

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ (TIP)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**İNSAN ADİPOZ DOKU KÖK HÜCRELERİNİN PC3
PROSTAT KARSİNOM HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN *IN VİTRO* OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**ÖZDE ÖĞÜTLÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

I. DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi H. Kübra BAŞALOĞLU

II. DANIŞMAN

Prof. Dr. Çiğdem YENİSEY

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF17011 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji (Tıp) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Özde ÖĞÜTLÜ tarafından hazırlanan “İnsan adipoz doku kök hücrelerinin PC3 prostat karsinom hücreleri üzerindeki etkilerinin *in vitro* olarak araştırılması” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19/08/2019

Üye (T.D.) : Dr. Öğr. Üyesi H.Kübra BAŞALOĞLU Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Yiğit UYANIKGİL Ege Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cavit KUM
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamın seçiminde, planlanmasında, hazırlanmasında ve yürütülmesinde bana her konuda yardımcı olan, çalışmalarım süresince benden her türlü anlayış ve ilgiyi esirgemeyen, bilgi, tecrübe ve hoşgörülerinden yararlandığım değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi H. Kübra BAŞALOĞLU'na ve Sayın Prof. Dr. Çiğdem YENİSEY'e,

Bilgi ve deneyimlerinden çok şey öğrendiğim, her zaman yanımda olan ve beni destekleyen hocam Sayın Prof. Dr. Alparslan GÖKÇİMEN'e,

Eğitimimin başlangıcından sonuna kadar göstermiş oldukları sabır ve anlayış ile maddi-manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme,

Hayatım boyunca her zaman ve her koşulda yanımda olan, tez dönemimde uzakta olsa da katkı ve yardımlarını esirgemeyen, zaman ayıran, çalışma gücü aşıl原因, desteğini her zaman hissettiğim ablam Dr. Öğr. Üyesi Özlem İbrahimoglu'na,

Tüm kalbimle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Prostat Bezi.....	3
2.2. Prostat Kanseri.....	4
2.3. Prostat Kanseri Oluşumunun Moleküler Mekanizmaları	4
2.4. Kök Hücre Nedir?.....	5
2.4.1. Kök Hücrelerin Genel Özellikleri.....	5
2.4.2. Kök Hücrelerin Tarihçesi	6
2.4.3. Kök Hücrelerin Sınıflandırılması	7
2.4.3.1. Kök hücrelerin farklılaşma yeteneklerine göre sınıflandırılması	7
2.4.3.2. Kök hücrelerin köken aldıkları dokuya göre sınıflandırılması.....	8
2.5. Mezenkimal Kök Hücre (MKH).....	11
2.5.1. İnsan Mezenkimal Kök Hücre Karakteristik Özellikleri.....	11
2.5.2. Mezenkimal Kök Hücrelerin Klinik Kullanımı.....	12
2.5.3. Mezenkimal Kök Hücrelerin <i>In Vitro</i> Kanser Hücreleri Üzerindeki Etkileri	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	15
3.1. Kullanılan Malzemeler	15
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	15
3.3. Deneyler.....	16
3.3.1. PC3 Prostat Karsinoma Hücre Hatlarının Temini ve Hücre Ekimi.....	16
3.3.2. İnsan Adipoz-Doku Kök Hücre Eldesi	17
3.3.3. Hücrelerde yüzey antijenlerinin bakılması	21

3.3.4. İnsan Adipoz Doku Kök Hücrelerinden Ortam Medyumunun Elde Edilmesi.....	22
3.3.5. MTT Deneyi ile Hücre Canlılığının Saptanması.....	22
3.3.6. Hücrelerde Apoptozun Saptanması	27
3.3.7. Hücrelerde Migrasyonun Saptanması.....	29
3.4. İstatistiksel Analizler	29
4. BULGULAR	30
4.1. Hücre Canlılığı Sonuçları	30
4.1.1. Adipoz Doku Kök Hücre Ortam Medyumu Uygulanan PC3 Prostat Karsinom Hücreleri Hücre Canlılığı Sonuçları.....	30
4.2. Hücrelerde Apoptoz Analizinin Sonuçları	35
4.3. Hücrelerde Migrasyon Analizinin Sonuçları.....	38
5. TARTIŞMA.....	40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR.....	48
ÖZGEÇMİŞ.....	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADMSC	: İnsan adipoz doku mezenkimal kök hücre
AR	: Androjen reseptörü
CSCc	: Kanser kök hücre
DH	: Dentritik hücre
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
FBS	: Fetalbovine serum
IGF1R	: İnsülin büyüme faktörü 1 reseptörü
MSCs	: İnsan mezenkimal kök hücreleri
NK	: Doğal öldürücü hücre
PI3K	: Fosfatidilinositol-3 kinaz
PIN	: Prostatik epitelyal neoplazi
PKa	: Prostat kanseri
PTEN	: Fosfataz ve tensin homolog protein
VEGFR	: Vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü
VSF	: Vasküler stromal fraksiyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Erkek genital sistemi	3
Şekil 2. Pluripotent kök hücre hiyerarşisi	8
Şekil 3. Kök hücre sınıflandırması	9
Şekil 4. Embriyonik kök hücre dizilerinin elde edilmesi	9
Şekil 5. Erişkin kök hücrelerin farklı hücelere diferansiye olması	10
Şekil 6. Adipoz doku mezenkimal kök hücre akım sitometri sonuçları.....	22
Şekil 7. MTT sonuçlarının 24., 48., 72. saatlerdeki grafiksel gösterimi	34



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. PC3 prostat karsinom hücresi invert mikroskopta x4'lük büyütmede.....	16
Resim 2. İnsan abdominal bölgesinden plastik cerrahi girişimi ile alınan yağ dokusunun stromal hücrelerden ayrılması	17
Resim 3. Kollajenaz I enzimi eklendikten ve 2 saat su banyosunda enkübe	18
Resim 4. Kollejenazenziminde erimiş hücrelerin 100 µm hücre süzgecinden süzülmesi ...	19
Resim 5. Çözünmüş yağ dokusunun santrifüj edilmeden ve edildikten sonraki görüntüsü..	19
Resim 6. Eritrositlerinden ayrılan çözünmüş yağ dokusu. Birinci resimde dipte yoğun eritrosit görülmekte iken, ikinci şekilde fraksiyon yıkandıkça eritrositlerinden ayrıldığı görülmektedir.....	20
Resim 7. İnsan adipoz doku kök hücresi (2. pasaj) (x4).....	21
Resim 8. MTT çalışması için PC3 prostat karsinom hücrelerinin kuyucuklara 10.000 hücre olacak şekilde ekilmiş hali	23
Resim 9. Hücreler ekildikten ve 24 saatlik enkübasyon sürecinden sonra kök hücre ortam medyumlarının konulması.....	23
Resim 10. Kuyucuklara MTT çözeltisi konduktan hemen sonra.....	24
Resim 11. Kuyucuklara MTT çözeltisi konduktan 1 saat sonra kuyucuklarda formazan oluşu başlangıcı.....	24
Resim 12. 24 saatlik enkübasyon sürecinden sonra MTT yoluyla formazan oluşması	25
Resim 13. MTT çözeltisi ekledikten 2 saat sonra kuyucuklarda mor renkli formazan oluşumu.....	25
Resim 14. Kuyucuklara DMSO konulup formazan çözüldükten sonraki görüntüsü.....	26
Resim 15. Otomatik hücre sayımının yapıldığı cihaz ve hücrelerin sayıldığı thoma lamı ...	26
Resim 16. MTT hücre canlılığı deneyi, şematik gösterim	27
Resim 17. MTT ve apoptoz denemelerinin plaklarının okunduğu mikropalak okuyucu	27
Resim 18. Apoptoz ve pembe-mor renk boya almış hücreler	28
Resim 19. Normal canlı ve apoptotik hücrelerin görüntüsü	28
Resim 20. PC3 prostat karsinom hücrelerinin adipoz doku kök hücre ortam medyumunu ile inkübasyonundan sonraki MTT sonuçları.....	30
Resim 21. Hücreler ekildikten 24 saat sonra GM, CM ve kök hücre CM'lerinin koyulmuş hali	31

Resim 22. 72 saat sonra CM (kontrol medyumunda, DMEM + % 1 FBS) hücrelerin görüntüsü.....	35
Resim 23. 5 ve 10 günlük kök hücre CM ile muamele edilen PC3 hücresinin 72 saat sonraki görünümü (x4) Hücreler apoptoza uğramıştır	35
Resim 24. 10 günlük kök hücre CM ile muamele edilen PC3 hücresinin 72 saat sonraki görünümü (x10) Hücreler apoptoza uğramıştır.....	36
Resim 25. (A) x10'luk büyütmede invert mikroskopta; (B) x4'lük büyütmede apoptotik hücreler görülmektedir	36
Resim 26. x4'lük büyütmede invert mikroskopta apoptoza uğramış hücreler görülmektedir (72 h) (boya çözeltisi eklendiğinde).....	37
Resim 27. 5 ve 10 günlük kök hücre CM ile muamele edilen PC3 hücresinin 24 saat ve 72 saat sonraki görünümleri	37
Resim 28. Adipoz doku kök hücre (ADMSC) ortam medyumunun PC3 hücreleri üzerinde hücrel migrasyonu.....	39

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. İnsan kök hücrelerinin genel özellikleri	6
Tablo 2. Çalışmada kullanılan malzemeler.....	15
Tablo 3. MTT sonuçları (24. saat)	31
Tablo 4. MTT sonuçları (48. saat)	32
Tablo 5. MTT sonuçları (72. saat)	32
Tablo 6. MTT sonuçları (24., 48., 72. saat)	33



ÖZET

İNSAN ADİPOZ DOKU KÖK HÜCRELERİNİN PC3 PROSTATKARSİNOM HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN *İN VİTRO* OLARAK ARAŞTIRILMASI

Öğütlü Ö. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji (Tıp) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2019.

Prostat kansinolarının büyük bir kısmı glandular oluşumlar ve luminal diferansiyasyon belirteçleri olan androjen reseptörü (AR) ve prostat-spesifik antijen (PSA) içermesi nedeniyle adenokarsinom karakteristiğindedir. Karsinoların çoğu ağrısız ve androjene bağımlıdır. Hormonal tedavi ilerlemiş ve metastatik prostat adenokarsinomunda AR sinyalini inhibe etmekte olup hastalarda semptomatik olarak rahatlama sağlamaktadır. PC3 prostat kansinomu hücreleri AR ve PSA reseptörlerini içermediklerinden, proliferasyonları androjenden bağımsızdır. Prostat kanserinde esas klinik problem, endokrin tedavi sonrasında hormona duyarlı kanserlerin, hormon tedavisine dirençli hale dönüşmesidir. Prostat kanseri hem moleküler hem de klinik olarak incelendiğinde heterojen bir hastalık olma özelliği göstermektedir. Çoğu kansinolarda olduğu gibi, farklı diferansiyasyon ve proliferasyon kabiliyetleri olan ve aynı zamanda transplante edildiklerinde tümör oluşturma kapasitesi farklı olan, birbirinden farklı hücre tiplerinden oluşmaktadır. Bu nedenle, tümör hücrelerinin progenitor hücreler olan kanser kök hücrelerinden (CSCc) oluştuğu hipotezi kabul edilmektedir. Kök hücre tedavileri günümüzde popülerliğini korumakta olup, gelecekte kanserlerin tedavisinde ve metastaz oluşturmalarının engellenmesinde yaygın olarak kullanılması beklenen tedavi yöntemidir. Farklı dokulardan elde edilen kök hücrelerin, tümör hücrelerinde gösterdikleri etkiler farklıdır. İnsan adipoz dokudan elde edilen kök hücreler çok kısıtlıdır. Erkeklerde ölümlerde ikinci sırayı oluşturan prostat kanseri tedavisinde kök hücre tedavisi çalışmaları çok yenidir. İnsan adipoz doku mezenkimal kök hücrelerin (ADMSC) PC3 prostat kansinomu hücreleri üzerinde dejeneratif etkileri olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı, insan adipoz doku mezenkimal kök hücrelerinin PC3 prostat kanseri hücreleri üzerine anti-tümör ya da pro-angiogenik etkilerinin *in vitro* olarak araştırılmasıdır.

