

Hücre içi trafik ve hücre davranış özellikleri

Intracellular trafficking and cell behaviour characteristics

Berrin Özdil¹ Çevik Gürel² Kubilay Doğan Kılıç³ Gökçe Ceren Kuşçu³ Yasemin Adalı³
Hüseyin Aktuğ³

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye

²Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Öz

Hücre davranışı ve farklılaşmasının yanı sıra hücre bölünme modeli de canlılar için hayati önem taşımaktadır. Hücresel farklılaşma ve hücre çeşitliliği, doğrudan ve dolaylı olarak erken embriyonik aşamada hücre iskeleti, hücre polaritesi, hücre içi ve hücre dışı sinyaller gibi biyolojik süreçlerin yanı sıra, hücre şekli ve hareketinden de etkilenir. Atipik hücre davranışı, embriyogenezde ve bazen onkogeneze gözlenmektedir. Hücre içi trafik, hücrenin dışarıdan gelen sinyallere verdiği cevaplar ve hücre davranışı yönünden daha kapsamlı değerlendirilmelidir. Bu derlemenin amacı: hücre davranışının anlaşılmasında önemli yer tutan; hücre bölünme mekanizmaları açısından hücre şekli, hücrenin farklılaşma kapasitesi, hücre iskeleti, hücre motilitesi ve hücre polaritesi kavramlarını birbirleri ile ilişkilendirerek açıklamaktır.

Anahtar Sözcükler: Simetrik ve asimetric hücre bölünmesi, polarite, motilite, hücre iskeleti.

Abstract

Cell behavior, differentiation and cell division pattern is vital for living organisms. Cellular differentiation and diversification is directly and indirectly affected by cell skeleton, cell polarity, intracellular and extracellular signals, cell shape and movement from the early embryonic stage. Atypical cell behavior is observed in embryogenesis and occasionally in oncogenesis. Intracellular traffic in the basis of this behavior and the assessment of extrinsic information to the cell are still needed to be investigated. The aim of this review is to clarify concepts of cell shape, differentiation capacity, cytoskeleton, cell motility and polarity in terms of cell division mechanisms which are important in the discovery of cell behavior.

Keywords: Symmetric and asymmetric cell division, polarity, motility, cell skeleton.

Giriş

Hücre bölünmesi birçok hücreyel aktiviteye öncülük eden bir süreçtir. Bölünme tipi, farklılaşma ve kaynak kök hücreleri için önemlidir. Kök hücre ile yapılan birçok çalışma bulunurken, doku bazında bulunan (örneğin epitelial hücrelerde) bölünme modeli ile hücreler küçük değişikliklerle farklıdır. Modelleme ve mutasyon analizi çalışmalarında hücre bölünmesi önemli bir konudur. Hücre bölünmesi ayrıca modelleme ve mutasyon oranı analizleri için önemli bir kavramdır. Hücre şekli, membranın içinden ve dışından alınan sinyallere bağlıdır ve hücre iskeleti elemanları tarafından oluşturulur. Hücre motilitesi iskelet elemanlarının ayrışması ve yeniden birleşmesi ile sağlanır.

Hücre motilitesi doğrudan hücre polaritesiyle ve gelecek sinyallere göre iskelet elemanlarını yönetme ile ilişkilidir. Buna ek olarak, farklı hücre tipleri, sinyallere özgün yanıtlar verir. Hücre polaritesi iskelet elemanlarının ve hücre içi moleküllerin asimetric dağılımı ile ortaya çıkan bir olaydır. Hücre polaritesi, farklı hücre tiplerinde gözlenmektedir ve hücre bölünmesi, hücre ölümü, hücre şekil değişikliği, hücre göçü ve hücre farklılaşması gibi biyolojik süreçlerde rol oynamaktadır. Bu derleme somatik hücre, kök hücre ve onkogenik hücrelerin davranışları arasındaki farklılıkların ve benzerliklerin belirlenmesini sağlayacaktır.

Simetrik ve Asimetric Hücre Bölünmesi

Hücre bölünmesi hücrelerin ve dokuların devamlılığı için büyük önem taşımaktadır. Hücre bölünmesi iki farklı tipe gerçekleşmektedir; bunlar simetrik bölünme ve asimetric bölünmedir. Hücre bölünme çalışmaları genel olarak kök hücre temelli yapılmaktadır; çünkü kök hücre bölünmesi hem farklılaşacak hücreyi oluşturur hem de kök hücre

Yazışma Adresi: Kubilay Doğan Kılıç

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 05.08.2016 Kabul Tarihi: 18.08.2016

olarak kalacak kaynak hücrelerin oluşmasında kaynak sağlar (1).

Hücre bölünme tipi alanındaki araştırmalar ilk olarak 2001 yılında yapılmış; kolon kriptalarında kök hücre bölünmelerinde metilasyon seviyesine bakılmıştır (2). Simetrik ve asimetrik bölünme mitoz bölünmenin iki farklı tipi olarak görülebilir. Kök hücrelerde, simetrik bölünme sonucunda hücreler ya ikisi de farklılaşacak ya da ikisi de kök hücre olarak kalacak hücreleri meydana getirir. Kök hücrelerde, asimetrik bölünmede ise oluşacak iki hücreden biri farklılaşırken diğeri kök hücre olarak kalır (1).

Bir hücrenin asimetrik olabilmesi için: 1) iki kardeş hücrenin farklı boyutlara sahip olması, 2) bir veya daha fazla hücre bileşenlerinin iki kardeş hücreden sadece birine ayrılması, 3) iki kardeş hücre özel bir hücre tipi için farklı farklılaşma potansiyellerine sahip olması gerekmektedir (3).

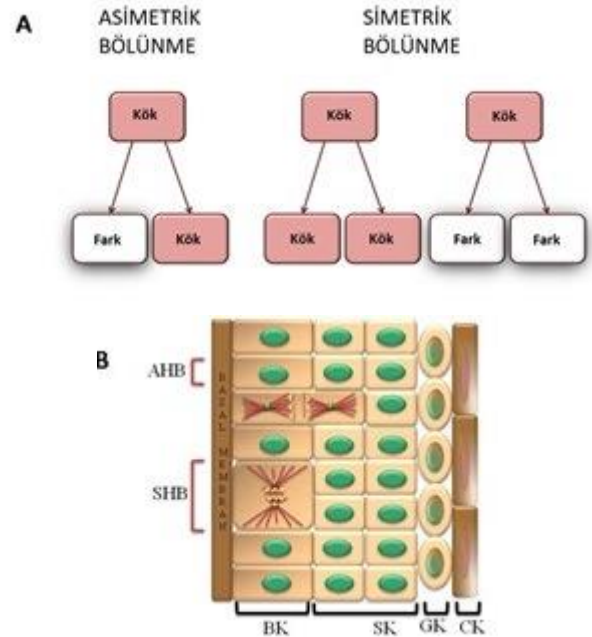
Kardeş hücrelerin boyutları mitotik iğ ipliklerin konumuna göre şekillenen yarıklanma ile belirlenir (4). Merkezi bölgeye konumlanmış olan mitotik iplikler sonucunda aynı boyutta iki kardeş hücre oluşur, fakat mitotik ipliklerin herhangi bir şekilde yer değiştirmesi bir kutup yönünde büyük, diğeri bir kutup yönünde ise küçük kardeş hücre oluşmasına sebep olur. Kutup cisimciğinin atılması gibi bazı durumlarda aşırı simetri görülebilir ki bu kardeş hücrelerden biri ancak genetik materyalin bir kopyasını taşıyabilecek büyüklüktedir. Somatik hücre bölünmelerinde hafif asimetri görülmesine rağmen nadiren bir kardeş hücre diğeri hücrenin iki katından fazla boyutlarda bölünebilir.

