

HÜCRE ÜREMESİNİN DÜZENLENMESİ VE DEVRELERİ KONUSUNDA MODERN GÖRÜŞLER

Erdoğan Ertürk*

Modern biyoloji ve tıp bilimlerinin oturtulduğu ana temellerden biri ve belki de en önemlisi olan Hücre Doktrini'ne göre; ister tek hücreli bir yaratık, isterse çok hücreli organizmaya ait olsun; her hücre gene kendisi gibi başka bir hücreden meydana gelir^(38,39). Her somatik hücre bağlı olduğu doku, ya da organın görevini tam yapabilmesi için çalışır; didinir ve süresi değişen bir zamanda yıpranarak ölür. Çok hücreli organizmalarda; değişik olayları yürüten değişik organ, doku ve bu dokuların görev ya da fonksiyonlarına uyacak şekilde farklılaşmış çeşitli tip hücreler vardır. Organizmada hayatsal düzenin sağlanması ve sürekliliği için bu doku ve hücrelerin durmadan çalışmasına, veya kısa deyimle hücrelerin kendilerine, devamlı bir ihtiyaç vardır. Bu sonuç ise doku ya da hücre fonksiyonu ile hayatsal düzen ve devamlılığın iç içe kenetli bulunduğunu gösterir. Çalışıp ölen hücrelerin yerine; yenisi başlıca iki yoldan geçmektedir. Birincide hücre, hayatının hiç değilse bir bölümünde, bilinmeyen bir neden ve mekanizma ile kendisinin yaşlandığını hissederek üreme siklusuna girer. İkinci yolda, üreme yeteneğini yitiren dokusal bireyin ölümünde, yerine geçen, yeni hücreler özel bir üreme tabakasından gelişirler. Ancak, belli sınırlar içinde, bu iki yol arasında fark olmamaktadır, zira hücrede üreme olayı dış etkilerle durdurulabildiği gibi yeniden başlatılabilmektedir.

İster amip, veya fötusa ait bir nöyron, olgun bir eritrosit, isterse epitel, bağlayıcı doku ya da bir gonad hücresi olsun; hepsi belirli bir hayatsal düzene ve bunu sürdürecekt fonksiyonlara sahiptir ve genel bir kural olarak; her hücre, kendisine kadar gelmiş bulunan ve karışık birçok olayın farklı mekanizmalarıyla yüksek bir uygunluk ve beraberlik içinde çalışmasına dayanan hayatsal düzeni sürdürmekle yü-

