

Bölüm 8

PRİMER OVER YETERSİZLİĞİ VE TEDAVİSİNE YÖNELİK KÖK HÜCRE ÇALIŞMALARI

Suna YILDIRIM KARACA¹

Kök hücreler buldukları ortama ve kendilerine ulaşan sinyallere göre spesifik dokulara farklılaşabilen, kendilerini yenileme özelliğine sahip hücrelerdir (1). Genel olarak pluripotent ve multipotent olarak ikiye ayrılırlar. Pluripotent kök hücreler endoderm, ektoderm ve mezoderm tabakalarından köken alan hücrelere farklılaşma özelliklerine sahiptirler (2). Embriyonik kök hücreler tüm kök hücreler içerisinde potansiyeli en yüksek olan pluripotent hücrelerdir. Ancak embriyonik hücreler blastokistin iç tabakasında lokalize olduklarından izolasyonları embriyonun bozulmasına ve kaybına yol açabilir (2). Bu nedenle embriyonik kök hücrelerin elde edilmesi etik dışı olarak kabul edilmektedir.

Araştırmalarda alternatif kök hücre kaynağı olarak indüklenmiş pluripotent hücreler ve mezenkimal kök hücreler kullanılmaktadır (3). İndüklenmiş pluripotent kök hücreler fibroblastların yeniden programlanmasıyla elde edilen yapay kök hücrelerdir (4). Bu hücreler etik kaygı olmadan çalışmalarda kullanılabilirler.

Mezenkimal kök hücreler ise multipotent kök hücrelerdir. Sadece mezodermden çoğaltılmalarına rağmen osteositler, kondrositler, adipositler, hepatositler ve nöronlar gibi farklı dokulara adapte olabilmelerinden dolayı hem araştırmalarda hem de tedavilerde yaygın olarak kullanılmaktadırlar (5). Mezenkimal kök hücreler kemik iliği, yağ dokusu, amniotik sıvı, umbilikal kord, plasenta gibi farklı dokulardan elde edilebilir (6). Bu hücrelerin en önemli özelliği immünolojik etkilerinin düşük olmasıdır (6). Bu nedenle tedavilerde kullanılabilirler.

Günümüzde özellikle dejeneratif hastalıkların tedavisinde kök hücrelerin kullanımına yönelik birçok çalışma devam etmektedir (7). Bu çalışmaların sonuçları gelecekte yeni tedavi stratejileri açısından önem arzedecektir. Kök hücrelerin over dokusuna etkisini araştıran az sayıda klinik çalışma olmasına rağmen kök hücreler özellikle prematür overyan yetmezlik (POY) açısından en fazla umut vadeden tedavi yöntemi olabilir.

¹ Dr., İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, drsunayildirimkaraca@gmail.com.
ORCID iD: 0000-0001-6633-0342

Prematür ovarian yetmezlik overin fonksiyonunun azalmasına nedeniyle oluşan hipoöstrojenik durum ve bunun klinik yansımaları olan fenotipi bakımından çok değişkenlik gösteren heterojen bir bozukluktur (8) . İnsidansı yaklaşık %1 ile 3 arasında değişmektedir. 35 yaşında yaklaşık 1/250 oranda görülürken, insidansı 40 yaş civarında yaklaşık 1/100'lere ulaşır (9).

40 yaşından önce gelişen yükselmiş gonadotropin, azalmış östradiol, azalmış AMH (antimüllerien hormon) ve inhibin B düzeyi, azalmış antral folikül sayısı erken over yetmezliğini düşündürür (10) . Hastaların %10-28'i primer amenore ile başvurur (11). Çoğu hastada ise oligomenore, polimenore ya da disfonksiyonel uterin kanama gibi menstrüel düzensizlikler sonrasında amenore gelişir. Olguların yaklaşık yarısında ovulasyon devam ettiği için adet düzensizliği görülmektedir (11). Erken yaşta ovarian yetmezliğe giren kadınlarda klasik triad adet düzensizlikleri, gonadotropin yükseklikleri ve infertilitedir (12) . Menstrüel düzensizlikler başlamadan aslında infertilite azalmıştır. Ancak bu durumu tesbiti her zaman mümkün olmayabilir (12) . Uzun dönemde ise bu hastalarda östrojen eksikliğine bağlı osteopeni, osteoporoz, ateroskleroz, metabolik hastalık, genital atrofi gözlenebilmektedir. POY multifaktöriyel etyolojiye sahip bir hastalıktır. Etiyolojisinde genetik hastalıklar, overleri etkileyen radyoterapi, toksinler, enfeksiyonlar ve otoimmün sebepler bulunmaktadır(13,14,15).