Bu çalışmada insan adipoz doku mezenkimal kök hücremedyumu ile müdehale edilmeyen PC3 prostat karsinom hücre medyumu kontrol grubu olarak kullanıldı. Çalışmada PC3 prostat karsinom hücreleri farklı sürelerde (5 gün ve 10 gün) inkübe edilen ADMSC ile tedavi edildi. ADMSC ile tedavi edilen hücreler 24., 48. ve 72. saatlerde değerlendirildi. ADMSC ile tedavi edilmeyen hücreler ile kıyaslandığında PC3 prostat karsinom hücrelerinde proliferasyon hızı önemli ölçüde azaldı ve hücreler apoptoza uğradı ($p<0,05$). ADMSC ortam medyumunun uygulanmasıyla hücre canlılığının azaldığı ve 10 günlük inkübasyon süresi olan ADMSC ortam medyumunda 5 günlük inkübasyon süresi olan ADMSC ortam medyumuna göre 72. saatte en yüksek değere ulaştığı görüldü. Apoptoz analizinde, ADMSC ortam medyumu ile apoptozun arttığı belirlendi. ADMSC ortam medyumu içindeki faktörlerin, özellikle 10 günlük inkübasyon süresinde olanların, PC3 prostat karsinom hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği ve dejeneratif etki gösterdiği saptandı.

Anahtar Kelimeler: Adipoz Doku, Anjiyogenez, PC3 Hücre Hattı, Prostat Kanseri.

ABSTRACT

***IN VITRO* INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF HUMAN ADIPOSE TISSUE STEM CELLS ON PC3 PROSTATE CARCINOMA CELLS**

Öğütlü Ö. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences, Department of Histology-Embryology (Medicine), Master Thesis, Aydın, 2019.

The majority of prostate carcinomas are characterized by adenocarcinoma due to glandular formations and androgen receptor (AR) and prostate-specific antigen (PSA), which are markers of luminal differentiation. Most carcinomas are painless and androgen-dependent. Hormonal therapy inhibits AR signaling in advanced and metastatic prostate adenocarcinoma and provides symptomatic relief in patients. Since PC3 prostate carcinoma cells do not contain AR and PSA receptors, their proliferation is independent of androgen. The main clinical problem in prostate cancer is that after endocrine treatment, hormone-sensitive cancers become resistant to hormone therapy. Prostate cancer is a heterogeneous disease when examined both molecularly and clinically. As in most carcinomas, it is composed of different cell types with different differentiation and proliferation capabilities, as well as different tumor-forming capacity when transplanted. Therefore, the hypothesis that tumor cells consist of cancer stem cells (CSCs), progenitor cells, is accepted. Stem cell therapies are still popular and are expected to be widely used in the treatment of cancers and the prevention of metastasis in the future. The effects of stem cells obtained from different tissues on tumor cells are different. Stem cells obtained from human adipose tissue are very limited. Stem cell therapy studies in the treatment of prostate cancer, which is the second most common cause of death in men, are very recent. Human adipose tissue mesenchymal stem cells (ADMSC) are thought to have degenerative effects on PC3 prostate carcinoma cells. The aim of this study was to investigate the anti-tumor or pro-angiogenic effects of human adipose tissue mesenchymal stem cells on PC3 prostate cancer cells in vitro.

In this study, PC3 prostate carcinoma cell medium which was not treated with human adipose tissue mesenchymal stem cell medium was used as a control group. In this study, PC3 prostate carcinoma cells were treated with ADMSC incubated at different times (5 days

and 10 days). Cells treated with ADMSC were evaluated at 24, 48 and 72 hours. The rate of proliferation in PC3 prostate carcinoma cells was significantly reduced and the cells underwent apoptosis compared to untreated ADMSC-treated cells ($p < 0.05$). It was observed that the cell viability decreased with the application of ADMSC medium and reached the highest value at 72 hours in ADMSC medium which has 10 days incubation period compared to ADMSC medium which had 5 days incubation period. In apoptosis analysis, it was determined that apoptosis increased with ADMSC medium. Factors in ADMSC medium, especially in the 10-day incubation period, were found to inhibit the proliferation of PC3 prostate carcinoma cells and show degenerative effect.

Key words: Adipose Tissue, Angiogenesis, PC3 Cell Lines, Prostate Cancer.



1. GİRİŞ

Prostat kanseri batılı ülkelerde daha çok olmak üzere yaygın olarak teşhis edilmekte ve erkeklerde ölümden ikinci sırayı oluşturmaktadır. Prostat kanserinde asıl klinik problem, endokrin tedavi sonrasında hormona duyarlı kanserin, hormona dirençli hale dönüşmesidir (Rolfo ve ark, 2014). Her ne kadar, erken dönemde tanısı konulan prostat kanseri olgularında radikal prostatektomi başarılı sonuç vermekte ise de, metastatik dönemde tedavi şansı olamamaktadır (van der Hoogen ve ark, 2011). Dünyada biyomedikal topluluklar daha etkili tedavi yöntemleri üzerinde çalışmaktadırlar. İnsan mezenkimal kök hücreleri (human mesenchymal stem cells-MSCs) çok farklı etkileri olan yetişkin kök hücreler olup, insan kemik iliği ve kası, periyos (kemik dışı zar) ve adipoz dokudan elde edilmektedirler. MSCs, *in vivo* ve *in vitro* olarak inflamasyonu ve immunolojik yanıtın inhibe edilmesinde immünomodülatör etkisi bulunan hücrelerdir (Bartholomew ve ark, 2002; Ohnishi ve ark, 2007; Abdel ve ark, 2007).

Bununla beraber kemik iliğinden elde edilen MSCs'lerin invaziv prosedürde, elde edilen hücre sayısının az olması ve hücrenin yaşıyla birlikte farklılaşma kapasitesinin azalması nedeniyle etkilerinin sınırlı olduğu bulunmuştur (D'Ippolito ve ark, 1999; Panepucci ve ark, 2004). MSCs'lerin insan malignitelerinde tümör büyümesinin ve metastazın önlenmesinde kullanımı halen tartışmalıdır (Sutdenty ve ark, 2004; Ohlsson ve ark, 2003).

Bazı çalışmalarda MSCs'lerin immünomodülatör ve pro-anjiogenik özellikleri nedeniyle tümör büyümesini artırdığı gösterilmiş olsa da, bazı çalışmalarda, tümör büyümesini inhibe ettiği ve hücrelerin yaşam süresini uzattığı rapor edilmiştir (Karnoub ve ark, 2007; Lu ve ark, 2008; Yu ve ark, 2008). MSCs'lerin tümör hücrelerinin büyümesini *in vitro* ve *in vivo* olarak inhibe ettiği ve kanser hücrelerinin apoptozunu indüklediği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda MSCs'lerin hepatosellüler karsinomda metastaz oluşumunu ve meme kanserinde hücre proliferasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir. Bundan başka, MSCs'lerin yüksek oranda inflamatuvar özellikli anjiogenik bir tümör olan Kaposi sarkomunda anti tümör etkileri olduğu da gösterilmiştir (Khakoo ve ark, 2006; Qiao ve ark, 2008; Li ve ark, 2010).

Prostat kanseri hem moleküler hem de klinik olarak incelendiğine heterojen bir hastalık olma özelliği göstermektedir. Çoğu karsinomlarda olduğu gibi, farklı diferansiyon

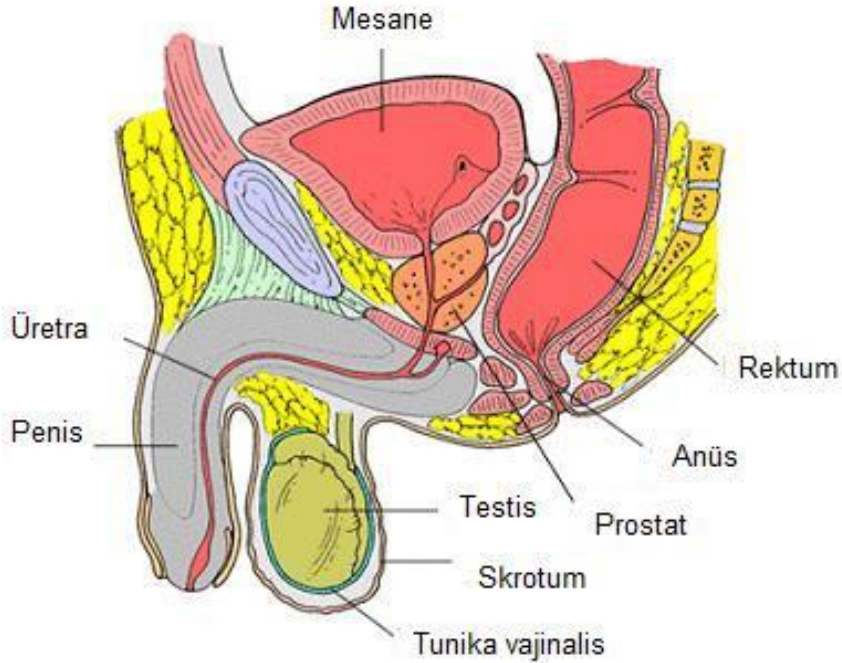
ve proliferasyon kabiliyetleri olan aynı zamanda transplante edildiklerinde tümör oluşturma kapasitesi farklı olan, birbirinden farklı hücre tiplerinden oluşmaktadır. Bu nedenle, tümör hücrelerinin progenitör hücreler olan kanser kök hücrelerinden (cancer stem cells, CSCc) oluştuğu hipotezi kabul edilmektedir (Collins ve ark, 2005; Live ark, 2008; Guzman-Raminez ve ark, 2009). CSCc'ler insan tümör hücrelerinden elde edilmektedirler. Yetişkinlerde kök hücreleri fizyolojik olarak sınırlı sayıda olup mikroçevre için özelleşmiş durumdadırlar ve böylece kök hücre havuzunu korumakta ve sürdürmekte önemli bir rol oynamakta ve doku homeostazının sürdürülmesi için gereklidirler. Kanser kök hücrelerinin kontrol edilemeyen proliferasyon sonucunda progenitör hücrelerin mutasyonu sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Aynı zamanda, kanser kök progenitör hücrelerin normal kök hücrelerine benzer bir mikroçevreden kaynaklandığı fakat sinyal moleküller sonucunda dominant olarak büyüdüğü öne sürülmektedir (Sing ve ark, 2003; Clarke ve ark, 2006; Li ve ark, 2006; Loukogeorgis ve ark, 2016).

Literatür taraması yapıldığında, mezenkimal kök hücrelerin prostat kanseri hücreleri üzerine etkilerinin araştırıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, insan adipoz dokudan elde edilen kök hücrelerin insan PC3 prostat karsinom hücreleri üzerindeki anti-tümör ya da pro-anjiogenik etkilerinin *in vitro* olarak araştırılması hedeflenmiştir. Bu nedenle, insan adipoz doku mezenkimal kök hücre supernatantlarının, PC3 hücrelerinde proliferasyonuna ve migrasyonuna etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, PC3 hücrelerinde insan adipoz doku kök hücre supernatantlarının apoptoza etkisi saptanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prostat Bezi

Prostat bezi, erkek üreme sisteminde mesane ve üretra arasında bulunan ekzokrin bir bezdir ve erkek üretrasının başlangıç kısmını oluşturur. Büyüme ve gelişmesi için androjen varlığına ihtiyaç duyan prostat bezi, ergenlik dönemiyle birlikte işlevsellik kazanır ve 25-30 yaşlarındaki yetişkin erkeklerde yaklaşık 2 cm kalınlığında, 4 cm genişliğinde ve 3 cm yüksekliğinde olup iri bir kestane büyüklüğündedir. Yaklaşık olarak 18-20 gr ağırlığındadır. Kabaca koni şeklindedir ve tabanı yukarıya apeksi aşağıya bakar. Yerleşim olarak küçük pelvisin alt kısmında, ampullarecti'nin önünde, symphysispubis'in arkasında, diaphragmaurogenitale'nin üst kısmında ve mesanenin altında bulunur. Prostat bezi kollagen, elastin ve düz kas yapısından oluşmuş kapsül ile çevrilidir (Şekil.1)(Balbay, 2008; Hammerich ve ark, 2009; Obakan, 2013; Koçak, 2017).



Şekil 1. Erkek genital sistemi (Obakan, 2013).

2.2. Prostat Kanseri

Prostat kanseri (PKa), prostat bezinin özellikle periferal bölgesinin glandüler dokusunun neden olduğu malign bir tümör hastalığıdır. Prostat bezini oluşturan epitel hücrelerinin proliferasyonu ve hücre ölümü arasındaki dengenin bozularak kontrolsüz çoğalması ile oluşur (Schulz ve ark, 2003; Eroğlu, 2014; Koçak, 2017). PKa, genellikle 50 yaş ve üzeri erkeklerde görülen bir hastalık olup, uzun süre belirti vermeden ilerlemektedir. PKa, büyük çoğunlukla prostat bezinin periferik bölgesinden, yaklaşık %5-15'i sentral bölgeden, geri kalanı ise transizyonel bölgeden köken alır (Yalınay Çırak, 2011; Özdemir, 2015).

