 2016. Kök hücreler; mezenkimal kök hücreler ve güncel klinik uygulamaları. *İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Transplantasyon Dergisi*, 1(2): 72-83.

Thomson JA, Kalishman J, Golos TG, Durning M, Harris CP, Becker RA, Hearn JP., 1995. Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proc Natl Acad Sci*, 92(17): 7844-7848.

Thomson JA., 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 282.

Thore CB, Sudheer S, Janke D, Jagodzinska J, Jung M, Adjaye J., 2008. The origins of human embryonic stem cells: A biological conundrum. *Cells Tissues Organs*, 188(1-2): 9–22.

TÜBA. Kök Hücre Çalışma Grubu., 2009. Kök hücre biyolojisi ve klinik uygulamalar. Türkiye Bilimler Akademisi Raporları, Sayı:20.

Ural AU., 2006. Kök hücre. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi*, 5, 3-4.

Van Eyck AS, Jordan BF, Gallez B, Heilier JF, Van Langendonck A, Donnez J., 2009. Electron paramagnetic resonance as a tool to evaluate human ovarian tissue reoxygenation after xenografting. *Fertil Steril*, 92(1): 374–381.

Yanar S, Açıkgöz Ş, Şahin E, Sarıkaya A., 2017. Spermatogonial kök hücre / Spermatogonial stem cell. *MMJ*, 4(1): 37-44.

Yıldız C, Mullen B, Jarvi K, McKerlie C, Lo K., 2013. Effect of different cryoprotectant agents on spermatogenesis efficiency in cryopreserved and grafted neonatal Mouse testicular tissue. *Cryobiology*, 67(1): 70–75.

Youm HW, Lee JR, Lee J, Jee BC, Suh CS, Kim SH., 2015. Transplantation of mouse ovarian tissue: comparison of the transplantation sites. *Theriogenology*, 83(5): 854–861.

Zheng Y, Thomas A, Schmidt CM, Dann CT., 2014. Quantitative detection of human spermatogonia for optimization of spermatogonial stem cell culture. *Human Reproduction*, 29(11): 2497-2511.