Kök hücre çalışmalarında sıçanlarda POY modeli oluşturabilmek için farklı yöntemler kullanılmaktadır. En kolay overyan yetmezlik oluşturma yöntemi kimyasallar (busulfan veya siklofosamid) kullanılarak oluşturulmaktadır(16). Ancak kök hücre tedavilerinin etkinliğini anlamak için en uygun POY oluşturma modeli doğal yaşlanmadır. Bu modelde 14-15 aylık sıçanlar kullanılır ve over yetmezliği vajinal smear ile doğrulanır (17). Overleri cerrahi hasara uğratarak oluşturulan POY modelide araştırmalarda az da olsa kullanılmaktadır (18). Diğer bir POY modeli ise genleri devre dışı bırakarak oluşturulur. Follitropin genlerinin devre dışı bırakılması buna örnektir. Yapılan bir çalışmada; intravenöz enjekte edilen mezenkimal multipotent kök hücrelerin, sıçanların follitropin genleri inaktive edilmiş overlerine ulaşarak FSH reseptörlerini farklılaştırdığı, östrojen üretimini ve follikülogenezi arttırdığı gösterilmiştir (19).

Kök Hücre Kaynakları

Kök hücreler farklı dokulardan elde edilebilmektedir.

- Embriyonel kök hücreler blastokistin iç hücre tabakasından elde edilirler. Etik sorunlar nedeniyle bu hücreler araştırmalarda kullanılamazlar (2).

Araştırmalarda multipotent kök hücreler kullanılır. Bu hücrelerin bazıları ootoguttur yani sadece donöre verilebilir. Bazıları ise allojeniktir dolayısıyla başka hastalarda verilebilir.

- Yetişkinlerden izole edilen kök hücreler arasında adipozdan elde edilen kök hücreler ve periferik kandan elde edilen mononükleer kök hücreler bulunmaktadır. Kemik iliğinden elde edilen kök hücreler hem otolog hemde allojeniktir (20).
- Diğer bir kök hücre kaynağı amniotik sıvı kaynaklıdır. Bunlar amniotik epitel hücreleri ve amniotik sıvı kök hücreleridir. Amniotik membrandan veya sıvıdan izole edilebilirler (21).
- Umbilikal kord, mezenkimal kök hücrelerin diğer kaynağıdır. Umbilikal ven mezenkimal kök hücreleri ve kord mezenkimal kök hücreleri çok düşük immunojenik etki gösterdikleri için allojenik tedavilerde kullanılabilirler (22).
- Diğer kök hücre kaynağı plasentadır. Plasenta kaynaklı hücreler over fonksiyonunun iyileştirilmesi amacıyla çalışmalarda sıkça kullanılmaktadır (23).
- İzole edilmelerindeki kolaylık nedeniyle kadınlardan elde edilen overyan kök hücreler ve menstrüel kan kaynaklı kök hücrelerde araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadırlar (24).

Kök Hücrelerin Over Dokusu Üzerine Potansiyel Terapötik Etkileri

Son yıllarda yapılan birçok deney kök hücrelerin otokrin ve parakrin sinyal yollarına katılarak hücre onarıcı etkileri olduğunu bildirmiştir. Buna ek olarak araştırmacılar kök hücre transplantasyonunun granuloza hücrelerinin apoptozisini engelleyerek over fonksiyonunu düzelttiğini göstermişlerdir (25).