Prostat kanserinin farklı türleri vardır. Bunlar; skuamoz ve adenoskuamoz kanserler, malign mezenşimal tümörler, adenokarsinoma, prostatik duktal adenokarsinoma, musinözadenokarsinoma, sarkomatid karsinoma (karsinosarkom), saf küçük hücreli adenokarsinoma, transizyonel hücreli kanserler, prostatikepitelyalneoplazi (PIN), atipik küçük asinerproliferasyondur. Prostat bezinde gelişen tümörlerin %9'ünü adenokarsinomlar oluşturmaktadır (Schulz ve ark, 2003; Baltacı ve ark, 2007; Obakan, 2013).

Prostat kanser hücreleri, özellikle kemikler ve lenf nodlarına metastaz yaparak vücudun diğer bölümlerine yayılırlar. PKa yayılımında bölgesel lenf bezlerine lenfatik yolla metastaz, hematojen yayılımdan önce olmaktadır ve sıklıkla obturator lenf nodülleri tutulmaktadır. En sık görülen hematojen yayılım ise kemik metastazları şeklindedir ve çoğunlukla pelvis, kaburgalar ve omurgaya metastaz gerçekleşmektedir (İnan, 2006; Balbay, 2008).

Prostat kanseri hücreleri yavaş bölünen hücrelerdir. Bu nedenle hastalık uzun süre herhangi bir semptom vermeden gelişebilmekte ve bu süre zarfında metastatik hale geçebilmektedir. Oluşan semptomların büyük kısmı metastaz kaynaklı olduğundan, teşhis koyulduğunda hastaların çoğunda ileri evre metastatik prostat kanseri gelişmiş olmaktadır (İnan, 2006).

2.3. Prostat Kanseri Oluşumunun Moleküler Mekanizmaları

Prostat kanserinin oluşumundan ve yayılımından sorumlu mekanizmalar henüz tam olarak keşfedilmemiştir. Ancak, hücre büyümesini, proliferasyonunu, anjiogenezisi ve adhezyonu kontrol eden sinyal iletim yolundaki birçok farklı değişikliklerin, PKa

gelişiminde rolü olduğu düşünülmektedir (Abate-Shen ve ark, 2000; Kambhampati ve ark,2005; Koçak,2017). Normal prostat epitel hücrelerinin kanser hücresine dönüşmesi; proto-onkogen aktivitesi ve tümör baskılayıcı genlerin baskılanması ile ilişkilidir (Koçak,2017).PKa gelişiminde önemli rol oynayan moleküler sinyal yolları; fosfataz ve tensin homolog protein(Phosphatase and Tensin Homologue Protein-PTEN), fosfatidilinositol-3 kinaz (PI3K) yolu, vasküler endotelial büyüme faktörü reseptörü (VEGFR), androjen reseptörü (AR), ve insülin büyüme faktörü 1 reseptörü (IGF1R)'dir. Özellikle, PI3K/AKT yolağı, PKa gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu yolak genellikle PKa hücrelerinde tümör baskılayıcı proteinin ve PTEN ekspresyonunun azalması ile aktive olur (Feldman ve ark,2001;Schulz ve ark, 2003; Taplin ve ark, 2004; Pienta ve ark, 2006; Koçak, 2017).

2.4. Kök Hücre Nedir?

Hiyerarşik olarak çeşitli hücre tiplerine farklılaşma ve bölünerek kendini yenileme ve çoğalma potansiyeline sahip, çok hücreli canlıların doku ve organlarını oluşturan temel hücrelere kök hücre denir (Kansu, 2002; Güneş,2005; Erden,2014; Acar, 2015). Kök hücrelerinin ana tipi bulunmaktadır. Bunlar embriyonik ve postnatal (yetişkin) kök hücrelerdir. Embriyonik kök hücreler blastosistten oluşurken, yetişkin kök hücreler ise dokularda bulunan kendini yenileyebilen multipotent hücrelerdir (Nading, 2009).

2.4.1. Kök Hücrelerin Genel Özellikleri

Kök hücrelerin iki temel önemli özelliği bulunmaktadır. Bunlardan birincisi" kendilerini yenileyebilme ve çoğalabilme özelliğini farklı hücre tiplerine farklılaşmadan yapabilmeleri" iken, ikincisi" aldıkları sinyallere göre farklı hücre tiplerine dönüşebilmeleri"dir. Bu özellikler kök hücreleri vücuttaki diğer hücrelerden ayıran en önemli özelliklerdir. Kök hücreler aldıkları sinyallerin özelliğine göre farklı hücre tiplerine dönüşebildikleri için belirlenmiş özel bir fonksiyonları yoktur (Şimşek, 2012; Karakaya, 2013). Vücutta herhangi bir hücre grubunda hasar oluştuğunda ya da hücreler öldüğünde, o bölgede hangi hücreye gereksinim varsa kök hücreler o hücreye dönüşürler (Şahin ve ark, 2005).

- Kök hücreler özelleşmemiş hücrelerdir.
- Kök hücrelerin yavru hücresi, özelleşmiş hücrelerden kaynaklanmış olabilir.
- Kök hücreler, hasar görmüş kaynak dokuya aktarılırsa onu yeniden çoğaltabilir. Kök hücreler doku hasarının olmadığı durumlarda da *in vivo* ortamda farklılaşmış kuşaklara katkı sağlarlar (Karaöz ve ark, 2004).

Tablo 1. İnsan kök hücrelerinin genel özellikleri (Gargett, 2007).

	İEKH	GKH	FKH	EKH
Kaynak	Morulblastomerin iç kitle hücresi	Erkek, testis Kadın fetal over, erişkin over	Fetal dokular (özel) fetal dolaşım (HSC, MSC) Plasenta (EPC, MSC) Amniyon kesesi ve sıvısı ES hücreleri gibi (MSC, HSC),Göbek kordon (HSC, MSC)	Birçok doku ve organ (yumurta, ilığı, endometrium, prostat, meme, cilt, barsak)
Potansiyel	Pluripotent	Unipotent	Pluripotentten multipotente değişebilir.	Unipotent, bipotent ve multipotent.
Farklılaşma	Spontan	Spontan	Fetal ve göbek kordonu spontan, plasental dokular ise kültürde <i>in vivo</i> ektodermal ve endodermal çoğalabilir.	Yerleştiği dokunun tipine göre hücreler karşılıklı farklılaşma gösterebilir.
Çoğalma potansiyeli	Sınırsız	Erkek yaşam boyu yüksektir. Dişide prenatal ve postnatal sınırlıdır.	Amniyotik epitelde sınırlıdır.	Değişmekle birlikte yaşam boyu olanaklıdır
Karyotip	Normal	Normal, diploit.	Normal	Normal
Kopya olarak üretilbilme	Hayır	Evet	Evet	Evet

2.4.2. Kök Hücrelerin Tarihçesi

Carl Rudolph Virchow (Alman bilim adamı) 1800'lü yıllarda "Omniscellula e cellula" (Tüm hücreler başka hücrelerden gelişir) yaklaşımında bulunmuştur. Kök hücre

kavramı 1868 yılında Alman Biyolog Ernest Haeckel tarafından ilk olarak literatüre girmiştir (Ramalho-Santos, 2007; Karakaya, 2013; Topçu Sarıca, 2016). İnsan kanıyla yapılan çalışmalar ile kök hücre çalışmaları hızlanmıştır. Franz Ernst Christian Neumann (1834-1918)'ın kemik iliği ile ilgili çalışmalarında akyuvarlara benzer hücrelerin varlığını belirlemiş ve böylece kan hücrelerini oluşturan organın kemik iliği olduğunu ileri sürmüştür. Julius Friedrich Cohnheim (1839-1884) yaraları iyileşmesini sağlayan hücrelerin kemik iliğinden kaynaklandığını bildirmiştir (Savneet Kaur ve ark, 2009; Karakaya, 2013). Kemik iliğinde kök hücrelere benzer progenitor hücrelerin varlığı Arthur Pappenheim (1870-1916) tarafından tespit edilmiştir (Ramalho-Santos, 2007). Hematopoetik kök hücreler 1909 yılında Alexander Alexandrowitsch Maximow (1874-1928) tarafından tanımlanmıştır. Maximov, bu hücrelerin yaralanma sırasında kandan yaralı dokuya taşındığını ve yaralı bölgeye ulaştıklarında ihtiyaç hissedilen hücrelere farklılaşabildiklerini bildirmiştir (Ramalho-Santos, 2007; Karakaya, 2013).

Türkiye'de ilk hücre kültürü çalışması Ord. Prof. Dr. Süreyya Tahsin Aygün tarafından 1971 yılında yapılmıştır (Şahin ve ark, 2005; Şimşek, 2012; Karakaya, 2013; Topçu Sarıca, 2016). MKH tanımı ise 1999 yılında Pittenger ve arkadaşları tarafından kemik iliği kaynaklı osteoblastlara, adipositlere ve kondrositlere farklılaşabilen fibroblastik hücreler şeklinde yapılmıştır (Pittenger ve ark, 1999).

2.4.3. Kök Hücrelerin Sınıflandırılması

Kök hücreler farklılaşabilme yeteneklerine göre ve köken aldığı doku dikkate alınarak sınıflandırılır.

2.4.3.1. Kök hücrelerin farklılaşma yeteneklerine göre sınıflandırılması

Farklılaşma yeteneklerine göre kök hücreler totipotent, pluripotent ya da multipotent olarak sınıflandırılırlar (Kansu, 2005; Lensch ve ark, 2013; Topçu Sarıca, 2016).

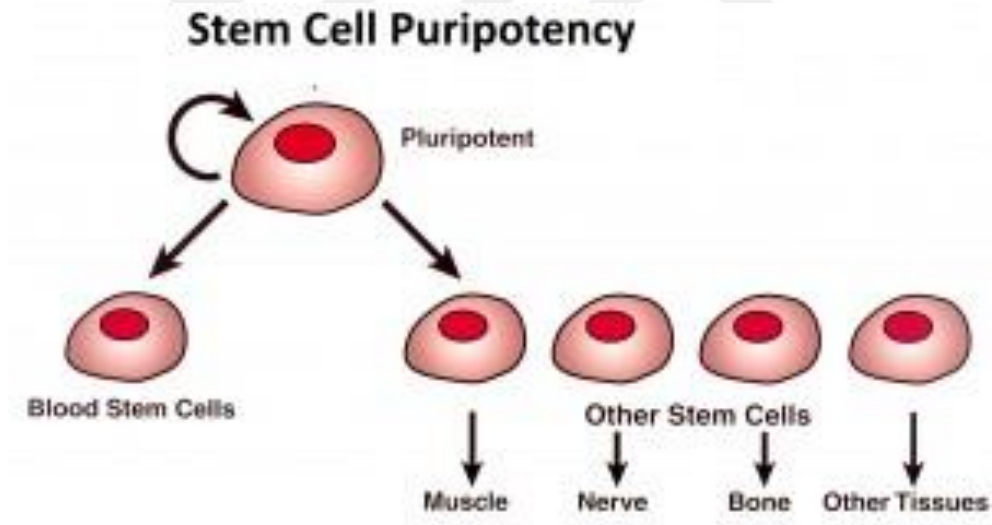
Totipotent kök hücreler; sınırsız farklılaşabilme ve farklı yönlere gidebilme özelliğindedirler. Embriyo, embriyo-sonrası tüm doku ve organlar ve embriyo-dışı membranların ve organların kaynağını oluştururlar (Kansu, 2005; Gün, 2013). Totipotent kök hücreler, canlı bir hayvanın uterusuna implante edildiğinde tam bir organizmayı

oluşturabilir (Sağsöz, 2008; Lensch ve ark, 2013; Özdemir, 2014; Acar, 2015).

Pluripotent kök hücreler; embriyonun blastosist evresinde, iç hücre kitlesini oluşturan embriyonik hücrelerdir ve gelişmiş bir organizmanın her tabakasında (mezodermal, endodermal ve ektodermal) yer alıp, organları oluşturmak için çoğalır ve farklılaşırlar. Bu hücreler vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilirler fakat tek başlarına bir organizmayı oluşturamazlar (Şekil 2.8) (Kansu, 2005; Holm, 2008; Karakaya, 2013).

Multipotent kök hücreler; yetişkin kök hücrelerdir ve sadece buldukları dokunun onarımı ve yenilenmesinde görev alırlar. Organizmanın her dokusunda yer alan multipotent kök hücreler, daha düşük dönüşme potansiyeline sahiptirler. Bu hücreler hasarlı bölgeye çağrıldığında kendilerini yenilerler, bölünmeye başlarlar ve bir progenitör hücre oluşur (Moore ve ark, 1997; Kansu, 2005; Nading, 2009; Lodish ve ark, 2011; Karakaya, 2013; Özdemir, 2014).