Asimetrik hücre oluşumuna sebep olan ve en iyi anlaşılan sistem *Caenorhabditis elegans* zigotlarında gözlenmiştir. Döllenen sonra *C. elegans* embriyoları büyük ön (anterior) AB ve küçük arka (posterior) P1 kardeş hücrelerine ayrılırlar. Spermin girişiyle birlikte bir seri olay gerçekleşir bu durum hücre korteksinin anterior ve posterior bölgelere ayrılmasıyla sonuçlanır (5). Bu sonuçlar posterior korteksin güçlü kapasitesinin mitotik iğ ipliklerine güç uygulaması ile gerçekleşir. İğ iplikleri posterior uca doğru yer değiştirir ve bu nedenle bölünme düzlemi simetrisini kaybeder. Bu proteinler hücre polaritesi ve asimetrik hücre bölünmesinde temel mekanizmaları kontrol eder (6).

Epidermis çok katlı bir epiteldir ve epiderminin, epitel öncüllerinin tek bir katmanından gelişmesi, tabakalaşma olarak adlandırılır. Bazal tabaka olarak adlandırılan iç hücre tabakası, membranın en alt tabanındaki hücreler, yüzey alanını arttırmak amacıyla simetrik bölünme yapar. Yaklaşık 13.5 günlük fare embriyolarında bölünme yön değiştirir ve hücrenin apikal bazal eksenini boyunca mitotik iğ ipliklerinin düzenlenmeleri ile birlikte bölünmeler gerçekleşir. Bu bölünmeler asimetrik olarak adlandırılır (7,8). Hücre kaderi ve iğ iplikçiklerinin yönelimi arasındaki bağlantı tam olarak anlaşılamiyorken iç ve dış düzenlenmenin her ikisi içinde kanıtlar

mevcuttur. Bazal membran, öncü hücreler ve yer değiştirme için bir niştir. Bu niş asimetrik hücre bölünmesi sırasında hücre kaderinin kararında önemli bir rol oynar. İntegrin protein ailesi hücrenin altında bulunan hücreler arası madde içindeki bazal membrana bağlanmasını sağlar ve integrin ECM sinyali epidermal bazal hücrelerin çoğalma aşamasında ilişkilendirilmiştir (9,10). Buna ek olarak, EGFR ve notch sinyallerinin ikisi de hücre kaderini kontrol edebilen intirinsik faktörler olarak öne sürülmüştür (11-13).

Bazal tabakada bulunan öncü hücreler mitotik iğ iplikçiklerini paralel ya da dik yönlendirerek bazal membranı sırasıyla asimetrik ya da simetrik olarak bölünmesine sebep olurlar. Bir bazal hücre asimetrik bölünmeye uğrayarak suprabazal/spinoz tabakası hücrelerine ve proliferatif bazal hücrelerine farklılaşmasına yol açar. Suprabazal/spinoz hücreleri daha da dışa doğru farklılaşarak ve göç ederek granüler tabaka ve kornifiye tabakaya diferansiye olurlar. Mitozdaki apikal Par polarite kompleksi ve NuMa arasındaki bağlantı, apikal-bazal iğ yönlendirmesini direk olarak etkileyerek epidermal bazal hücrelerinin asimetrik hücre bölünmesine geçişini sağlarlar (Şekil-1) (14).



Şekil-1. A. Simetrik ve asimetrik bölünme. B. Bazal katmanda bulunan progenitor hücreler paralel veya perpendikular mitotik iğlerle, bazal membranın sırasıyla asimetrik (AHB) ve simetrik (SHB) bölünmesini sağlar.

Kök Hücrelerde Simetrik ve Asimetrik Bölünme

Asimetrik ve simetrik bölünme çok çeşitli dokularda görülür. Ayrıca, kök hücrelerin her iki bölünme şeklini de kullanabildiği görülmüştür. Örneğin, *Drosophila* germ kök hücrelerinde hücre bölünmesinin asimetrik mi simetrik mi olacağı bölünme sırasında oluşan iğ ipliklerin niş ile hücre arasında kalan yüzeye dik ya da paralel olmasına

bağlıdır (1). Kök hücreler asimetrik olarak bölündüğünde mutasyona uğramış genler varsa bunlar süresiz olarak sistemde kalır. Bunun nedeni ise her hücre bölünmesinde mutant hücrenin birebir aynı kopyasının oluşmasıdır. Diğer taraftan, mutant bir kök hücrenin simetrik bölünmeyle aktarılması çok daha farklıdır ve hücre kalıcılığı ile ilgili daha az bir kesinlik söz konusudur. Simetrik bölünmede mutant hücreler iki farklı yola girer: Ya hücre bileşimindeki farklılaşma elimine edilir ya da proliferasyondan sonra mutant hücre sayısı artar. Bu konu üzerinde çalışan bir grubun yaptığı hesaplamalar simetrik bölünme sonucu oluşan mutant sayısı oranının her zaman asimetrik bölünmeden daha düşük bir orana sahip olduğunu gösterilmiştir (1). Pek çok kanserleşme kanser baskılayıcı genlerinin inaktivasyonu ile başlar. Bu genler kanserleşme sürecini her iki allelde mutasyona uğradığında başlatırlar. Knudson, bu olayı açıklamak için “Çift Vuruş Hipotezi’ni” ortaya atmıştır. Bu hipoteze göre, ilk “vuruş” ebeveynlerden birinden yavruya aktarılırken, ikincisi sonradan kazanılır. Asimetrik bölünen hücreler aksine simetrik bölünen hücreler daha düşük çift vuruşlu mutasyon oranlarıyla karakterize edilirler. Bu, özellikle karsinogenezde en yaygın modellerden biri olan tümör baskılayıcı genlerinin inaktivasyonunda önemlidir. Aynı araştırma grubu asimetrik ve simetrik bölünmeler sonucu oluşan mutasyon olasılıklarını hesaplamışlardır. Bunun için normal bir kök hücre ile tek vuruşlu bir kök hücreyi temel almışlardır ve bu iki hücre için ayrı ayrı karar ağacı oluşturmuşlardır. Her hücre için verilen cevaplara göre oluşacak farklı yolların ve hücre çeşitlerinin istatistiğini yapmışlardır. Bu araştırma yapılırken iki farklı hücre kullanılmıştır ancak yapılan bütün bu istatistiksel hesaplamalar sonucunda daha fazla hücre çeşidinin varlığında bile simetrik bölünmenin çift-mutant oluşum oranını azaltmaya devam ettiği bulunmuştur (1).