* Ankara Üniv. Vet. Fak. Patolojik anatomi Kürsüsü Dr. Asistanı

yükümlüdür. Devamlılığı değişik yollardan sağlanan hayat; gonad, epitel ya da bağdoku hücresi gibi kendiliğinden üreyebilen, veya nöyron, çizgili kas ve eritrosit gibi üreyemeyenlerde farklı bir akış gösterir. İlk grupta, epitel gibi farklılaşma gösterenlerde bile, üreme yeteneği vardır (kanserlerde bu yeteneğin tekrar meydana çıkması) ve bu bakımdan gonad hücresine benzetilebilirler. İkinci gruptaki hücrelerin kendi hayatlarının devamlılığı, organizma hayatının devamlılığını sağlamak için yüksek derecede bir adaptasyon sırasında, çeşitli nedenlerden, feda edilmek durumunda kalınmıştır. Örneğin, alyuvarların göreve uyumu sırasında, ödevin sitoplazma içerisinde, en iyi bir şekilde yapılabilmesi için burada yeteri kadar hemoglobinin ve diğer enzimlerin depolanmasına yer açmak amacıyla, çekirdek ve onunla birlikte; bütün genetik yetenekler hücre dışı edilmiş, diğer bir deyimle; görev için üreme yeteneği feda edilmiştir. Üreme olayları görev ve yapısal yönlerden böylesine ayrılmalar gösterebilen, normal somatik hücreler ile bunların daha ilk el şekilleri olan tümör hücrelerinde belli özel devreleri bakımından, temelde birbirine çok yakın, belki de farksızdır. Ancak bugün, M e r k e z i D o ğ m a dediğimiz ve⁽¹¹⁾ “hücrenel olayları doğrudan, ya da dolambaçlı yollardan, çekirdeğin genetik eylemlerine bağlayan” görüş yüzünden sitoplazmik değişmelere gerekli derecede önem verilememiştir. Halbûki, üreme siklusuna giren hücrede, çekirdekteki kromozomal artışı sağlamak yanında, sitoplazmada da çok çeşitli ve önemli olaylar cereyan etmektedir. Örneğin, mitokondriyon, ribozom ve yeni membranların yapımı, bunlar ve daha birçok madde sentezi için gereken enerjinin üretildiği aerobik ve anaerobik glikoliz ile yağ metabolizması reaksiyonlarının verim ve kapasiteleri iki misline çıkartılır. Bu biyokimyasal olaylar birbirleriyle iç içe bir uygunlukta, çok sıkı bir kontrol altında ve bir sıra veya düzene göre meydana gelirler. Eskiyen bir mitokondriyonun çatlayarak iki yeni mitokondriya meydana getirdiği bilinmekte^(21,22) ancak neden, ne zaman, ne gibi mekanizma ile çatlama ihtiyacını duyduğu ve bu olayın diğerleriyle ne yoldan ayarlanabildiği henüz anlaşılmuş değildir. Burada çatlama sonu meydana gelen genç mitokondriya, eski hücre için lüzumsuz bir fazlalık olmayıp; meydana gelecek yeni nesil için bir ihtiyaç ya da hazırlanmadır. Mitokondriyanın hücrede ATP — ADP, DPN⁺ — DPNH (H⁺) ve TPN — TPNH(H⁺) gibi, enerji depo maddelerinin yoğunluklarını önceden ayarlayıp, kendisinin ortadan çatlaması anında, hücrenin duyabileceği enerji ihtiyacını dahi evvelden bilip depo edebilmesi bir raslantı olamaz. Bu delillerin her biri hücrenin büyümesi, iç elementlerinin sentez ve yapımı ile fonksiyon arasında çok sıkı ilişkiler bulunduğunu ispatlayacak güçte-

dir. Şimdi bu düzen ile olayların sırasını ve bunları kapsıyan özel devreleri görelim:

G₁ - Periyodu: Ortaya çıkışına yol açan kimyasal mekanizma bilinmemekteyse de üreme siklusu ileri devrelerinde cereyan edecek genetik olaylara gerekecek maddelerin sentezlendiği bu periyot ile başlamaktadır (Şekil 1,2). Görüldüğü gibi genç hücre; ya tümörlerdeki gibi *devamlı üreme* veya özel dokulardaki gibi *farklılaşma* şeklinde iki yoldan birini seçecektir. Devamlı üreyecek olan (neoplastik) hücre için farklılaşma, somatik hücrelerde ise, özel adaptasyonlar sonu, üreme yolu kapalı tutulmaktadır. Kısmi hepatektomi operasyonunu izleyen hücre yenilenmesi (rejenerasyon) anında, aktif DNA sentezinin başlamasından önce, timidin-pirofosfat ve diğer nükleotidlerle bunları birbirine bağlayacak olan DNA-Polimeraz enzimi miktarlarının artmış bulunması^(3,4,8), memeli böbrek epitellerinin kültürde her nasılsa, aktiviteleri artan DNA-Polimeraz ve Timidinkinaz enzimleri yüzünden, yeniden DNA sentezlemeğe başlaması^(1,18), her ne kadar tümör hücrelerine uymazsa da (Minimal Deviation Hepatoma'da Thimidine-Kinase enzimi sentezi DNA replikasyonu ile beraber başlar ve bir geç kalma görülmez), hem rejenera olan karaciğer hücresinde, hem de kültürdeki böbrek epitelinde daha önceden (*G₁* periyodunun sonlarına doğru) epeyce bir hazırlığın yapılmış ve neticede bir kısım maddenin depolanmış olmasını kabulce zorlamaktadır.