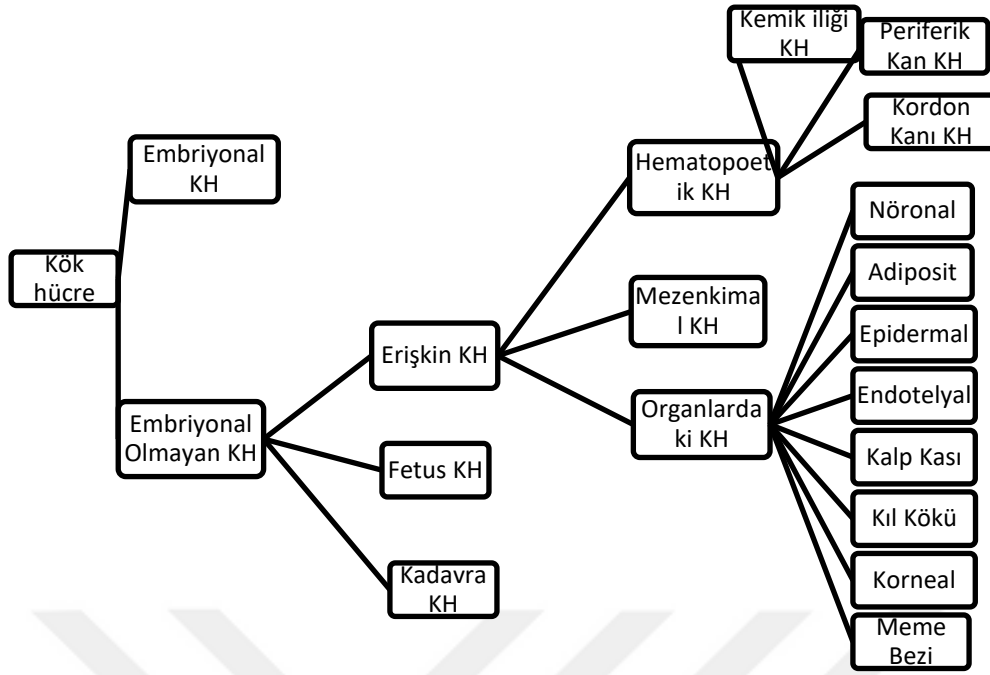
Unipotent kök hücreler; multipotensiyel kök hücresi ve bu hücrelerin bölünmesi ile oluşan hücrelerdir. Tek bir yönde farklılaşmak için programlanmışlardır.



Şekil 2. Pluripotent kök hücre hiyerarşisi (Özdemir, 2014).

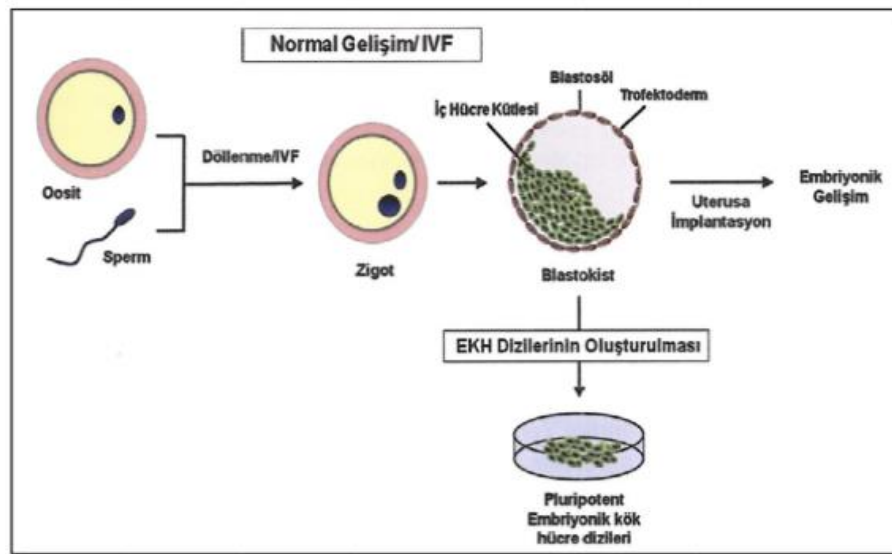
2.4.3.2. Kök hücrelerin köken aldıkları dokuya göre sınıflandırılması

Köken aldıkları dokuya göre kök hücreler embriyonik kökhücreler ve yetişkin kök hücreler olarak iki başlık altında incelenir (Karakaya, 2013).



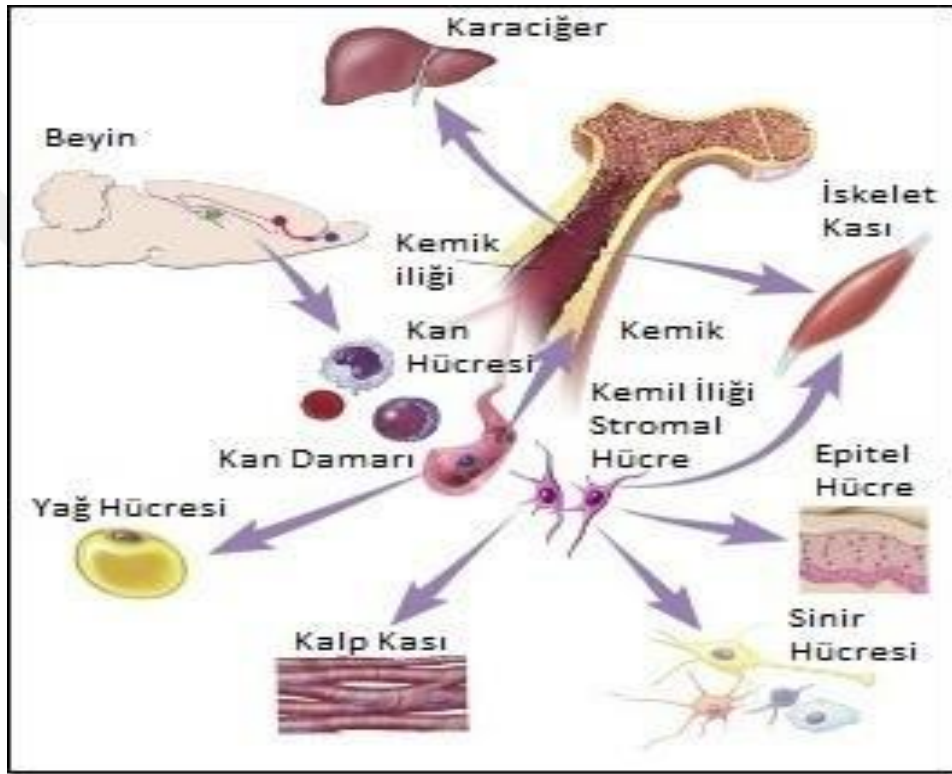
Şekil 3. Kök hücre sınıflandırması (Gün, 2013).

Embriyonik kök hücreler; embriyoda erken evrede bulunan totipotent kök hücreler olup; blastosist aşamasından izole edilirler (Şekil 4). Blastosist aşamasında, dış kısımda bulunan trofektoderm hücreleri plasentayı oluştururken, iç kısımda bulunan hücreler fetal yapıyı oluşturmakta ve embriyonik kök hücreler iç kısımdaki bu hücrelerden ayrıştırılmaktadır (Kansu, 2002; Karakaya, 2013; Erden, 2014).



Şekil 4. Embriyonik kök hücre dizilerinin elde edilmesi (Karakaya, 2013).

Erişkin kök hücreler; doğumdan sonra organizmada farklı doku ve organlarda yerleşik halde bulunan multipotent kök hücrelerdir. Embriyonik hücelere oranla daha az sayıda hücre türüne farklılaşmalarına rağmen yetişkin dokularda progenitör hücelere farklılaşabilirler (Karakaya A., 2013; Kansu E., 2002; Erden S., 2014; Güneş AM., 2005; Blau H.M. ve ark., 2001). Plastisite özelliklerine sahip olan bu hücreler sadece ait oldukları dokunun hücre tipine değil, birçok farklı dokulara ait hücre tiplerine diferansiye olabilmektedir (Şekil 5).



Şekil 5. Erişkin kök hücrelerin farklı hücelere diferansiye olması (Karakaya, 2013)

Erişkin kök hücrelerin elde edildiği dokular; göbek kordon kanı, plasenta, kemik iliği, böbrek, kalp, deri, beyin, göz, pankreas, karaciğer, akciğer, ovaryum, meme, prostat ve testislerdir (Blau ve ark, 2001; Kansu, 2002; Güneş, 2005; Şimşek, 2012; Erden, 2014).

2.5. Mezenkimal Kök Hücre (MKH)

1924 yılında Aleksander Maximow tarafından fark edilmiştir. Maximow, kandabulunan ve farklılaşma yeteneği olan bu hücrelere mezenkimal kök hücreler adını vermiştir. Ernest McCulloch ve James Till 1960'lı yıllarda mezenkimal kök hücre araştırmalarını ilerleterek kültür ortamında çoğaltmayı başarmışlardır (Nardi ve da Silva, 2006; Acar, 2015). 1970 yıllarında Friedenstein ve arkadaşları, çalışmalarında kemik iliği aspiratını fetal buzağı serumu içeren ortama yaymasının ardından morfolojik olarak fibroblastlara benzeyen hücrelerin var olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu hücrelerin yüzeye yapışabilme özelliği ile kemik, kıkırdak ve yağ hücrelerine farklılaşabilme yeteneği olduğunu gözlemlemişlerdir (Friedenstein ve ark, 1976; Barry ve ark, 2004; Erden, 2014). Daha sonraki çalışmalarda bu hücrelerin embriyonun üç germ tabakasından gelişen hücre ve dokulara farklılaşabilen, hematopoetik olmayan, multipotent hücreler olduğu belirlenmiştir. Mezodermal kökenli hücrelere farklılaşabildiklerinden dolayı bu hücreler mezenkimal kök hücreler olarak adlandırılmışlardır (Jiang ve ark, 2002; Topçu Sarıca, 2016).

MKH'ler, multipotent stromal kök hücrelerdir. Bu hücreler, kendilerini yenileyebilme, mezenkimal ve mezenkimal olmayan yağ dokusu, kas, kemik, kıkırdak ve sinir hücreleri gibi olgun hücre soylarına farklılaşabilirler (Zuk ve ark, 2002; Neuss ve ark, 2004; Barry ve ark, 2004; Nardi ve da Silva, 2006). MKH'ler görevleri bakımından oldukça dikkat çekicidir. MKH'ler aynı zamanda hematopoezisi destekler. Bu sayede birçok organ ve dokunun homeostatik dengesinin korunmasına yardım eder. Buldukları dokudan ayrılıp hasarlı olan dokulara geçerek hasarlı dokunun tamirini yaparlar (Nardi ve da Silva, 2006).

2.5.1. İnsan Mezenkimal Kök Hücre Karakteristik Özellikleri

Morfoloji: İnsan mezenkimal kök hücreleri, morfolojik olarak fibroblastlara benzerler ve kültür ortamında plastik yüzeye yapışabilirler. Morfolojik görüntülerinde uzun ve ince veya düz yassılaştırmış fibroblast benzeri bir yapı gösterebilirler (Nardi ve da Silva, 2006; Topçu Sarıca, 2016). Hücrelerin morfolojisi izole edildikleri doku ve organizmaya göre farklılık gösterebilir. Hücreler genellikle kromatin partikülleriyle çevrelenmiş bir çekirdek içerir. Hücrenin geri kalan kısmı; golgi aygıtı, endoplazmik retikulum, mitokondri ve poliribozomlar ihtiva eder (Netter, 1987; Acar, 2015).

Yüzey Belirteçleri: Mezenkimal kök hücreler, bu hücrelerin plastik yüzeylere yapışması, stromal düzeyde yüzey antijenlerini eksprese etmeleri, multipotent farklılaşabilmeleri ile karakterize edilir (Topçu Sarıca, 2016). MSCs'lerin allo veya ksenojenik lenfositlerin immunojenitesinin yetersiz olması sebebiyle CD29, CD90 ve CD59 için pozitif ve CD80, CD86 ve insan-lökosit antijeni-II için negatif olmalıdır (Chai ve ark, 2017). Mezenkimal kök hücreler yüzeylerinde temel olarak CD105, CD73, CD90, CD146, CD29 eksprese ederlerken; CD28, CD25, CD34, CD45, CD14 eksprese etmezler (Dominici ve ark, 2006).