Hücre Şekli ve Farklılaşması

Hücre iskeleti, hücre içindeki yapı ve etkinliklerin organizasyonunda temel yapıdır. İskelet elemanları, hücreye şeklini vermelerinin yanı sıra desteklik sağlama, hücre hareketi ve düzenlemede görev alırlar. Hücre iskeletinin en göze çarpan işlevi ise hücreyi mekanik olarak desteklemek ve onun biçimini korumaktır. Gelen iç ve dış kuvvetlere tepki yapılar ile mümkündür. Hücre iskeleti aynı zamanda mitoz bölünmede kromozomları tutarak, kutup noktalarına çeker. Ayrıca sitokinezde de etkilidir. Hücre içi trafikte ise, çeşitli molekülleri ve organelleri taşımakla görevlidir. Hücre şeklini sağlarken aynı zamanda dışarıdan gelecek herhangi bir etkiye karşı plazma membranının altında bulunup sıkı bir tabaka oluşturur. Hücre iskeleti üç farklı yapıdan oluşur. Bunlar, mikrotübüller, mikrofilamentler (aktin filamentler) ve ara (intermediyer) filamentlerdir.

Mikrotübüller tüm ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında bulunurlar. İçi boş çubuklar şeklindedirler ve iskelet

elemanlarının en kalınlarıdır. Mikrotübül duvarları tübülün proteinlerinin oluşturduğu 13 kolon içerir. Her tübülün molekülü dimer yapıdadır ve α ve β -tübülün adı verilen iki alt birimden oluşur. Mikrotübül oluşumu ise α ve β -tübülün dimerlerinin GTP enerjisi kullanılarak polimerleşmesi sonucu olur. Mikrotübüller kendilerini kuran birimlere yıkılabilirler ve bu birimler hücrenin başka bir yerinde mikrotübül kurulması için kullanılır. Hücre şeklinin sağlanmasının yanı sıra hücre hareketinde, organel lokalizasyonunda ve hücre bölünmesi sırasında kromozomların yer değiştirilmesinde görev yapar.

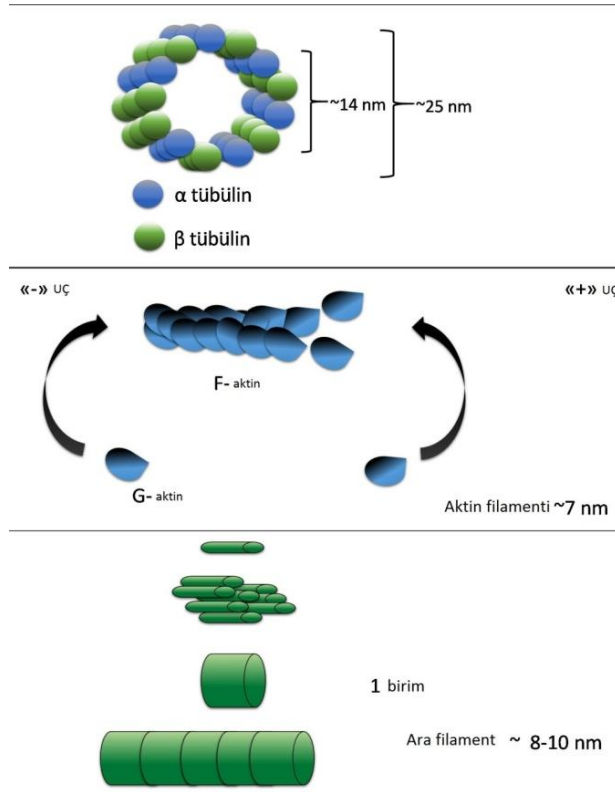
γ -tübülün kompleksi mikrotübül monomerlerinin polimerizasyonuna çekirdek oluşturur. γ -tübülün kompleksleri ökaryotik çoklu-altbirimli protein kompleksleridir. Birçok farklı boyutta olabileceği gibi, çeşitli altbirimler içerebilir. İnsanda açık yüzük şekilli geniş γ -tübülün kompleksleri bulunur (γ TuRCs). Bu yapılar γ -tübülün, GCPs 2-6, GCP-WD'den oluşmuşlardır (15).

Aktin filamentler, küresel aktin (G-Aktin) monomerlerinin ATP enerjisi kullanarak bir araya gelmesi ile oluşur. Ortaya çıkan yapı, iki aktin zincirinden oluşan bir sarmal şekilde gözüktür. Aktin filament oluşumundan sonra G-aktin molekülü isim değiştirerek F-aktin'e dönüşür. Aktin filamentler, mikrotübüllerin sıkıştırılmaya dayanma özelliğinden farklı olarak gerilmeye (çekici güçlere) dayanmaktadır. Diğer moleküllerle bir araya gelerek oluşturduğu üç boyutlu ağ yapısı hücre membranının desteklenmesine yardımcı olur. Mikrovillüs gibi özelleşmiş yapıların merkezi yapısını oluşturarak onlara hareket kazandırır. Bütün bunların yanı sıra kasın kasılıp gevşemesinde, hücre hareketinde (ameboid hareket, yalancı ayak) ve hücre bölünmesinde görev yaparlar.

Ara filamentler, fibröz proteinlerin yoğunlaşmış birbirleri üzerine sarılmasıyla oluşurlar. Diğer hücre iskeleti elemanlarının aksine protein alt birimlerinde çeşitlilik taşırlar. Bu durum bulunduğu hücreye ve görevine göre özelleşmelerinden kaynaklanır. Ayrıca diğer iskelet elemanlarının yıkımı yapımı çok kolay bir şekilde yapılırken ara filamentler çok daha kalıcı yapılardır. Bunun sayesinde hücre kolay bir şekilde gerilmeye dayanır ve hücrenin şeklinin korunmasını sağlar. Aynı zamanda çekirdek ve bazı organelleri sabitler ve çekirdek kılıfını oluşturur. Ara filamanlar yaklaşık 10 nm çapa sahiptirler. 50'den fazla farklı tipi tanımlanıp aminoasit dizilimindeki benzerlik baz alınarak 6 farklı gruba ayrılmıştır. Tip I ve Tip II, epitelyal hücrelerde sentezlenen yaklaşık 15 farklı tip protein içeren iki ayrı grup keratin yapısıdır. Tip III, vimentin dahil farklı türde çeşitli bulunan desmin, glial fibriler asidik proteini içerir. Periferin nöronlarda bulunur. Tip IV 3 tip nörofilament ve α -interneksin içerir. NF'ler olgun nöronların çok çeşitli önemli ara filamanlarıdır, α -interneksin nöron erken gelişim aşamasında ifade edilir. Tek tip VI ara filaman proteini (Nestin), merkezi sinir sistemi, merkezi sinir

sistem kök hücreleri, hatta nöronların erken embriyonik gelişimi sırasında ifade edilmektedir. Tip 5 nükleer laminleri içerir, ökaryotik hücrelerin çoğunda bulunur. Ara filaman proteinlerin hepsi yaklaşık olarak 310 amino asit (Nükleer Laminler 350 amino asit) merkezli bir α -sarmal çubuğu etki alanına sahiptir (16).