Eskiden "*G₁* devresinin başlamasına sebep kabul edilen Timidin-1-ve Timidin-2-fosfat Kinaz⁽³²⁾ ve DNA-Polimeraz^(19,20) enzimlerinin sentezlenmesi" görüşü, üremekte olan bazı hücrelerin bu gibi enzimleri *G₁*'in başından sonuna kadar iltiva etmeleri ve S-devresine geçmekle (Şekil 1) enzim miktarlarında, ya da aktivitelerinde, bir artış görülmeşi ile tarihe karışmıştır. Çünkü, sayısı hayli kabarık denemeler sonunda, bu devredeki RNA ve protein sentezlerinin çok daha önemli olduğu anlaşılmıştır^(2,14,24,35). Protein sentezi, hemen DNA sentezlenmesinin başlangıcına kadar devam etmektedir. RNA veya protein sentezlerinden birinin bir inhibitör (RNA için Aktinomisin-D, protein sentezi için Kloramfenikol en kullanışlı inhibitörler olarak tanınmışlardır) ile durdurulmasında⁽³⁷⁾ hücreler *G₁* - periyodunda bloke edilmektedirler. Bu sonuç ise yeni DNA sentezi için gerekecek histonların, bu devreden S-periyoduna geçmeden az önce yapıldığını göstermektedir (Şekil 1. de kontrol noktasıyla S-arası). İşte bu noktadan deneysel sonuçlara da uygun gelen yepyeni bir hipotez doğmuştur. Buna göre "*G₁*'in sonlarında, kromozom replikasyonu başlatacak özel bir protein (İnitiator protein) sentezlenmektedir". Buna delil olarak ise aşağıdaki olaylar bildirilmiştir. L-hücrelerinde *G₁*-periyo-

du uzunluğunun hücre kütleleriyle ters orantılı olarak hesaplanması⁽¹³⁾ bu devrenin metabolik olaylarla ilişkisini göstermiş, hatta büyüyüp gelişme devresi olarak üreme ile ilişkisi bulunmadığını dahi düşündürmüştür. G_1 'in diğer bir özelliği de süresinin uzatılıp kısaltılabilesidir ki bu elâstikiyeti de yine metabolik ihtiyaçlara dayanmakla açıklanabilir. Örneğin, hücre kültüründe, (ısı dışında) çevresel faktörlerin değiştirilmesi ile hücre yenilenme zamanı (generation time) uzar. Bu uzayış da G_1 'in uzamasından başka bir şey değildir. Kültüre kloramfenikol katıp üreme siklusu durdurulan hücreler de bu devrede bloke edilmektedirler. Bu şekilde durdurulan kültürün belli bir zaman sonunda yıkılıp, inhibitörden arıtılmasıyla, istek üzerine gayet uzun sürdürülen G_1 - periyodundan sonra, üreme siklusu durdurulduğu yerden tekrar başlayıp devam eder. Bu tip olaylar bakteri, mantar, protozoa ve memeli hayvanlardan elde edilecek çeşitli doku hücreleri kullanılarak defalarca demonstre edilmiştir. Genel olarak, G_1 süresi uzayıp kısalırken $S+G_1+M$ devreleri toplamı (Şekil 1) nisbeten sabit kalmaktadır. Örneğin, sindirim kanalının değişik kısımlarındaki epitel hücrelerinde G_1 - periyodunun ortalama uzunluğu 17 (ileumda) ile 181 (özefagusta) saat arasında değişirken⁽⁵⁾, $S+G_1+M$ toplamı 10 saat civarında bulunmuştur⁽⁶⁾. Bu sonuç her dokuya özel bir yenilenme zamanı bulunduğunu ve bu sürenin G_1 - periyoduna etkiyen özel bir madde ile ayarlandığını düşünmüştür. *In Vitro* hücre kültürlerinde hücrelerin G_1 - periyodunda uzun süre kalmalarıyla *In Vivo* nöron ve benzeri üremeden kalmış hücrelerin; siklusu yine bu devrede terketmeleri, "üreme bozukluklarının G_1 - devresinde işleyen bir kontrol mekanizmasındaki arızaya ilgili" olabileceğini telkin etmektedir. Bu düşünüşe göre, doku kendi meydana getirdiği özel ayarlayıcı maddelere karşı, kendi duyarlılığını kaybetmekte, bu durum ise G_1 içerisinde cereyan etmekte olan reaksiyonların kontrolünden çıkmasına yol açmaktadır. Bu görüşün çeşitli deneysel bulgulara göre genetik bir kökene oturtulabileceği de kuvvetle savunulmuştur. Bu savunmaya *Drosophila*'nın tükrük bezi hücresi ikinci kromozomunda mutasyon sonucu, homozigot larvada, transplante edilebilen, kötü huylu bir beyin tümörü meydana gelişi (belli bir mutasyonun, belli dokuda, belli zamanda neoplastik üremeye yol açışının genetik mekanizması olması gerekir) delil gösterilmiş ve nedenini açıklamamışsa da, G_1 - devresindeki bir değişimin, hücre üremesine etkili olduğunu açıkça izah etmiştir. Bazı protozoon, mantar veya bakterinin üreme silusunda bariz bir G_1 - periyodu yok iken, ya da diğer bazı hücrelerin üremesinde mevcut olan bu devreyi bazı şartlarda atlamaları, fakat diğer bazı şartlarda yaşamaları (Örneğin, embriyogenez sırasın-