2.5.2. Mezenkimal Kök Hücrelerin Klinik Kullanımı

MKH'lerin, sahip oldukları birçok özellikleri sayesinde MKH'lerin çeşitli hücrelere farklılaşarak ya da çözümler faktörler sentezleyerek hücre yenilenmesine katkıda bulunmaları, *in vitro*'da kolaylıkla çoğalabilmeleri, hasarlı dokuya migrasyon yetenekleri, immun baskılayıcı gibi özellikleri sayesinde birçok klinik uygulamada kullanılmaktadır (Erden, 2014). Son yıllarda mezenkimal kök hücrelerin akut ve kronik hastalıklarda terapötik ajanlar olarak kullanım potansiyeli dikkat çekmektedir. Yapılan çalışmalarda bu hücrelerin, T ve B hücre, doğal öldürücü hücre (NK) ve dentritik hücre (DH) gibi doğal ve edinsel bağışıklık hücreleri üzerinde immünmodulasyon etkilerinin olduğu gösterilmiştir. MKH'ler aracılığıyla oluşan inhibisyon etkisinin altında yatan mekanizması henüz tamamen anlaşılamamıştır. Hücre-hücre temasının ve çözümler faktörlerin birlikte etkili oldukları düşünülmektedir (Kapoor ve ark, 2012). Tedavisi olanaklı olmayan ve sadece kök hücreleriyle tedavisinden yanıt beklenen hastalık ve bozukluklarda kök hücrelerin potansiyel kullanım alanları arasında; beyin hasarı ve inmeler, bazı kanser türleri, omurilik yaralanmaları, kalp hastalıkları, hematopoezis, kellik, diş kayıpları, sağırılık, körlük ve görme kaybı, Amniyotrofik Lateral Skleroz, Graft versus host hastalığı, Crohn hastalığı, doğumsal davranış ve motor nöron bozuklukları, diyabet, ortopediyle ilgili bazı hastalıklar, yara iyileşmesi ve kısırılık bulunmaktadır (Beksaç ve ark, 2004).

Kök hücrelerin klinik amaçlı kullanımını sıklıkla tedavileri olanaklı olmayan, kendini yenileme ve onarım olanağı bulunmayan ve hücre kaybının yaşandığı pek çok hastalığın tedavisinde düşünülmektedir (Beksaç ve ark, 2004). Tedavilerinde kök hücrelerin kullanılabilirdiği ve olumlu yanıt alınan bazı hastalıklar lenfomalar, lösemiler, multiple myeloma, meme/beyin/over kanseri gibi solid tümörler, anemiler, immün yetersizlikler,

Hurler Sendromu ve osteopetrosis gibi kalıtsal metabolik bozukluklardır.

2.5.3. Mezenkimal Kök Hücrelerin *In Vitro* Kanser Hücreleri Üzerindeki Etkileri

Günümüzde kök hücre tedavisi, tıbbın birçok alanında uygulandığı gibi kanser tedavisinde de yeni tedavi yöntemleri arayışı içerisinde yerini almıştır. İnsan mezenkimal kök hücreleri (MSC'ler), *in vitro* ve *in vivo* olarak inflamasyonu ve immünolojik yanıtları inhibe edebilen eşsiz immünomodülatör özelliklere sahiptir (Rolfo ve ark, 2014). Mezenkimal kök hücrelerin kanser hücrelerini baskılayarak ve çoğalmalarını durdurarak tedavi edici ve koruyucu etkisi birçok deneysel çalışmada gösterilmiştir (Şahin, 2015). Ancak son yıllarda, kanser tedavisinde kullanılan kök hücre çalışmalarında, mezenkimal kök hücrelerin insan malignitelerini tetiklediği, kitleyi büyüttüğü, yeni damarların oluşumuna ve metastatizasyona yardım ettiği gösterilmiş ve bu durum kök hücrelerin kanser tedavisi üzerine etkilerini tartışmalı duruma getirmiştir (Ohlsson ve ark, 2003; Studeny ve ark, 2004; Fierro ve ark, 2004; Zhu ve ark, 2009). Bazı çalışmalar, potansiyel olarak MSC'lerin immünomodülatör ve pro-anjiyojenik özellikleri ile tümör büyümesinin ve gelişiminin arttırıldığını göstermiştir, diğerleri ise tümör büyümesinin inhibisyonunu ve uzun sağkalımı göstermiştir (Karnoub ve ark, 2007; Lu ve ark, 2008; Yu ve ark, 2008). Yapılan çalışmalarda MSC'lerin, kanser hücrelerinin apoptozisini indükleyerek, *in vitro* ve *in vivo* olarak tümör hücresi büyümesi üzerinde potansiyel inhibe edici etkileri olduğu tarif edilmiştir (Lu ve ark, 2008; Takahara ve ark, 2014; Rolfo ve ark, 2014). MSC'nin hepatoselüler karsinoma (HCC) (Li ve ark, 2010; Livraghi ve ark, 2005) metastazını ve meme kanseri hücre çoğalmasını (Qiao ve ark, 2008) engelleyebildiği gösterilmiştir. MSC'ler, yüksek derecede inflamatuvar bir anjiyojenik tümör olan Kaposi sarkomu modelinde güçlü antitümör etkileri sergilemiştir (Khakoo ve ark, 2006).

ADSC'lerin tümör hücresi proliferasyonu üzerindeki etkisi tartışmalıdır. Bazı çalışmalar, ADSC'lerin glioma hücrelerinin (Yu ve ark, 2008) ve hem meme kanserinin (Muehlberg ve ark, 2009) hem de prostat kanserinin (Prantl ve ark, 2010) çoğalması üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu bildirirken, bazı çalışmalarda ADSC'lerle ortak kültürün, pankreas kanseri hücrelerinin proliferasyonu üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğu bildirilmiştir (Cousin ve ark, 2009). Takahara ve ark (2014) yaptıkları çalışmalarında adipoz doku mezenkimal kök hücrelerin androjen bağımlı olup olmamasına bakılmaksızın PC3 prostat kanseri hücrelerinde proliferasyonu ve tümör büyümesini inhibe ettiğini, apoptozu

uyardığını bildirmişlerdir. Rolfo ve ark (2014) çalışmalarında amniyon kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin PC3 prostat kanseri hücrelerinin hücre sikluslarını bozduğunu ve böylece hücre proliferasyonunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Prostat kanseri, hem moleküler hem de klinik açıdan heterojen bir hastalıktır. Prostat kanserinde temel klinik problem, hormona duyarlı kanserlerin endokrin tedavisi ile tedaviden sonra hormon duyarsız bir hastalığa dönüşmesidir. Erken evrede saptanan prostat kanseri radikal prostatektomi ve radyoterapi ile başarılı bir şekilde yok edilebilse de, metastatik evreye geldiğinde tedavisi mümkün değildir. Çalışmamızda ADMSC ortam medyumunun PC3 prostat karsinom hücreleri üzerindeki etkileri *in vitro* olarak araştırılmıştır. ADMSC ortam medyumunun PC3 hücrelerinin canlılığına, migrasyonuna ve apoptozuna etkileri araştırılmıştır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Malzemeler

PC3 hücre hatları ADÜ BİLTEM'den temin edilmiştir, hücre hatları ticari olarak üretilmiş olduğu için herhangi bir etik kurul onayı gerekmemektedir.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan malzemeler

Ürün	Ürün Kodu	Firma
MTT[(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)]	M-5655	Merck
Bovin Serum Albumin (BSA),100 g	A-3059	Sigma-Aldrich
Fetal Bovin Serum (FBS), 100 ml	CP-16-1265	Capricorn
Tripsin-EDTA (%0,25), 1X, 100 ml	T-4049	Sigma-Aldrich
Penisilin-Streptomisin, 100X, 20 ml	P-4333	Sigma-Aldrich
L-Glutamine, 200 Mm, 100 ml	G-7513	Sigma-Aldrich
Gentamicin, 50 mg/ml	G-1397	Sigma-Aldrich
Dulbecco's Phosphate Buffer Saline (DPBS), 500 ml	D-8537	Sigma-Aldrich
Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), 500 ml	CP16-1273	Capricorn
NEAA (nonessential amino acids), 100ml	K-0293	Sigma-Aldrich
MEM (Minimum Essential Medium EagleMedium)	56416C	Sigma-Aldrich
PC3 Hücre Dizisi	-	ADÜ-BİLTEM
75'lik steril flask	431464U	Corning
25'lik steril flask	-	Orange Scientific
1,5 ml'lik steril eppendorf	-	Axygen Quality
50 ml'lik steril falkon	31434	Sigma-Aldrich
15 ml'lik steril falkon	-	Orange Scientific
Pipet tek kullanımlık steril, 10 ml	4488	Costar
Pipet tek kullanımlık steril, 5 ml	160510	Sigma-Aldrich
Steril 12 kuyucuklu mikroplate	3513	Costar
2 ml'lik steril hücre dondurma tübü	TPP89020	Thermo scientific

3.2. Kullanılan Cihazlar

Biyogüvenlik Kabini (2.seviye), Heraeus

İnkübatör, Nuair

Soğutmalı Santrifüj (eppendorf için), Eppendorf 5415R

Soğutmalı Santrifüj (15 ml falkon için), Hettich D78532

İnvert Mikroskop, (Olympus CK40)

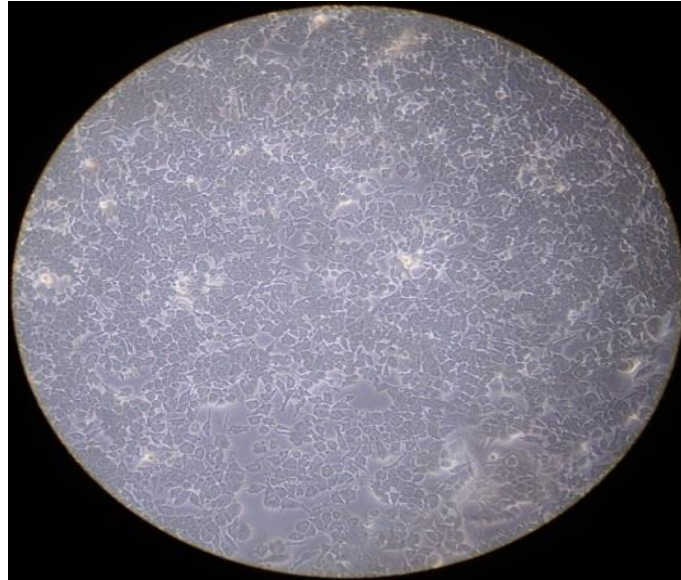
Mikroplate Yıkayıcı, Eksper

Mikroplate Shaker (ısıtmalı), Eksper HT

3.3. Deneyler

3.3.1. PC3 Prostat Karsinoma Hücre Hatlarının Temini ve Hücre Ekimi

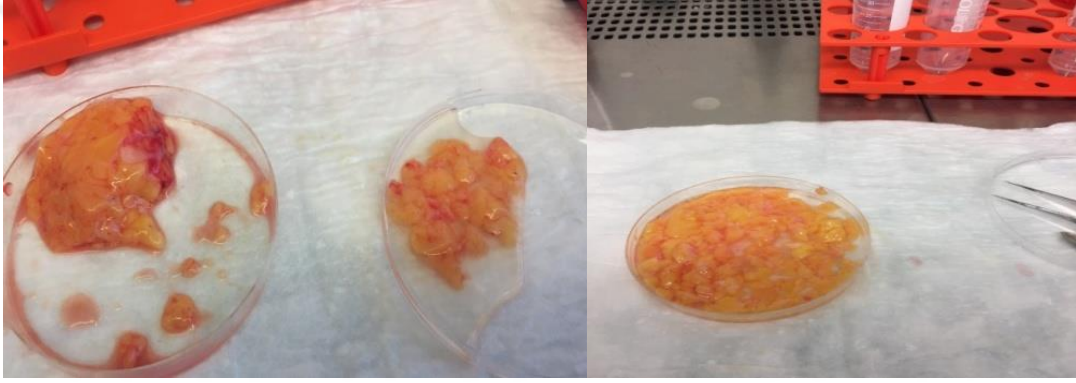
Prostat karsinomlarının büyük bir kısmı glandular oluşumlar ve luminal diferansiyasyon belirteçleri olan androjen reseptörü (AR) ve prostat-spesifik antijen (PSA) içermesi nedeniyle adenokarsinom karakteristiğindedir. Karsinomların çoğu ağrısız ve androjene bağımlıdır. Hormonal terapi ilerlemiş ve metastatik prostat adenokarsinomunda AR sinyalini inhibe etmekte olup hastalarda semptomatik olarak rahatlama sağlamaktadır. PC3 prostat karsinom hücreleri AR ve PSA reseptörlerini içermediklerinden, proliferasyonları androjenden bağımsızdır. Çalışmamızda Tıp Fakültesi Prof. Dr. Çiğdem YENİSEY'in hücre stoklarından elde edilen ve Adnan Menderes Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Merkezi (BİLTEM) laboratuvarında -196 °C sıvı azotta saklanan hücreler kullanılmıştır. Hücreler, DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) + % 10 FBS (fetal bovine serum) + 2 mM glutamin + streptomisin (100 µg/ml) + penisilin (100 U/ml) içinde büyütülmüştür. Hücrelerin sıklığı % 80-90'a eriştiğinde çalışmalar yapılmıştır (Resim 1).