Bu üç temel yapının dışında hücre iskeletinin görevlerinin yerine getirilmesinde önemli rol oynayan motor proteinler vardır. Bu moleküller hücre hareketinde rol oynarlar. Aynı zamanda kargo proteinlerini ve organelleri aktin filamentler ve mikrotübüller üzerinde bir yerden başka bir yere taşırlar. Görev aldıkları süreç içinde ATP ya da GTP hidrolizi ile enerji sağlarlar.



Şekil-2. Hücre iskelet elemanları: Hücre iskeleti 3 farklı eleman içerir; mikrotübüller, aktin filamentleri ve ara filamanlar.

Hücre yüzeyine etki eden mekanik kuvvetler üç farklı alt gruba ayrılır. Bunlar hücre içi değişimler ile meydana gelen (aktin ağındaki değişimler veya iyon kanallarından molekül geçişleri gibi) mekanik kuvvetler, hücre dışından gelen (komşu hücre ya da hücreler arası madde kaynaklı) mekanik kuvvetler ve hücre membranındaki değişikliklerden kaynaklanan (membran lipidlerinin yenilenmesi ve membrandan ayrılması) mekanik kuvvetlerdir (17).

Hücre içindeki mekanik kuvvetler, hücre iskeletinin yeniden şekillenmesinde görev alır. Bu kuvvetlerin düzeni aslında çift taraflı olarak birbirini dengeleme ve/veya birbirini yenme üzerine kuruludur. Hücre içinde bulunan birçok kimyasal ve bunlara bağlı olarak üretilen fiziksel güç, hücre dışından gelen kuvvetlerle dengeli bir

şekilde hareket eder; ya da hücre dışından gelen kuvvet ile bir bölgeye yönlendirilir. Bu bağlamda hücreler arası maddenin katılığı, yoğunluğu ve hücre üzerinde oluşturduğu kuvvet önemlidir.

Hücre, dışarıdan gelen kuvvetlerle kendi içindeki düzeni yeniden sağlarken, hücre dışına uyguladığı kuvveti de düzenlemektedir. Bu sayede hücre hem kendi katılığını değiştirebilmekte hem de hücreler arası maddeyi de salgıladığı moleküllerle düzenleyerek katılığını etkileyebilmektedir. Ayrıca hücre dışarıdan gelen sinyallerle yeni odaksal yapışmalar oluşturabilmekte veya var olan odaksal yapışmaları çözebilmektedir. Hücre, dış ortamı daha katı olduğunda daha çok kasılabilir ve yayılabilir, fakat hareket etmesi daha güçtür (18).

Hücre şekli deneysel olarak farklılaştırılabilir. Hücrenin ekildiği yüzey canlı içindeki yapıya ne kadar benzetilirse hücre, *in vivo*'daki haline o kadar benzer. Hücrenin ekildiği yüzeyin özellikleri de hücre şeklini belirleyen etmenlerden biridir. Hücrenin yapışmak istemediği bir protein ile kaplanmış yüzeyde hücre, yapışma yüzeyini en aza indirmek için yuvarlak bir şekilde durmayı tercih ederken, hücreler arası maddede bulunan proteinlerle yapılan desenlemelerde ise hücre şekli ve organizasyonu değişir ayrıca hücre, yapışma proteinlerini hücreler arası maddede olacak şekilde düzenler (19).

Biyolojik süreçler kimyasal ve fiziksel kurallara göre düzenlenmiştir ve biyolojik olaylar bunların sonuçlarıdır. Yaşamı boyunca hücre dışarıdan ve içeriden gelen sinyallere göre şekil değiştirir. Dış sinyaller mitotik işipliklerinin yerleşimini (20), hücre bölünmesini (proliferasyon) (21), hücre şekli yanında apoptozu da (22) düzenler. Deneysel olarak, hücre şekli hücreler arası madde *in vivo* yapışma bölgelerini taklit ederek ayarlanabilir (23). Hücre ve doku kültürlerinin her ikisinde de hücreler kontrollü bir şekilde şekillendirilebilir (24). Deneysel olarak yapışma bölgeleri *microcontact* baskı tekniği ile desenlenip, fibronektin noktalar farklı mekansal dağılımı ile lokalize edilmiştir. Hücre kültürü deneyleri göstermiştir ki, noktalar arası yay biçimi alan hücre şekli fibronektin noktalara göre düzenlenmiştir (19,25). Hücrelerin odaksal yapışmaları vinkülin ve paksillin boyamaları ile gösterilmiş ve bu yapışma moleküllerinin fibronektin noktalar üzerinde yoğunlaştığı görülmüştür. Doku kültürü deneylerinde, fibroblast hücreleri kollajen tip I üzerinde sabitlenmiş, gözlemler sonucunda şekillerin hücre kültüründe olduğu gibi sabitlemeye göre gerçekleştiği görülmüştür. Hem hücre hem doku kültüründe hücrenin oluşturduğu yay yarıçapı noktalar arası uzaklıkla ya da sabitlemeyle artmıştır (19).

Kanser ve normal hücrelerin arasında da birçok fark vardır. Örneğin, normal hücrelerin şekilleri tek düze iken kanser hücreleri morfolojik olarak birbirinden farklıdır. Normal hücreler belirli bir bölgede belirli zamanlarda bölünürken kanser hücrelerinde sınırsız bir şekilde

bölünme söz konusudur ve yüzey sınırından bağımsızdır (*contact inhibition*). Normal hücreler belirli karakteristik özellikler sergilerken kanser hücreleri çok farklı özellikler gösterir (26).