da üreyen hücrelerde bu devre yok iken, özel dokuların gelişmesinden sonra, üreyen hücrelerde tekrar ortaya çıkması) da özel bir kontrol mekanizmasının varlığını düşündürür^(16,18). Ayrıca, normalde G^1 - devresi yaşamayan bazı bakterilerin kültürlerinde karbonlu gıda eksitilmesi sonu uzun bir G^1 - devresine geçmeleri⁽¹⁶⁾, sabit, bir G_1 'a malik, Çin Hamsteri (memeli) hücrelerinden; mutasyonla gelişmiş bulunan bir hücre populasyonunda, bu devrenin ortadan kalkmış bulunması gibi bulgular G_1 'ın metabolik olduğu kadar genetik öneminin de bulunduğunu göstermiştir^(30,31). Özet olarak bu devrenin, hücrenin hayat ve üremesinin devamını sağlayan olaylar zincirinde geçici kopmalar meydana gelen, bir kararsızlık ya da çekingenlik hali olduğu, normal hücrede bu süredeki gecikmeler veya devrenin kısılma gibi özel durumlar dışında, kendisine has bir ayarlayıcı mekanizmasının bulunduğu, hiç görülmez dendiği hallerde dahi, DNA sentezinin başlama-sına yol açacak olayların meydana geldiği, çok kısa bir devrecik şeklinde de olsa ortaya çıktığı kabul edilmektedir.

$G_1 - S$ (Geçit Devresi): Günümüzde en kuvvetli hipoteze göre S-zamanı, DNA ile DNA-Polimeraz enzimi arasında, karşılıklı etkilemelerle yeni bir DNA sentezini başlatacak olan gizli hadiseleri harekete geçirecek, özel bir protein molekülünün sentezlenmesiyle kontrol ve regüle edilmektedir. Bu görüşe göre, her DNA molekülü için özel bir protein sentezlenir. Bu hipotezi destekleyen deliller bakteri kromozomlarının içelenmesinden elde edilmiştir^(11,15,16). Bu konuda çok çeşitli deneyler yapılmış ve her üreme siklusu için, kromozom replikasyonunu (birincinin aynadaki hayali olan ikinci bir kromozomun sentezi) başlatıp görevi sonunda derhal ortadan kalkan özel bir proteinin sentezlendiği, kendi sentezinin özel kontrolünün da transkripsiyon devresinde (DNA molekülünün belli bir parçasını, RNA-polimeraz enzimine gösterip kopya ettirmesiyle bu belli kısımdaki nükleotidlerin sırasını, yeni sentezi yapılan mesaj taşıyıcı RNA molekülüne yerleştirme veya yazdırma devresi) mümkün olduğu ortaya konmuş bulunmaktadır.