Resim 1. PC3 prostat karsinom hücresi invert mikroskopta x4'lük büyütmede

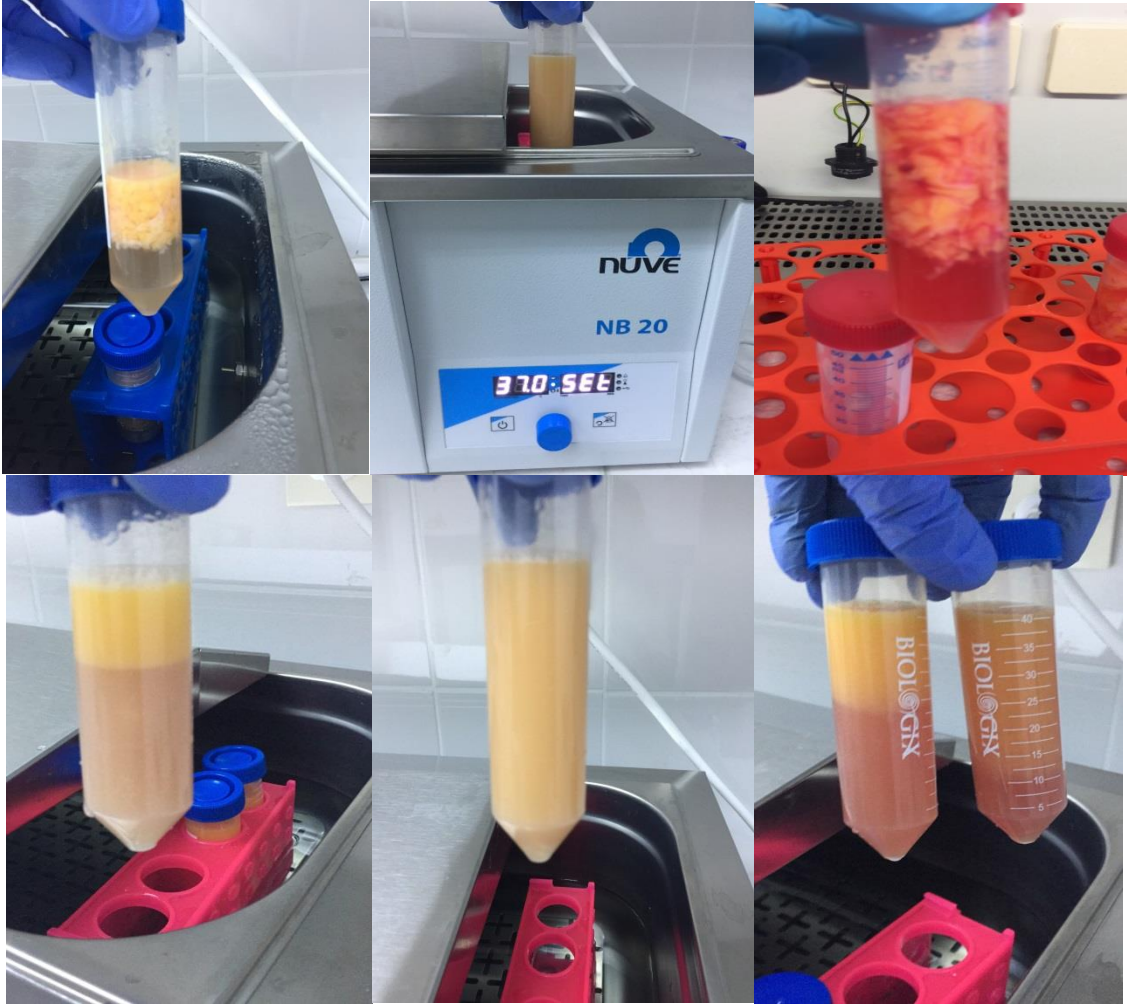
3.3.2. İnsan Adipoz-Doku Kök Hücre Eldesi

İnsan adipoz doku kök hücre eldesinde Zhu ve ark, (2013) ile Francis ve ark, (2010) yöntemlerinden yararlanılarak izolasyon ve flow cytometry yöntemi uygulanmıştır. Adipoz doku ameliyathane şartlarında plastik cerrahi girişimi ile steril PBS solüsyonuna alınmıştır. Alınan dokuya kısa süre içerisinde izolasyon uygulanır. Büyük olan adipoz doku parçaları stromal dokudan cerrahi bir makas yoluyla yağ damlacığı şeklindeki daha küçük yağ dokusu parçacıkları, steril petri içine ayıklanır. Steril edilmiş bir spatül yardımıyla ayıklanan bu yağ dokusu falkon tüp içine alınır. Çalışılan tüm cerrahi malzemeler steril olmalıdır (Resim 2).



Resim 2. İnsan abdominal bölgesinden plastik cerrahi girişimi ile alınan yağ dokusunun stromal hücrelerden ayrılması

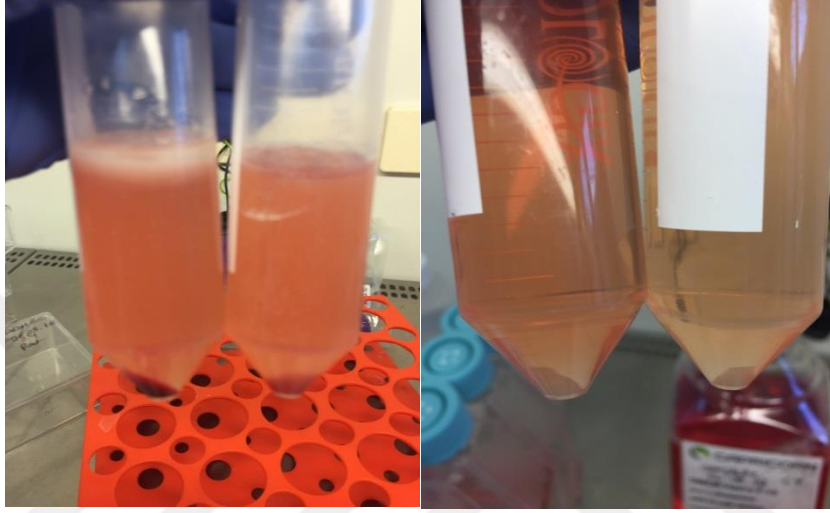
Literatürde farklı miktarlarda dokular ile çalışılmasına rağmen, çalışmamızda birkaç deneme sonrasında 15 ml DPBS içinde çözülmüş ve 0.22 μ m filtreden geçirilmiş % 0.1 konsantrasyonunda kollajenaz I enzimi ortalama 10 gr yağ dokusu üzerine konuldu. Ayrılan yağlar 50 ml'lik falkon tüp içine alınarak içine kollajenaz enzimi eklendi ve 37 °C su banyosuna konuldu. Her 5-10 dakikada bir falkon tüpler şiddetli bir şekilde çalkalandı ve enzim çözeltisi içinde yağların iyice erimesi sağlandı (Resim 3).



Resim 3. Kollajenaz I enzimi eklendikten ve 2 saat su banyosunda enkübe

Hücreler iki saat bekleddikten sonra su banyosundan çıkarıldı. Daha sonra 1000 µl'lik pipet ucu yardımı ile 100 µm gözenekleri olan hücre süzgecinden (cell strainer) geçirildi ve böylece çözünmeyen hücrelerden ayrıldı (Resim 4).

ayarlanmasını ve 0.22 µm filtreden geçirilmesini içermektedir. 10x olarak hazırlanan tampon, kullanılırken steril bidistile su ile 1x'e dilüe edilmektedir. Daha sonra 10 dakika oda sıcaklığında bekletilerek eritrositler parçalanması sağlandı. Bu sürenin sonunda koyduğumuz miktarda büyüme medyumu RBC tamponu üzerine eklendi ve 1200 g'de 10 dk tekrar santrifüj edildi. Bu işlem dipteki hücrelerin tümüyle eritrositlerden ayrılincaya kadar yapılabilmektedir (Resim 6).



Resim 6. Eritrositlerinden ayrılan çözünmüş yağ dokusu. Birinci resimde dipte yoğun eritrosit görülmekte iken, ikinci şekilde fraksiyon yıkandıkça eritrositlerinden ayrıldığı görülmektedir.

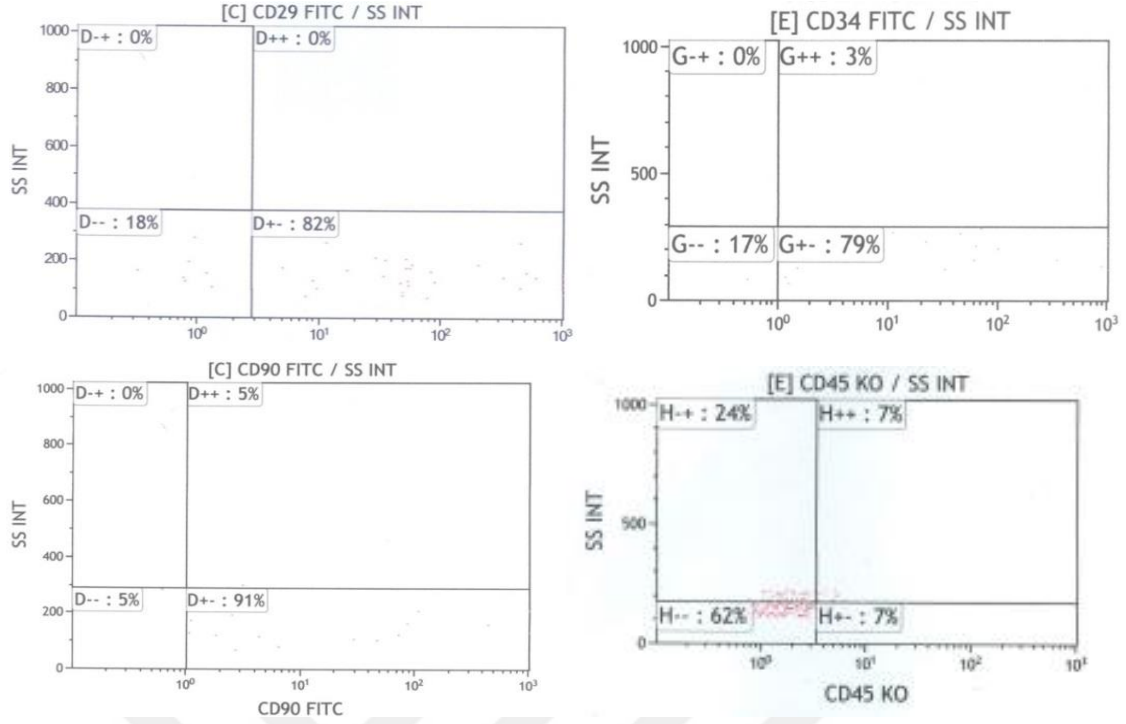
Daha sonra süpernatant iyice dökülüp dipte kalan hücreler büyüme medyumu ile 75 cm²'lik flask içine ekildi. Medyum yaklaşık 2 gün sonra, yapışmayan hücreler ve stromal hücreleri temizlemek için tazesi ile değiştirildi. Bu işlem en az 3 kez tekrarlandıktan sonra hücreler pasajlandı (Resim 7).



Resim 7. İnsan adipoz doku kök hücresi (2. pasaj) (x4)

3.3.3. Hücrelerde yüzey antijenlerinin bakılması

Literatürde ADMSC kullanımının en fazla 5. pasaja kadar uygun olduğu belirtilmekte olup, 2 ile 5 arasındaki pasajlamanın, en iyi kök hücrelerin elde edilmesini sağladığı ve kullanıma uygunaralık olduğu bildirilmiştir. Hücrelerin beşinci pasajdan sonra kök hücre özelliklerini yitirdikleri ve farklılaştıkları literatürde rapor edilmiştir (Zhu ve ark, 2013; Francis ve ark, 2010). Bizim çalışmamızda ortam medyumu elde ettiğimiz hücreler çalışmamızda 2. ve 3. pasajda kullanılmıştır. Hücrelerin yüzey antijenlerini saptamak, adipoz doku kök hücre olup olmadığını veya yüzde kaç kök hücre içerdiğini tespit etmek amacıyla flaska ekili olan hücreler tripsin ile muamele edilmiştir. Daha sonra tekrar çöktürülüp her bir tüpte 50.000/100 µL fiksasyon tamponu (cihazın kendi tampon çözeltisi) olacak şekilde tüplere konulmuştur. Her bir antijenden 5 µL eklendikten ve 30 dakika buz içinde enkübyondan sonra cihaz tarafından okunduğunda; yüzey belirteçlerinden CD29, CD34 ve CD90 yüksek titrede olması ve CD45'in çok düşük bulunması, adipoz doku mezenkimal kök hücre elde ettiğimizi göstermiştir (Şekil 6).