Xenopus blastosist araştırması yapan grup çalışmasında, hücrelerin birbiriyle etkileşime girebilmesi için hücrelerin yer değiştirmesi gerekliliğini belirtmiştir. Yer değiştirme ve etkileşim için modelleme yapan grup, zamana bağlı çalışmalar yapmış ve hücrelerin arasındaki açılara bağlı olarak iki hücrenin arasındaki etkileşimi belirlemeye çalışmışlardır. Normal bir hücre, izole edildikten sonra yüzeyel gerilimini minimize etmek ister ve bu nedenle yuvarlak bir şekle girer. İki hücre tek bağlantı bölgesinden etkileşim halinde ise aralarındaki açı sıfır; eğer o yüzeyde tamamen etkileşim halinde iseler aralarındaki açı doksan derecedir. Hücrelerin birbiriyle olan etkileşimi bağlanma bölgelerinin artması azalması ile yeni oluşumlar için yok olması gerekebilir, bu aşamalar hücrelerin belirli zaman aralıklarında görüntülenmesiyle belirlenip analiz edilebilir. Kortikal aktin, blastosist yapısında yüzeydeki hücrelerde yoğun olarak bulunurken, iç hücre kitlesinde düşük yoğunlukta bulunur. Miyozin II aktin moleküllerine destek olarak iki bölgede de bulunurlar (27).

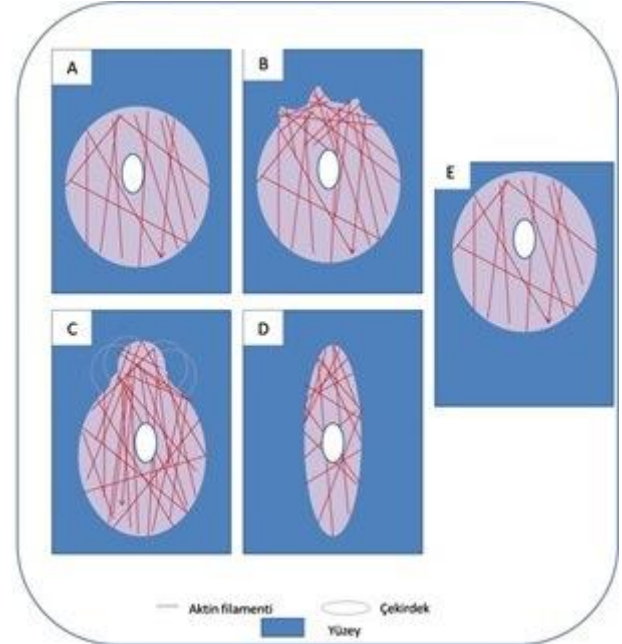
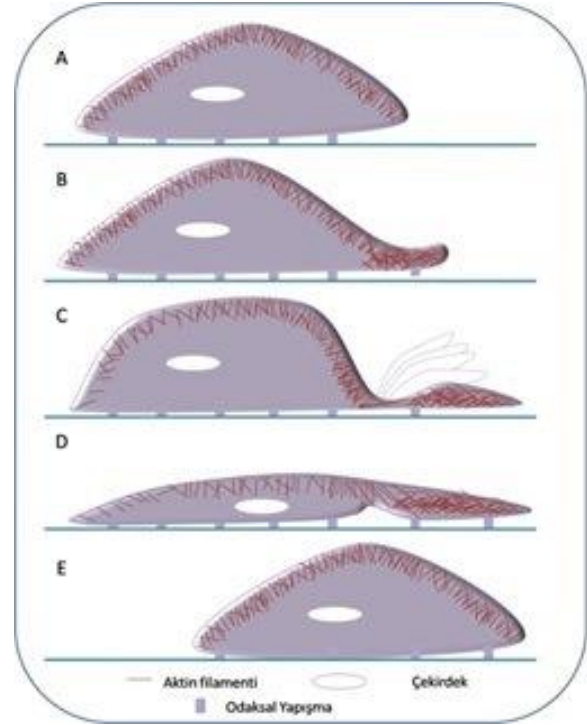
Hücre hareketi için sürekli olarak yapılan ve yıkılan hücre yapışmalarının varlığı gereklidir. Bu süreçte gerekli olan yapım ve yıkım olayları için birçok sinyal yolağının ve molekülün kullanılması gerekir. Hücre hareketini anlamak için, farklı etkenlerin bir araya gelerek oluşturduğu bir olay olduğu göz önüne alınmalıdır. Yapışmaların başlıcaları, odaksal yapışmalar, fibriler yapışmalar, odaksal kompleksler ve podozomlardır. Bu farklı yapışma çeşitleri, farklı moleküller ve farklı sinyal yollarının aktivasyonu sonucu oluşur (28).

Hücre Hareketi ve Polaritesi

Hücre hareketi; hücrelerin canlılığı, birbiriyle olan etkileşimi, gelişmesi ve bölünmesi için gerekli olan bir süreçtir. Bu süreç özellikle embriyolojik dönemde, inflamasyon cevabında, doku yenilenmesinde ve kanserde çalışılmıştır. Hücrenin hareket etmesi için dıştan ya da içten gelen etkiler ile hücre içi protein ifadenmesi değişir ve hücre iskeletindeki yapıları şekillendirir.

Hücre, hücre içerisinden ya da dışarisından gelen yer değiştirmesi için gerekli sinyalleri aldıktan sonra yakın çevresinde tutunacak bir bölge aramaya başlar. Bu tutunulacak bölgeyi bulmak için hücre dışarıya doğru *protrusion* adı verilen çıkıntılar oluşturur. Hücre, hücreler arası maddeye tutunarak ilerleme sağlar. Tutunacak bir bölge bulunduğunda orada yapışma bölgesi oluşturur ve o bölgeye kanca atarak ve yüzey gerilimini artırarak kendini o bölgeye doğru çeker. Bu sırada hücre yüzeyinde akto-miyozine bağlı olarak gerilme gücü oluşur. Bu sırada geride kalan yapışma bölgelerini azaltır

ve o bölgeyi bırakır. Yüzey gerilimini azaltır ve yeni bölgede ilk durumunu alır (29).



Şekil-3. Hücre hareket adımlarının yandan (kutu I) ve üstten (kutu II) görünüşü. **A.** Aktin hücre ve odaksal yapışma aracılığıyla bağlanma yüzeyi ve sinyallere göre biçimlendirilir. **B.** Motilite sinyali geldiğinde aktin kortikal yüzeyde ve önde olan uçta birikir. **C.** Motilite sinyalleri hücreyi yeni odaksal yapışmayı destekleyici yüzeyi aramak için teşvik eder, bunun için hücre yüzeye doğru çıkıntılar oluşturur. **D.** Hücreler kortikal gerginliği ve hücre uzunluğunu artırırken yeni odaksal yapışmalar oluşturur. **E.** Hücreler arka odaksal yapışma komplekslerini çözer ve kortikal gerginliği azaltır.

Hücre hareketindeki basamaklarda birçok yardımcı proteinler görev almaktadır. Bunlardan bazıları kofilin,

integrin-talin kompleksi, aktin bağlantılı protein 2/3 (ARP2/3) kompleksi, forminler, profilin, kapatma proteini ve miyozinlerdir. Kofilin aktin polimerizasyonunun zamansal ve yüzeysel dağılımında görev alan bir proteindir. Kofilin hücre hareket basamağında asimetrik dağılmaya başlayan aktin filamentlerinin polimerizasyonunda görev alır. Ayrıca sonraki adımlarda aktin filamentlerinin yeni dağılım eğiliminde de görev alır (29).