Bakteride kromozom replikasyonunun tek bir noktadan başladığı ve bir replikon bulunduğu öne sürülmüştür⁽¹⁷⁾. Bu düşünüşe göre DNA sentezi başladıkta, RNA, ya da protein sentezlerinden duyarsız ve ayrı olarak, tamamlanıncaya kadar devam edecektir⁽¹¹⁾. Bu hipotez, kromozomların çok daha büyük, kompleks ve fazla sayıda olduğu, büyük hücrelere de tatbik edilebilecek niteliktedir. Buna, G_1 -periyo-dunda bulunan Amoeba proteus'tan hücre çekirdeklerinin alınıp S-devresinde bulunan diğer amiplere taşınmasında, yeni sitoplazmada bulunan başlatıcı protein etkisiyle, taşınan hücre çekirdeklerinde ye-

niden bir DNA sentezi başlatılabilmesi⁽²⁹⁾ ile bu olayın tam aksi yapıldıkta (S-fazındaki hücre çekirdeklerini G₁-içindeki amiplere transplante ettikte) kısa zaman içinde taşınan çekirdeklerdeki DNA sentezinin çok yavaşladığı, benzeri deneylerde kurbağa yumurtalarına ekilen değişik tip çekirdeklerin yeni DNA sentezlerine başlaması^(9,10) gibi bulgular delil olarak gösterilmiştir. Bu denemelerde G₁'deki sitoplazmada replikonun kendi sentezi için gereken başlatıcıların bulunmadığını, diğer bir deyimle, üremeleri ayrı ayrı kontrol edilmekte olan, birden fazla replikonun bulunması gerektiğini gösterir. Bu varlığı ayrıca herşeyin aniden olmayıp, belli bir sıra ve düzen ile ayrı kontrol mekanizmaları altında yürütüldüğünü telkin edip replikon teorisinin bugün için en kuvvetli görüş olmasına yol açmıştır. Ancak bu teoriye karşı kurbağa dencyinde G₁, amipte ise G₂ periyodunda, sitoplazmada bulunan bir *inhibitörün* S-fazına geçerken ortadan kaybolması ile durdurulmuş bulunan DNA sentezinin tekrar başlaması gibi bir mekanizma ortaya atılmıştır. Bakterilerle yapılan denemelerden elde edilen sonuçlar, inisiyatörlerin S-fazında bulunmasını desteklemiş, ayrıca biri S-fazında diğeri başka bir fazda bulunan protozoonlar (Stentor: suda serbest yaşayan siliatalardan)'dan S'te bulunmayanın diğeri inhibe etmeyişi aksine kendi çekirdeğinde yeniden DNA sentezi başladığının gösterilmesi ile desteklenmiştir⁽⁷⁾. Otoradyografik kromozom çalışmaları^(11,12,33) DNA kısımlarının ayrı ayrı zamanlarda sentezlendiğini açıkça göstermiştir. Halbuki ayrı yer ve zaman periyodunda DNA sentezlenebilmesi için ayrı başlatıcılara ihtiyaç olacaktır. HeLa hücrelerinde DNA helisinin replikasyonu hızının S-fazına göre, kromozom başına ortalama 100 replikon ve başlatma noktasına sahip olması gerektiği⁽³⁴⁾, BUDR ve Tritium ile yapılan çift izotoplu çalışmalarda ise bu sayının her kromozom için 1,000-10,000 olarak hesaplanması⁽²⁷⁾, Çin Hamsteri X-kromozomunun uzun kolunda en az 205 başlama noktası bulunuşu, Drosophila tükürükbezi kromozomunun % 15 lik kısmında 30 tane replikon bulunmasının⁽²⁸⁾ açıklanmış bulunması gibi sonuçlar replikon teorisini doğrulamış ve büyük hücrelerin mültireplikon olmaları gereğini kabul ettirmiştir. Farklı kromozomların farklı kısımları, değişik replikonlarla başlatılan ve belli bir düzen ve sırada sentezlenmekte ve böylelikle S-devresi küçük S-fazcıklarının bir toplamı gibi olmaktadır.