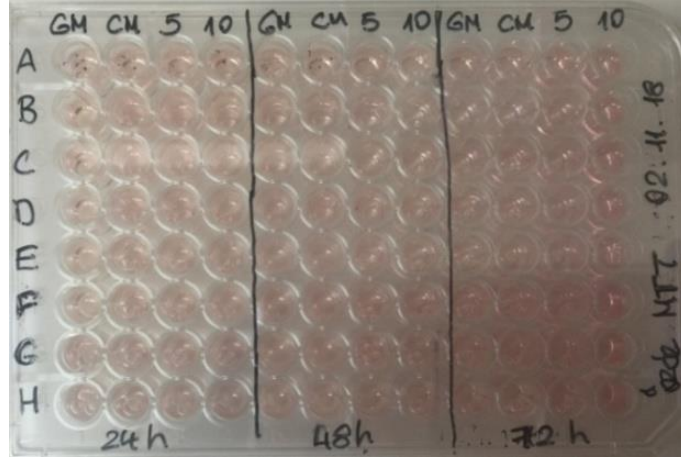
Şekil 6. Adipoz doku mezenkimal kök hücre akım sitometri sonuçları.

3.3.4. İnsan Adipoz Doku Kök Hücrelerinden Ortam Medyumunun Elde Edilmesi

25 cm²'lik 4 ayrı flaska PC3 hücresi aynı zamanda ekilmiş (3. pasaj) ve % 80-90 doluluğa ulaştıktan sonra hücreler DPBS ile yıkanmıştır. Daha sonra hücrelere 6 mL DMEM +%1 BSA çözeltisi eklenerek hücreler 10 gün süresince 37°C de %5 CO₂ de enkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda flaskın içindeki medyumlar toplanarak santrifüj edilmiş ve tekrar 0.22 µm'lik filtreden geçirilip MTT, migrasyon ve apoptoz deneylerinde kullanılmıştır.

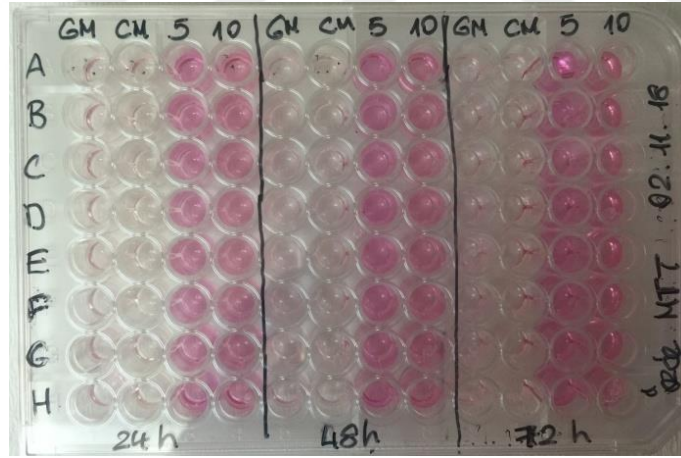
3.3.5. MTT Deneyi ile Hücre Canlılığının Saptanması

MTT çalışması için 96 kuyucuklu plak içinde her bir kuyucukta 10.000 PC3 prostat karsinom hücresi olacak şekilde 100 µl büyüme medyumunu olan DMEM içinde ekildi (Resim 8).



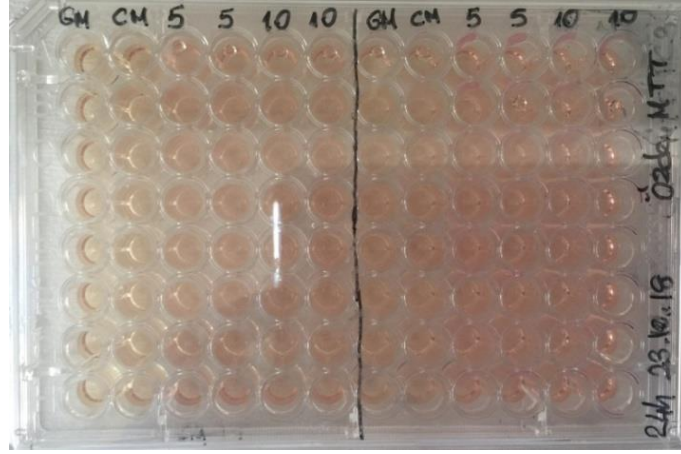
Resim 8. MTT çalışması için PC3 prostat karsinom hücrelerinin kuyucuklara 10.000 hücre olacak şekilde ekilmiş hali

Hücreler % 5 CO₂ içeren enkübatörde 37 °C’de 24 saat bekletildikten sonra medyum aspire edildi ve 100 µl DMEM + % 1 FBS içinde elde edilen adipoz-doku kök hücre ortam medyumları (5. ve 10.gün) kuyucuklara eklendi (Resim 9).



Resim 9. Hücreler ekildikten ve 24 saatlik enkübasyon sürecinden sonra kök hücre ortam medyumlarının konulması

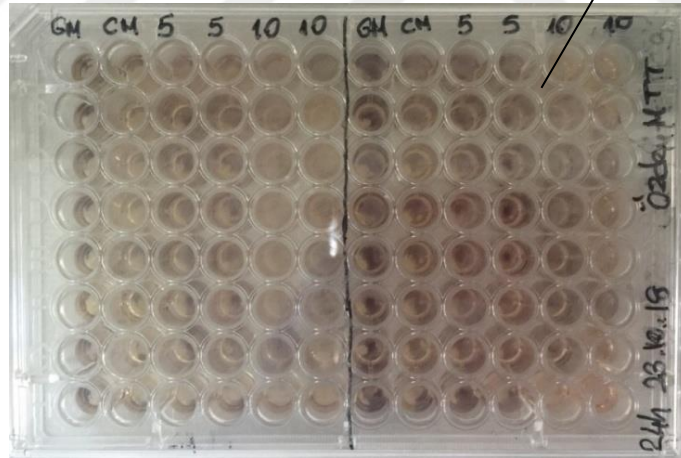
24., 48. ve 72. saatlerde kuyucuklardaki medyum aspire edildi. Kuyucuklara serum içermeyen medyum içinde 0.5mg/ml olacak şekilde hazırlanmış MTT çözeltisi 100 µl olacak şekilde eklendi (Resim 10).



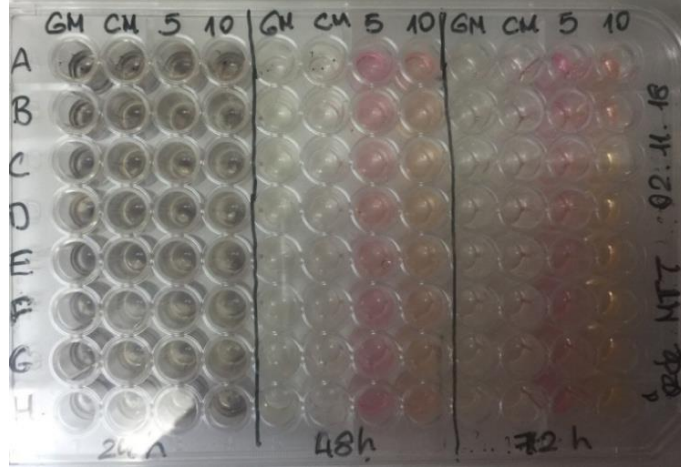
Resim 10. Kuyucuklara MTT çözeltisi konduktan hemen sonra

Plaklar enkübatörde 37 °C'de % 5 CO₂ 2 saat bekledikten sonra formazan oluşumu kuyucukların dibinde gözle görülür hale geldi (Resim 11, 12, 13).

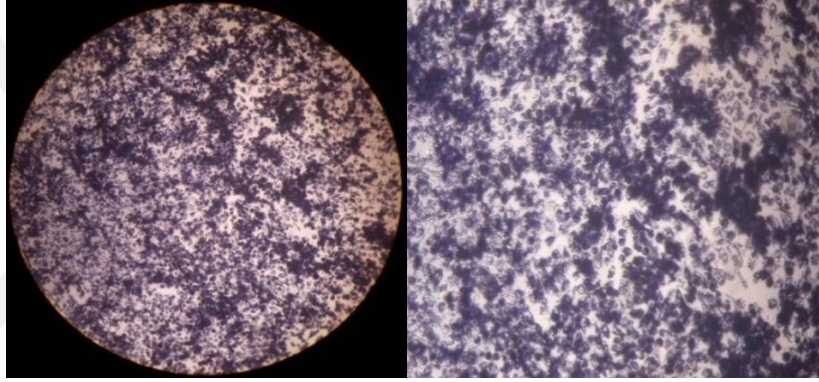
Kuyucukların dibinde mor renkli çökelti oluştuğu görülmektedir



Resim 11. Kuyucuklara MTT çözeltisi konduktan 1 saat sonra kuyucuklarda formazan oluşu başlangıcı



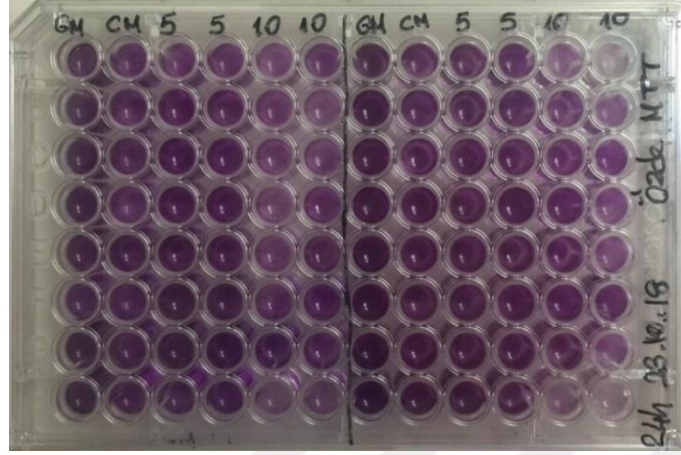
Resim 12. 24 saatlik enkübasyon sürecinden sonra MTT yoluyla formazan oluşması



Resim 13. MTT çözeltisi ekledikten 2 saat sonra kuyucuklarda mor renkli formazan oluşumu

2 saatin sonunda kuyucuklardaki çözelti dikkatli bir şekilde alındı. Üzerinde oluşan formazanın çözülebilmesi için 200 µl DMSO eklenerek (Resim 14) oda ısısında formazanın çözülmesi ve homojen dağılım sağlanması için 15 dakika mikropalak çalkalayıcıda çalkalandı (Resim 14). Bu sürenin sonunda absorbans okumaları mikropalak okuyucuda 570 nm’de yapıldı. Bu çalışmada kontrol olarak sadece büyüme medyumunu içeren kuyucuklardaki PC3 ve ADMSC hücrelerinin oluşturduğu rengin absorbansı ölçüldü (Resim 15, 16, 17). Çalışma 5 günlük ve 10 günlük ADMSC ortam medyumlarının PC3 hücreleri ile etkileşimi sonrası 3 farklı gün (24., 48., ve 72. saatler) 8 örnek ile tekrarlanarak her bir maddenin hücre canlılığına olan etkisinin istatistiksel olarak gösterilebilmesi için 24 veri kullanıldı. Kullanılan maddelerin PC3 prostat karsinom hücrelerinde canlılığına olan etkisini hesaplamak için aşağıdaki denklem kullanıldı.