Kök hücre tedavisinin etkinliği folikülogenez, granuloza hücrelerinin apoptozis hızı, gebelik oranları ve over kaynaklı hormon düzeylerinin ölçümü ile değerlendirilebilir. Aşağıda farklı tip kök hücrelerin over fonksiyonuna etkisini gösteren çalışmalar özetlenmiştir.

- Adipoz doku kaynaklı kök hücrelerin overe transplantasyonu sonrası folikülogenezin hızlanmaktadır. Ayrıca adipoz kök hücreler p53, kaspas3 ve BCL-2 gibi apoptozis ile ilişkili genlerin seviyelerinde azaltarak over hücrelerinde apoptozisten korumuşlardır (26).
- Başka bir çalışmada periferik kan kaynaklı multipotent mononükleer kök hücreler, trombositten zengin plazma (PRP) ile birlikte POY oluşturulan sıçanlara verildiğinde folikülogenez tekrar eski haline dönmüştür (27).
- Umbilikal kord kaynaklı kök hücreler ile tedavi edilen sıçanlarda FSH düzeyleri düşmüş, AMH, over ağırlığı ve folikül sayısı artmıştır (22).
- Amnion kaynaklı mezenkimal kök hücreler ve plasental kök hücreler granuloza hücre apoptozisini inhibe etmiş, estriol, AMH hormonları arttırmış ve foliküler büyümeyi hızlandırmıştır. Ayrıca amnion kaynaklı kök hücreler granuloza hücre apoptozisini indükleyen genleri inhibe eden mİR-146a ve 10a ' yıda içermektedir (21,28).

- Yeni kök hücre kaynaklarından birisinde insan menstrüel kanındaki kök hücrelerdir. Bu hücreleri elde etmek için invaziv girişime ihtiyaç duyulmaması büyük avantaj sağlamaktadır. POY oluşturulan sıçanlara tranplantasyon edilen bu hücreler overdeki hücre apoptozisini inhibe etmişlerdir (24).

Aslında POY oluşturulan sıçanlarda kök hücre tedavisinin etkinliğini gösteren en önemli veri elde edilen gebelik oranlarıdır. Yapılan bir çalışmada çiftleşmeden önce kimyasal olarak POY oluşturulmuş sıçanlara mezenkimal kök hücre transplantasyonu uygulanmış ve takiplerde sıçanların tamamında gebelik bildirilmiştir. Ekstrakte edilen oositlerin in vitro olarak döllenenmesi ise zor olmuştur. Bu durum yazarlarca in vitro fertilizasyon konusunda kök hücre çalışmalarının daha fazla yapılması gerektiği şeklinde değerlendirilmiştir (29).

Klinik Çalışmalar

Yapılan klinik çalışmalar kök hücre transplantasyonunun, menstrüel kanamaların yeniden başlaması, hormon seviyelerinin düzelmesi ve az sayıda hastada gebelik bildirilmesine dayanarak, over fonksiyonunu iyileştirdiğini düşündürmektedir.

M.Edessy tarafından yürütülen bir çalışmada on POY hastasına mezenkimal kök hücre uygulanmış bu hastalardan ikisinde menstrüel kanama başlamış birinde ise gebelik oluşmuştur. Başka bir çalışmada ise yazarlar mezenkimal kök hücre ile birlikte kollojen verilerek kök hücrelerin overe tutunmasını arttırdıklarını ve over fonksiyonlarında düzelme sağladıklarını bildirmişlerdir (30).

Over fonksiyonunu arttırmaya yönelik melatonin ve dehidroepiandrosterone takviyesinin, otoimmün over yetmezliğinde steroid ve monoklonal antikor kullanımının olumlu etkileri bildirilmesine rağmen en umut vadeden çalışmalar kök hücre teknolojisi ile yapılmaktadır (31,32,33).