S-Periyodu: Çok kromozomlu hücrelerde G₁ dan S e geçmek için yalnız özel bir proteinin sentezlenmesi yeterli değildir. Çünkü S-devresindeki memeli hücrelerinde, protein sentezinin inhibitörle durdurulması sonu, DNA sentezinde de bariz bir azalmanın meydana geldiği gösterilmiştir^(19,26,40). Bu sonuç, bakterilerdeki durumun aksine,

büyük hücrelerde DNA sentezine paralel histon sentezinin de gerekliliğine işaret olabilir⁽³⁰⁾. Buna karşıt görüş, DNA sentezindeki bu çabuk azalışın, önceden başlamış bulunan replikon sentezlerinin tamamlanmasına, yeni replikon replikasyonlarının ise protein sentezi olmadan başlayamayacaklarını, iddia etmektedir ve bu durum bakterilerde DNA sentezinin proteine bağı olması hakikatine uygun gelmektedir. S-devresindeki hücrelerde RNA sentezinin Aktinomisin-D ile durdurulması sırasında, DNA sentezi çok daha uzun süre durdurulmuş olmaktadır^(25,37). S'in erken devrelerinde eklenen Aktinomisin-D, DNA sentezine etki edebilirken, geç devrede atılan antibiyotik inhibitörün etkisiz kalması, RNA ve DNA sentezleri arasındaki uzun gecikme zamanı, başlatıcı proteinin sentezlenmesi için mesaj verecek olan RNA molekülünün DNA tarafından çok daha erkenden hazırlanmış bulunduğunu düşündürmektedir.

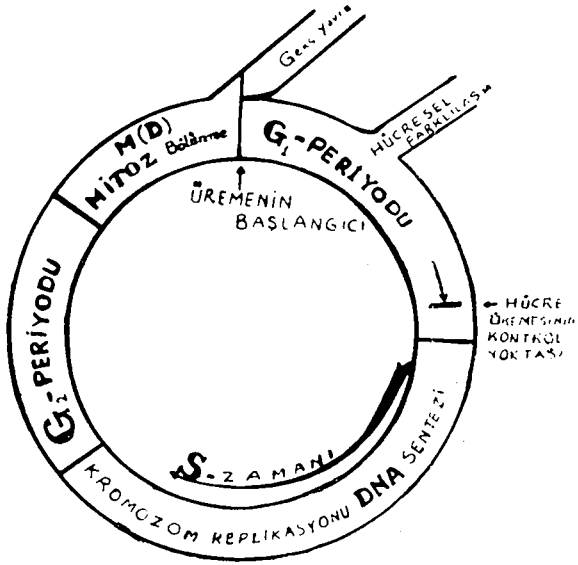
Kurbağa, ya da *Drosophila* tükrük bezi kromozomlarının^(16,23) enzimle parçalanması denemeleri, bunların uzunluğunca devam eden DNA yapıları olduğunu ve arada ne RNA ne de protein bulunmadığını göstermiştir. DNA moleküllerinin replikonlarla eklenmesi, helisin sağa sola hareketini ve replikasyon süresinde enzime uygun gelecek şekilde dönme hareketi yapabilme yeteneğini açıklar özelliğindedir.