Hücre polaritesi, hücresel komponentlerin ve hücresel yapıların asimetrik organizasyonuna dayanan bir olaydır. Birbirinden farklı hücre tiplerinde (epitel, nöron) gözlemlenmesine rağmen hücre polaritesi temel iki özellik taşımaktadır. Bunlardan ilki hareketli hücre elemanlarının (düzenleyici proteinler) hücrenin karşı kutuplarında asimetrik dağılımı, diğeri ise polarite eksenine boyunca hücre iskeleti elemanlarına (özellikle aktin ve mikrotübüller) odaklı düzenlemedir. Bu iki özellik kutuplaşacak hücrelerde eş zamanlı olarak ortaya çıkar ve bunların etkileşimi hem hücre polaritesinin oluşumu hem de devamlılığında kilit rol oynar (30). Hücre polaritesi: hücre bölünmesi, hücre ölümü, hücre şekil değişimi, hücre göçü ve hücre farklılaşması gibi biyolojik süreçlerde görev alır (31).

Aktin filamentleri ve mikrotübüller doğalarında bulunan polimer örgüleri boyunca kutuplaşma ve hücre polaritesi sinyallerine hızlıca cevap vermelerine olanak sağlayan kendi iç dinamikleri sayesinde hücre polarizasyonu için temel yapıları sağlamak için oldukça uygundur. Aktin filamentleri ve mikrotübüller, nükleotid (ATP veya GTP) hidrolizi ile aktifleşerek bir araya gelen monomerlerden oluşan polarize polimerlerdir. Aktin filamentleri G-aktin bağlanma ve ayrışma hızının farklı olduğu iki farklı uca sahiptir: kancalı ve iğneli uçlar. Aktin filamentlerindeki bu polarize yapı, bütün aktin filamentlerinin aynı yöne doğru hareket etmesine ve hücre iskeleti regülatör moleküllerin polarize dağılımına olanak sağlayarak simetri kıran süreci yönlendirir. Tıpkı aktin filamentlerinde olduğu gibi, mikrotübüller de tübülün bağlanma ve ayrışma hızının farklı olduğu artı ve eksi uçlar içerir. Bu uçların oluşmasında en önemli etken GTP-tübülün ile GDP-tübülün moleküllerinin ayrışma hızının farklı olmasıdır. Mikrotübül yapısında GTP-tübülün bağlanması ve GDP-tübülün ayrışması olayları aynı anda meydana gelir. Bu olaya dinamik kararsızlık adı verilir. Dinamik kararsızlık mikrotübül yapısının asimetriyi inşa etmesini, polarize düzenlemenin devamlılığını ve kararlılığını sağlar (30,32).

Ara filamentler ise non-polarlardır yani kutuplaşma özelliği göstermezler ve genellikle hücre polaritesinin oluşumunda görevli değildirler. Bununla birlikte yapılan son çalışmalar ara filamentler gibi polar olmayan septin protein ailesinin, birçok hücre tipinde hücre polaritesi için önemli olduğunu ortaya koymuştur (30,33,34).

Hücre iskeleti bağlantılı motor proteinler de hücre polaritesi için önemlidir. Bu proteinler ATP hidroliz enerjisi ile şekil değişikliğine uğrayarak aktin filamentleri

veya mikrotübüller üzerinde tek yönlü hareket ederler. Miyozin süper ailesine mensup proteinler, aktin filamentleri üzerinde işlevsel motor proteinlerdir ve birçok miyozin üyesi aktin filamentinin kancalı ucuna doğru hareket eder. Mikrotübül motorları proteinleri ise kinesinleri ve dineini içerir. Kinesinler mikrotübülün artı ucuna doğru hareket ederken dinein ise mikrotübülün eksi ucuna doğru hareket eder (30,35,36).

Genel olarak kargo proteinleri ve organeller, kendilerine özgü hücresel konumlarına aktin ve mikrotübül motor proteinler tarafından taşınırlar. Polarize hücre iskeleti hattı oluşumu için, aktin filamentleri ve mikrotübüllerin organize yapılarının oluşturulması (polimerizasyonu) gerekir. Aktin filamentleri ve mikrotübüllerin organize yapılarının oluşumunun sınırlayıcı basamağı nükleasyon (çekirdek oluşumu) aşamasıdır ki bu aşamada oligomerler hızla uzayarak aktin filamentleri ve mikrotübüllerin yapımının başlamasına öncülük ederler (33,37). Aktin polimerleşmesinde nükleasyon üç aktin monomerinin (G-aktin) bir araya gelerek küçük bir aktin çekirdeği oluşturmasıyla başlar. Bundan sonra monomerler her iki uca polarize şekilde eklenerek aktin filamentlerini oluşturur. Mikrotübül nükleasyonunda ise tübülün dimerlerinden (α ve β tübülün) meydana gelen ön filamanlar boru şeklinde bir çekirdek etrafında genellikle 13'lü gruplar şeklinde organize olarak mikrotübülleri meydana getirirler (16).

Aktin bağlantılı protein 2/3 (Arp 2/3) kompleksi ve formin ailesi proteinleri önemli ölçüde korunmuş aktin nükleasyon proteinleridir ve bu proteinlerin aktivasyonu polarize aktin hattının oluşturulmasında anahtar mekanizmadır. Arp 2/3 kompleksi var olan aktin filamentlerine bağlanarak yaklaşık 70°'lik bir açıyla yeni bir aktin filamenti sentezleyerek dendritik (dallanma gösteren) aktin filament nükleasyonunu oluşturur. Formin ailesi proteinleri ise tropomyozinin de yardımı ile genellikle düz aktin nükleasyonunu gerçekleştirir. Formin ailesi proteinleri, formin homoloji 2 (FH2) domaini ile aktin filament nükleasyonunu gerçekleştirirken, formin homoloji 1 (FH1) domaini ile iplikçiği uzatır. Aktin nükleasyonu hücre membranı ve bu membranla ilişkili proteinlerden oluşan hücre korteksinde gözlenir çünkü nükleasyon faktörleri doğrudan (bazı forminler) ya da dolaylı olarak (Arp 2/3 kompleksi) membrana bağlı Rho ailesi GTPaz'lar (R-GTP) tarafından aktive edilir (30,38).

Aktin nükleasyonundan farklı olarak mikrotübül nükleasyonu, genellikle hücrenin neredeyse merkezinde bulunan sentrozom ya da mikrotübül organize edici merkezler olarak adlandırılan yapıların yakınında gerçekleşir. Mikrotübül organize edici merkezler hücre polaritesini uyaran membran kaynaklı sinyalleri hücre içerisine dağıtmakta görev alırlar. Hücre polarizasyonu sırasında sıklıkla kullanılan mekanizmalardan bir tanesi kortikal faktörler tarafından gerçekleştirilen ve

mikrotübülün artı ucunun kararlılığını arttıran mikrotübül sabitlemesidir (30,39).