Kök hücrelerle standart bir tedavi modeli oluşturabilmek için; kök hücre uygulama yolunun, transplante edilecek kök hücre sayısının, alıcının vereceği immun yanıtın bilinmesi gerekmektedir. Bu sorulara cevap alabilmek için çok sayıda in vivo çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKÇA

1. M. Ghadami, E. El-Demerdash, D. Zhang, M.H. Hassan, M. Nagamani, X. Chen, J. Chedress, M.R. Sairam, A. Al-Hendy, Intravenously injected bone marrow cells restore ovarian folliculogenesis and steroid hormones production in female FSHR (-/-) mice, Reproductive Sciences, Sage Publications Inc., 2455 Teller Rd, Thousand Oaks, CA 91320 Usa, 2008 pp. 228A.
2. Sheikhsari G, et al. Current approaches for the treatment of premature ovarian failure with stem cell therapy. Biomed Pharmacother. 2018;102:254–62.
3. D.G. Phinney, D.J. Prockop, Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair—current views, Stem Cells 25 (11) (2007) 2896–2902.

4. S. Wang, L. Yu, M. Sun, S. Mu, C. Wang, D. Wang, Y. Yao, The therapeutic potential of umbilical cord mesenchymal stem cells in mice premature ovarian failure, *BioMed Res. Int.* 2013 (2013).
5. Samsonraj RM, et al. Concise review: multifaceted characterization of human Mesenchymal stem cells for use in regenerative medicine. *Stem Cells Transl Med.* 2017;6(12):2173–85.
6. Fazeli Z, et al. Mesenchymal stem cells (MSCs) therapy for recovery of Fertility: a systematic review. *Stem Cell Rev Rep.* 2018;14(1):1–12.
7. C.-H. Cui, T. Uyama, K. Miyado, M. Terai, S. Kyo, T. Kiyono, et al., Menstrual blood-derived cells confer human dystrophin expression in the murine model of Duchenne muscular dystrophy via cell fusion and myogenic transdifferentiation, *Mol. Biol. Cell.* 18 (5) (2007) 1586–1594.
8. Center, J.R., Mc Elduff, A., and Roberts, C.G., (1994 May). Premature Ovarian Failure and Ovarian Dysgenesis Associated with Balanced and Unbalanced X-6 Translocations, Respectively: Implications for the Investigation of Ovarian Failure. *Aust N Z J Obstet. Gynaecol.* 34(2):185-8.
9. Kodaman PH, Early Menopause: Primary Ovarian Insufficiency and Surgical Menopause *Semin Reprod Med* 2010; 28: 360-369.
10. Knauff EA, Eijkemans MJ, Lambalk CB, ten Kate-Booij MJ, Hoek A, Beerendonk CC, Laven JS, Goverde AJ, Broekmans FJ, Themmen AP, de Jong FH, Fauser BC; Dutch Premature Ovarian Failure Consortium. Anti-Mullerian hormone, inhibin B, and antral follicle count in young women with ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 786-92.
11. Welt, C.K., (2017). Pathogenesis and Causes of Primary Ovarian Insufficiency (Premature Ovarian Failure): <https://www.uptodate.com/contents/pathogenesis-and-causes-of-spontaneous-primary-ovarian-insufficiency-premature-ovarian-failure>.
12. Bakalov, V.K., Anasti, J.N., Calis, K.A., Vanderhoof, V.H., Premkumar, A., Chen, S., et al., (2005). Autoimmune Oophoritis as a Mechanism of Follicular Dysfunction in Women with 46, XX Spontaneous Premature Ovarian Failure. *Fertil Steril.* 84(4):958.
13. Simpson JL, Genetic and phenotypic heterogeneity in ovarian failure: overview of selected candidate genes, *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1135:146-154.
14. Welt CK, Autoimmune oophoritis in the adolescent, *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1135: 118-22.
15. Picton HM, Harris SE, Muruwoi W, Chambers EL The in vitro growth and maturation of follicles. *Reproduction* 2008; 136: 703–715.
16. Pan Y, et al. Biological and biomechanical analysis of two types of mesenchymal stem cells for intervention in chemotherapy-induced ovarian dysfunction. *Arch Gynecol Obstet.* 2017;295(1):247–252.
17. Ding C, et al. Human amniotic mesenchymal stem cells improve ovarian function in natural aging through secreting hepatocyte growth factor and epidermal growth factor. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):55.
18. Erler P, Sweeney A, Monaghan JR. Regulation of injury-induced ovarian regeneration by activation of Oogonial stem cells. *Stem Cells.* 2017;35(1): 236–47.
19. Park D, et al. Concise review: stem cell microenvironment on a Chip: current Technologies for Tissue Engineering and Stem Cell Biology. *Stem Cells Transl Med.* 2015;4(11):1352–68.
20. M. Sun, S. Wang, Y. Li, L. Yu, F. Gu, C. Wang, Y. Yao, Adipose-derived stem cells improved mouse ovary function after chemotherapy-induced ovary failure, *Stem Cell Res. Therapy* 4 (4) (2013) 80.
21. G.-Y. Xiao, I.-H. Liu, C.-C. Cheng, C.-C. Chang, Y.-H. Lee, W.T.-K. Cheng, S.-C. Wu, Amniotic fluid stem cells prevent follicle atresia and rescue fertility of mice with premature ovarian failure induced by chemotherapy, *PLoS One* 9 (9) (2014) .e106538.
22. J. Li, Q. Mao, J. He, H. She, Z. Zhang, C. Yin, Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve the reserve function of perimenopausal ovary via a paracrine mechanism, *Stem Cell Res. Ther.* 8 (1) (2017) 55.
23. Song D, et al. Human umbilical cord Mesenchymal stem cells therapy in cyclophosphamide-induced premature ovarian failure rat model. *Biomed Res Int.* 2016;2016:2517514.