G₂- Periyodu: Şekil 2. de de görüldüğü gibi bu devrecik, S-fazında kromozomların replikalarının meydana gelmesinden, iki ayrı hücre için birbirlerinden ayrılma devresi olan mitozun başlamasına kadar geçen olayları içine alır. Bu devre bakterilerde çok kısa olduğundan yok kabul edilmektedir. Bazı amip, mantar ve siliata soylarında ise çok fazla uzadığı ve memeli gibi uzun *G₁* - devresi ve kısa *G₂* - fazına sahip hücrelerdekinden çok daha kompleks olaylarla dolu olabilir. Çok hücrelilerde *G₂*'nin kromozom kondansasyonu ve mitoz hazırlık basamağı olmasına inanılmaktadır. Çin hamsterinde mitozun tamamlanmasından 1.9 saat önce eklenen Aktinomisin-D hücre bölünmesini tamamen durdurabilmektedir^(36,37). Başarılı bir mitoz için bu devrenin hemen sonuna kadar protein sentezi gerekmektedir^(14,36). Bu protein ise mitotik aparatın kurulması için kullanılmaktadır. Şekil 2 de görülen mitoz devrelerinden kromozom kondansasyonu, mitoz aparatının kurulması, kromozomların bu çatı üzerine sıralanması, kinetokorların ikiye ayrılması ve kromozomların ayrılıp kutuplaşmaları düzgün bir sırayla meydana gelmekteyse de bu olaylardan hiç birinin çalışma mekanizmasının kimyasal niteliğı bilinmemektedir.

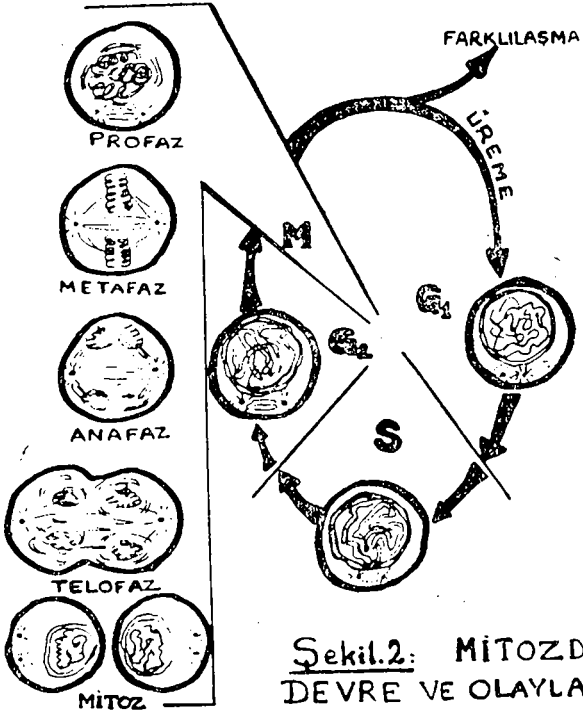
Son söz olarak, hücre siklusu hakkında bilgilerimiz çok eksiktir. Yeni bilgiler elde edildikçe, bugün için kabul edilmekte olan "hücresel olayların düzeninin genetik transkripsiyonlardan kök aldığı görü-

şü" nün doğrulanmakta olduğu görülmektedir. Burada yeni bilgiler transkripsiyonların sırasının birbirine uymak zorunluluğu gösterdiği ve protein ürünleriyle gen uyarılmasına benzer şekilde⁽⁶⁾ ayarlandığı, özel proteinin memeli hücreleri kültüründe sentezlenip mitozu başlatcak nitelikte olduğu⁽³⁶⁾ ve kendisinin de bir RNA sentezi noktasından kontrol edildiğinin anlaşılmış bulunmasıdır. Önümüzde bu transkripsiyonların tabiati, regülasyonu ve bunların hücre gelişimiyle kromozom sentez ve ayarlamalarına nasıl bağlandığının moleküler seviyede anlaşılmasına çalışmak gibi köklü sorular bulunmaktadır.

NOT: Literatür listesi için yazara müracaat edilmesi halinde gereken yayınlar temin edilecektir.



ŞEKİL 1 : HÜCRE HAYATININ ALT BÖLÜMLERİ ÇEKİRDEKSEL DÖNÜMLERE GÖRE AYARLANIR. ÜREME ANCAK G₁ PERİYODUNDA DURDURULABİLİR VE DEVRE DEYAR ETİLEBİR.



Şekil.2: MİTOZDA DEVRE VE OLAYLAR