Kortikal sabitleme genellikle iki tip protein sınıfının karşılıklı etkileşimi ile ilişkilidir: mikrotübülün artı ucu ile ilişkili proteinler (+TIPs) ve Rho GTPaz'lar ve diğer membran yakınında görev alan proteinlerce kontrol edilen kortikal faktörler. Mikrotübül sabitleme olayı, mikrotübüllerin lokal yoğunluğu arttırır bunun yanı sıra kargoların belirli bölgelere taşınmasında araç olarak kullanılır. +TIP proteinlerinden bir tanesi de dinein proteindir ve bu proteinde mikrotübül sabitlemesi sürecinde görev alır. Ayrıca ilkel ökaryotlarda hücre şeklinin sürekliliği yoğun şekilde paketlenmiş mikrotübül yapılarıyla sağlanır (30,40).

Dinein ilişkili mikrotübül sabitlemesi, mikrotübül nükleasyonundan sorumlu olan mikrotübül organize edici bölgelerin konumunun belirlenmesinde önemlidir. Dinein bağıntılı mikrotübül sabitlenmesi özellikle göç eden hücrelerde ve T hücrelerinde gözlemlenir (30).

Aktin bağıntılı hücre simetrisi kırılması hücre polaritesinin oluşumunda önemlidir. Cdc42 ve miyozin V aracılığı ile gerçekleşen aktine bağlı hücre simetrisi yıkımı mayada (*S. cerevisiae*) çalşılmış ve önemli veriler ortaya konmuştur. Çalışmada G1 aşamasında duraksamış ve polarize olmamış mayalarda Cdc42'nin sürekli olarak aktif kalacak şekilde uyarmasının, aktin filamantlerinin bir kutupta yoğunlaşmasına ve maya hücrelerinde spontan bir polarizasyonun meydana gelmesine neden olduğu gösterilmiştir. Çalışmada Cdc42 ya da miyozin V'in bloke edilmesinin kendiliğinden gerçekleşen hücre polarizasyonunu önlediği gösterilmiş böylece olayda miyozin V'in de etkili olduğu ortaya konmuştur (41).

Aktin bağıntılı hücre simetrisi kırılımının önemli olduğu bir diğer süreç asimetrik hücre bölünmesidir. Örneğin *C.elegans* zigotunda döllenmeden hemen sonra oluşan, anterior- posterior (A-P) kutuplaşmanın gözlemlendiği bir asimetrik bölünme gözlemlenir. A-P kutuplaşması PAR (partitioning defective proteins) protein setlerinin zigotun farklı kutuplarına karşılıklı olarak yerleşmeleri ile karakterizedir. PAR3, PAR6 ve atipik protein kinaz C (aPKC) zigotun anterioruna yerleşirken, PAR1 ve PAR2 posterior kutba yerleşir. PAR3, PAR6 ve aPKC aktin filamantlerini kendine doğru çeker. Bu hareket sırasında miyozin II aktin filamantleri anterior kısma doğru hareketinde görev alır. Miyozin II'nin RNA müdahalesi ile yıkımı ve PAR3 ile PAR6 proteinlerinin yokluğunda asimetrik bölünmenin gerçekleşmemesi bu moleküllerin aktine bağlı simetri kırılmasında önemli rol oynadığının göstergesidir (5,30).

Hücre polaritesinin stabilitesi, hücrelerin farklılaşmış yapılarının ve işlevlerinin devamlılığı için zorunludur ve hücre polaritesinin dayanıklılığı hücre tipine bağlı olarak değişir. Polarize durumun dayanıklılığını düzenlenmesi hakkında aydınlatılması gereken birçok konu olmasına rağmen, aktinin endositik işlev yoluyla dinamik bir şekilde hücre polaritesinin devamlılığına katkı sağladığı buna karşılık mikrotübüllerin ise hücre polaritesinin dayanıklılığı için önemli olduğu bilinmektedir (30).

Dallanmış aktin ağının polimerizasyonu motor protein miyozin I ile birlikte endositik membranların içe doğru katlanmasıyla ve uzamasını kontrol eder ayrıca veziküllerin kesimine öncülük eder. Örneğin mayada, membrana bağlı proteinlerin çevrimi (*recycling*; çevrim, geri döngü) endositik çevrim adı verilen süreç ile gerçekleştirilir. Bu olayda aktin ağının kurulmasında görevli olan Arp2/3 kompleksi ve birçok NPF görev alır. Hücre polaritesinde endositozun gerekli olduğu, asimetrik bölünen kök hücrelerde ve epitel hücrelerinde saptanmıştır. Ayrıca *C.elegans*'ta yapılan bir deneyde hücre polaritesinde düzenleyici rolü olan CDC-42 ve PAR proteinlerinin membran trafiğinin düzenlenmesinde de görev aldığı gösterilmiştir (30,42).

Mikrotübüller ise aktin filamantlerince oluşturulan polaritenin devamlılığı ve dayanıklılığında önemlidir. Örneğin epitel hücrelerinde polarizasyonun oluşumundan hemen sonra çarpıcı şekilde, mikrotübüller ışınal sentrozomal düzenden sentrozomal olmayan düzene geçer ve sentrozomal olmayan düzende mikrotübüller eksi uçları apikal ve artı uçları bazal kutuplara gelecek dizilirler (30,38).

Epitelyal kaderin (E-kaderin) ile aderens bağlantıların kurulması sentrozomal olmayan düzene geçişi tetikler ve epitelyal mikrotübül kararlılığını arttırarak hücre polaritesinin dayanıklılığına katkıda bulunur. Bu süreçte aPKC, EB1 ve APC gibi moleküller polaritenin devamlılığında rol oynar (30).

Sonuç

Hücre iskelet bileşenleri, hücre polaritesinden sorumlu yapılar ve bunların işlevi sonucu oluşan hücre bölünme tipleri iç içe geçmiş ve aydınlatılması mutlak zorunlu bir hal almıştır. Tüm bu bileşenlere iç ve dış hücre sinyal yolları, hücre ifadesi ve hücre morfolojisinin de çeşitliliği eklendiğinde hücre davranışının ve hücre trafik yoğunluğunun ne kadar karmaşık olduğu ortaya çıkmaktadır. Bu süreçteki tüm mekanizmasal aydınlanmalar, karsinogenezis, embriyogenezis gibi ana konularda da yeni tanımlamalara ve çözümlemelere yol açacaktır.