24. Zhang H, et al. Effects of hPMSCs on granulosa cell apoptosis and AMH expression and their role in the restoration of ovary function in premature ovarian failure mice. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):20.
25. M. Ghadami, E. El-Demerdash, D. Zhang, M.H. Hassan, M. Nagamani, X. Chen, J. Chedress, M.R. Sairam, A. Al-Hendy, Intravenously injected bone marrow cells restore ovarian folliculogenesis and steroid hormones production in female FSHR (-/-) mice, *Reproductive Sciences*, Sage Publications Inc., 2455 Teller Rd, Thousand Oaks, CA 91320 Usa, 2008 pp. 228A.
26. Bao R, et al. Bone marrow derived mesenchymal stem cells transplantation rescues premature ovarian insufficiency induced by chemotherapy. *Gynecol Endocrinol.* 2018;34(4):320–6.
27. Huang Q, et al. G-CSF-mobilized peripheral blood mononuclear cells combined with platelet-rich plasma accelerate restoration of ovarian function in cyclophosphamide-induced POI ratsdagger. *Biol Reprod.* 2019; 101(1):91–101.
28. Zhang Q, et al. Human amniotic epithelial cell-derived Exosomes restore ovarian function by transferring MicroRNAs against apoptosis. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2019;16:407–18.
29. Mohamed SA, et al. Human Mesenchymal stem cells partially reverse infertility in chemotherapy-induced ovarian failure. *Reprod Sci.* 2018;25(1): 51–63.
30. Edessy M. Successful Autologous Stem Cell Therapy In Premature Ovarian Failure. *MOJ Womens Health.* 2015;1(3):57-58. DOI: 10.15406/mojwh.2015.01.00013.
31. G. Bellipanni, P. Bianchi, W. Pierpaoli, D. Bulian, E. Ilyia, Effects of melatonin in perimenopausal and menopausal women: a randomized and placebo controlled study, *Exp. Gerontol.* 36 (2) (2001) 297–310.
32. J. Qin, L. Fan, A. Qin, The effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation on women with diminished ovarian reserve (DOR) in IVF cycle: evidence from a meta-analysis, *J. Gynecol. Obstet. Hum. Reprod.* 46 (1) (2017) 1–7.
33. F.S. Cowchock, J.L. McCabe, B.B. Montgomery, Pregnancy after corticosteroid administration in premature ovarian failure (polyglandular endocrinopathy syndrome), *Am. J. Obstet. Gynecol.* 158 (1) (1988) 118–119.