Kaynaklar

1. Shahriyari L, Komarova NL. Symmetric vs. asymmetric stem cell divisions: An adaptation against cancer? *PloS One*. 2013;8(10):e76195.
2. Yatabe Y, Tavare S, Shibata D. Investigating stem cells in human colon by using methylation patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001;98(19):10839-44.
3. Horvitz HR, Herskowitz I. Mechanisms of asymmetric cell division: Two Bs or not two Bs, that is the question. *Cell* 1992;68(2):237-55.
4. Glotzer M. Cleavage furrow positioning. *J Cell Biol* 2004;164(3):347-51.
5. Cowan CR, Hyman AA. Asymmetric cell division in *C. elegans*: Cortical polarity and spindle positioning. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004;20:427-53.
6. Neumuller RA, Knoblich JA. Dividing cellular asymmetry: asymmetric cell division and its implications for stem cells and cancer. *Genes Dev* 2009;23(23):2675-99.
7. Lechler T, Fuchs E. Asymmetric cell divisions promote stratification and differentiation of mammalian skin. *Nature* 2005;437(7056):275-80.
8. Smart IH. Variation in the plane of cell cleavage during the process of stratification in the mouse epidermis. *Br J Dermatol* 1970;82(3):276-82.
9. Fuchs E, Raghavan S. Getting under the skin of epidermal morphogenesis. *Nat Rev Genet* 2002;3(3):199-209.
10. Watt FM. Role of integrins in regulating epidermal adhesion, growth and differentiation. *EMBO J* 2002;21(15):3919-26.
11. Blanpain C, Lowry WE, Pasolli HA, Fuchs E. Canonical notch signaling functions as a commitment switch in the epidermal lineage. *Genes Dev* 2006;20(21):3022-35.
12. Le Roy H, Zuliani T, Wolowczuk I, et al. Asymmetric distribution of epidermal growth factor receptor directs the fate of normal and cancer keratinocytes in vitro. *Stem Cells Dev* 2010;19(2):209-20.
13. Williams SE, Beronja S, Pasolli HA, Fuchs E. Asymmetric cell divisions promote notch-dependent epidermal differentiation. *Nature* 2011;470(7334):353-8.
14. Ray S, Lechler T. Regulation of asymmetric cell division in the epidermis. *Cell Div* 2011;6(1):12.
15. Teixido-Travesa N, Villen J, Lacasa C, et al. The gammaTuRC revisited: A comparative analysis of interphase and mitotic human gammaTuRC redefines the set of core components and identifies the novel subunit GCP8. *Mol Biol Cell* 2010;21(22):3963-72.
16. Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd ed, ASM Press; Boston:2000.
17. Paluch E, Heisenberg C-P. Biology and physics of cell shape changes in development. *Curr Biol* 2009;19(17):R790-9.
18. Lange JR, Fabry B. Cell and tissue mechanics in cell migration. *Exp Cell Res* 2013;319(16):2418-23.
19. Bischofs IB, Klein F, Lehnert D, Bastmeyer M, Schwarz US. Filamentous network mechanics and active contractility determine cell and tissue shape. *Biophys J* 2008;95(7):3488-96.
20. Thery M, Jimenez-Dalmaroni A, Racine V, Bornens M, Julicher F. Experimental and theoretical study of mitotic spindle orientation. *Nature* 2007;447(7143):493-6.
21. Nelson CM, Jean RP, Tan JL, et al. Emergent patterns of growth controlled by multicellular form and mechanics. *Proc Natl Acad Sci* 2005;102(33):11594-9.
22. Chen CS, Alonso JL, Ostuni E, Whitesides GM, Ingber DE. Cell shape provides global control of focal adhesion assembly. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;307(2):355-61.
23. Bischofs IB, Schmidt SS, Schwarz US. Effect of adhesion geometry and rigidity on cellular force distributions. *Phys Rev Lett* 2009;103(4):048101.
24. Albert Philipp J, Schwarz Ulrich S. Dynamics of cell shape and forces on micropatterned substrates predicted by a cellular potts model. *Biophys J* 2014;106(11):2340-52.
25. Labouesse C, Verkhovsky AB, Meister JJ, Gabella C, Vianay B. Cell shape dynamics reveal balance of elasticity and contractility in peripheral arcs. *Biophys J* 2015;108(10):2437-47.
26. Hanahan D, Weinberg Robert A. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* 2011;144(5):646-74.
27. David R, Luu O, Damm EW, Wen JW, Nagel M, Winklbauer R. Tissue cohesion and the mechanics of cell rearrangement. *Development* 2014;141(19):3672-82.
28. Webb DJ, Parsons JT, Horwitz AF. Adhesion assembly, disassembly and turnover in migrating cells -- over and over and over again. *Nat Cell Biol* 2002;4(4):E97-100.
29. Bravo-Cordero JJ, Magalhaes MA, Eddy RJ, Hodgson L, Condeelis J. Functions of cofilin in cell locomotion and invasion. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013;14(7):405-15.
30. Li R, Gundersen GG. Beyond polymer polarity: How the cytoskeleton builds a polarized cell. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9(11):860-73.
31. Lecuit T, Le Goff L. Orchestrating size and shape during morphogenesis. *Nature* 2007;450(7167):189-92.
32. des Georges A, Katsuki M, Drummond DR, Osei M, Cross RA, Amos LA. Mal3, the *Schizosaccharomyces pombe* homolog of EB1, changes the microtubule lattice. *Nat Struct Mol Biol* 2008;15(10):1102-08.
33. Barton JS, Riazhi GH. Evidence for two growth steps in microtubule polymerization. *Biochim Biophys Acta* 1980;630(3):392-401.
34. Goldman RD, Grin B, Mendez MG, Kuczmarski ER. Intermediate filaments: Versatile building blocks of cell structure. *Curr Opin Cell Biol* 2008;20(1):28-34.
35. Ikebe M. Regulation of the function of mammalian myosin and its conformational change. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;369(1):157-64.
36. Numata N, Kon T, Shima T, et al. Molecular mechanism of force generation by dynein, a molecular motor belonging to the AAA+ family. *Biochem Soc Trans* 2008;36(Pt 1):131-5.
37. Wegner A, Engel J. Kinetics of the cooperative association of actin to actin filament. *Biophys Chem* 1975;3(3):215-25.

38. Bornens M. Organelle positioning and cell polarity. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9(11):874-86.
39. Lansbergen G, Akhmanova A. Microtubule plus end: A hub of cellular activities. *Traffic* 2006;7(5):499-507.
40. Gundersen GG, Gomes ER, Wen Y. Cortical control of microtubule stability and polarization. *Cur Opin Cell Biol* 2004;16(1):106-12.
41. Wedlich-Soldner R, Altschuler S, Wu L, Li R. Spontaneous cell polarization through actomyosin-based delivery of the Cdc42 GTPase. *Science* 2003;299(5610):1231-5.
42. Kaksonen M, Toret CP, Drubin DG. Harnessing actin dynamics for clathrin-mediated endocytosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006;7(6):404-14.