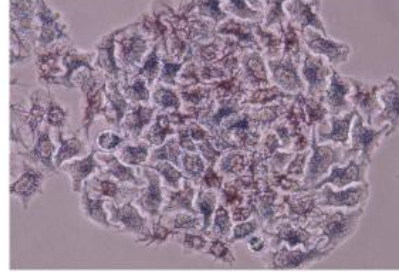
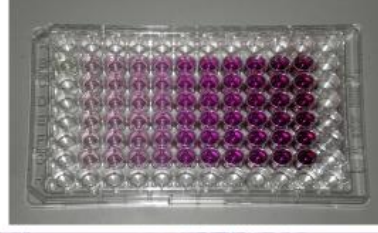
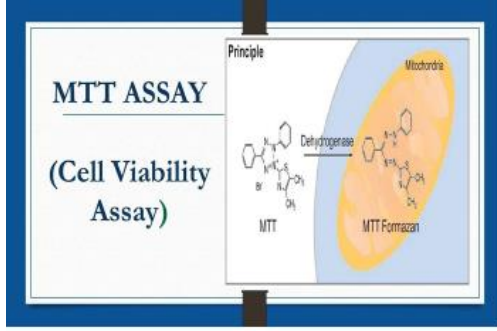
Hücre canlılığı (%)= (Tedavi gören grubun absorbans değeri /Kontrol grubunun absorbans değeri) x100



Resim 14. Kuyucuklara DMSO konulup formazan çözüldükten sonraki görüntüsü



Resim 15. Otomatik hücre sayımının yapıldığı cihaz ve hücrelerin sayıldığı thoma lamı



Canlı olan hücrelerin mitokondrisi boyayı almakta olup, oluşan bu renk spektrofotometrede ölçülmektedir. Hücre canlılığı azaldıkça renk azalmaktadır.

Resim 16. MTT hücre canlılığı deneyi, şematik gösterim

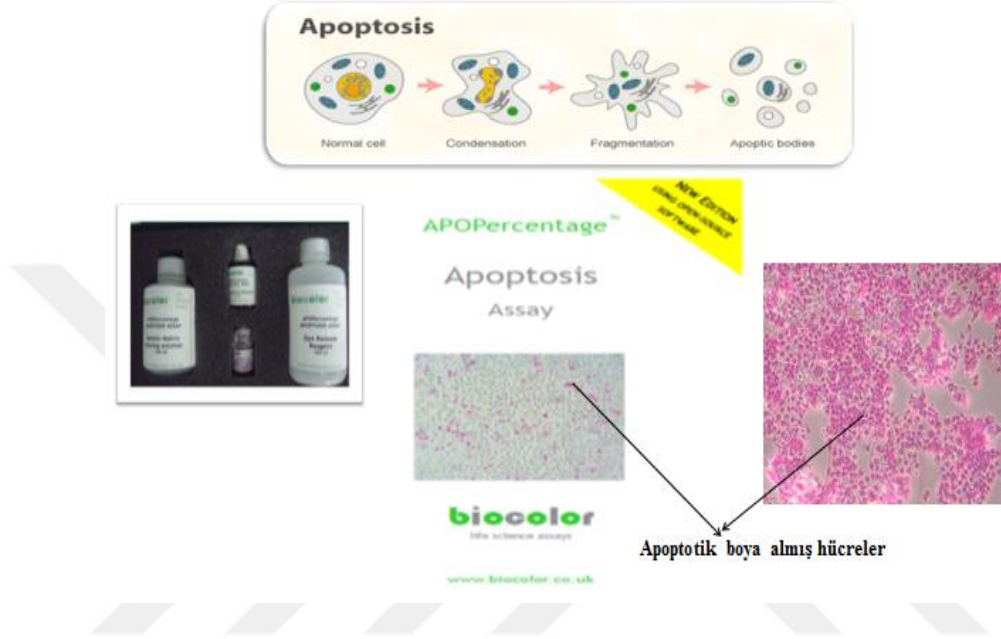


Resim 17. MTT ve apoptoz denemelerinin plaklarının okunduğu mikroplak okuyucu

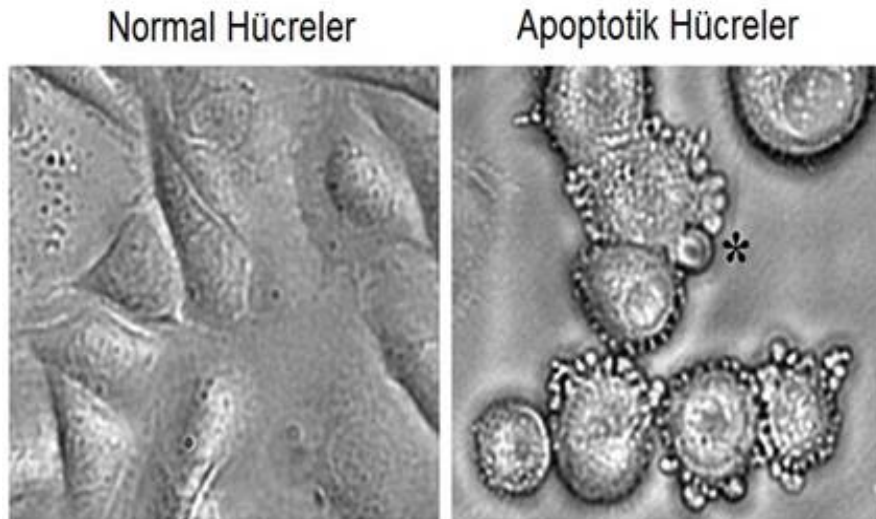
3.3.6. Hücrelerde Apoptozun Saptanması

PC3 hücrelerinde apoptoz "Biolor Apo Percentage" ticari apoptoz kiti ile saptandı (Resim 18). Bu yöntemde reaktifler içindeki boya apoptoza uğrayan hücreler tarafından alınmakta ve hücrelerde pembe-mor bir renk oluşmaktadır. 96 kuyucukluğu plağa PC3 hücreleri her kuyucukta 30.000 hücre olacak şekilde 200 µl büyüme medyumunu (GM) içinde ekildi. Hücrelerin kuyucuklarda büyümesi için (\cong 80-90) 37 °C, % 5 CO₂ enkübatörde 24 saat bekletildi. Daha sonra enkübasyon medyumunu çıkartılarak hücrelere birer damla DPBS damlatıldı. Daha sonra kuyucuklardaki DPBS aspire edildi ve kontrol olarak bir kısım kuyucuklara GM diğer kuyucuklara ise % 100 kök hücre ortam medyumunu kondu. Hücreler

72 saat boyunca enkübe edildi. Her bir kuyucuk için enkübasyon sonunda 100 µl serum içermeyen medyum içinde 5 µL apoptotik boya olacak şekilde boya eklendi. 30 dakika enkübasyondan sonra boya aspire edilerek kuyucuklar DPBS ile yıkandı ve invert mikroskopta en az 3 saha olmak üzere her bir kuyucuktan resim çekildi (Resim 19). 3 kez tekrarlanarak toplam 6 kuyucuk çalışılmıştır.



Resim 18. Apoptoz ve pembe-mor renk boya almış hücreler



Resim 19. Normal canlı ve apoptotik hücrelerin görüntüsü

3.3.7. Hücrelerde Migrasyonun Saptanması

Hücrel migrasyon deneyi, Liang ve ark (2007) tarafından tanımlanan yonteme göre yapıldı. Migrasyon deneyinde hücreler ortalama 125.000 hücre olacak şekilde 6 kuyucuklu plak içine ekildi ve (\cong 80-90) 24 saat 37 °C, % 5 CO₂ enkübatörde bekletildi. Daha sonra enkübasyon medyumu çıkartılarak hücrelere birer damla DPBS damlatıldı. Hücreler 5 günlük ve 10 günlük ADMSC'ye maruz bırakıldı. Ortadan ikiye çizgi steril bir pipet ucu yardımı ile çekildi. Daha sonra CM ve %100 konsantrasyona sahip ADMSC ortam medyumu ile inkübasyon gerçekleştirildi. Hücrelerin migrasyonu yani birbirlerine yaklaşması resimlendirildi.

3.4. İstatiksel Analizler

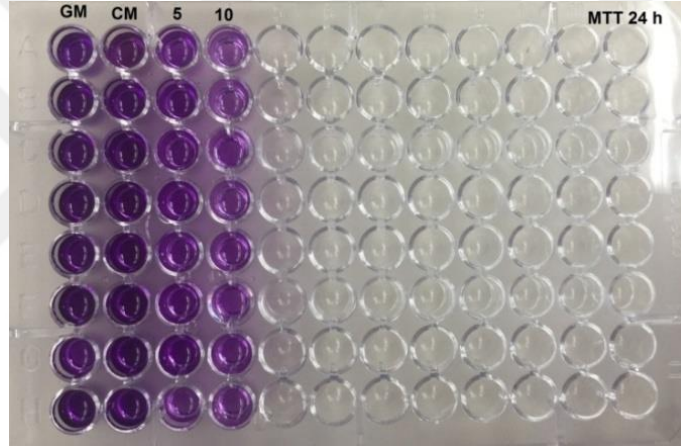
Verilerin istatistiksel analizleri IBM (International Business Machines)SPSS(Statistical Package for the Social) istatistik paket (versiyon 25) programı kullanılarak yapılmıştır. Sayısal verilerin her bir gruptaki dağılımını değerlendirmek için Shapiro Wilk's testi kullanılmıştır. Grupların homojenliğinin dağılımları Levene testi ile değerlendirilmiştir. Ayrıca, F değerlerini (dağılımın homojenizasyonunun göstergesi) veya Welch değerleri (dağılımın homojen olmamasının göstergesi) çoklu grupların karşılaştırılması için kullanılmıştır. Welch-Test için Dunnett T3 metodu kullanırken, ikili grupların karşılaştırılmasında F-Testi için Tukey HSD yöntemi kullanılmıştır. Tüm testler $\alpha=0.05$ değerine göre değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Hücre Canlılığı Sonuçları

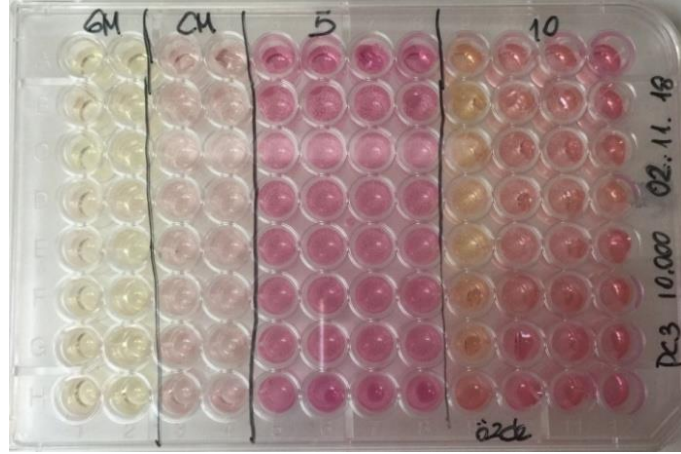
4.1.1. Adipoz Doku Kök Hücre Ortam Medyumu Uygulanan PC3 Prostat Karsinom Hücreleri Hücre Canlılığı Sonuçları

PC3 prostat karsinom hücrelerinin farklı zamanlarda adipoz doku kök hücre ortam medyumu ile muamele edilmesinden sonra uygulanan MTT testi sonrasındaki görünümü Resim 20’de verilmektedir.



Resim 20. PC3 prostat karsinom hücrelerinin adipoz doku kök hücre ortam medyumu ile inkübasyonundan sonraki MTT sonuçları

PC3 prostat karsinom hücrelerinin adipoz doku kök hücre ortam medyumu ile ekstübasyonu sonrasındaki MTT sonuçları Resim 21’de verilmiştir. Deney sonuçlarından adipoz doku kök hücre ortam medyumunun PC3 prostat karsinom hücreleri üzerinde tedavi edici etkiye sahip oldukları gözlenmiştir. Kontrol grubunda yer alan ve büyüme medyumu ile muamele edilen (GM ve CM) hücrelerin çoğunun canlı kaldığı; MTT deneyi sonucunda ortamda koyu renk olması ile de anlaşılmaktadır.



Resim 21. Hücreler ekildikten 24 saat sonra GM, CM ve kök hücre CM'lerinin koyulmuş hali

Tablo 3. MTT sonuçları (24. saat)

Gruplar	24. saat (ortalama değer ± SD)
GM	1,57063±0,286
CM	1,51500±0,310
5. Gün	0,66031±0,095 ^a
10. Gün	0,56463±0,064 ^b

GM: Growth Medyum

CM: Control Medyum

MTT: [(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)

SD: Standart Sapma

$P^a=0.000$ GM, CM ile kıyaslandığında

$p^b=0.000$ GM, CM ile kıyaslandığında

$P^a=0.015$ b ile kıyaslandığında

$p^b=0.015$ a ile kıyaslandığında

$P^{GM}=0.995$ CM ile kıyaslandığında

Tablo 3'e göre PC3 prostat karsinom hücrelerde kontrol olarak kullanılan GM ve CM arasında 24. saatte anlamlı bir fark olmadığı ($p=0,995$; $p>0,05$) ve bu gruplarda hücre canlılığının yüksek olduğu görülmüştür. 24. saatte değerlendirilen 5 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre medyumları ile 10 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre medyumlarında PC3 prostat karsinom hücre canlılıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. 10 gün inkübe edilen adipoz kök hücre medyumlarındaki PC3 prostat karsinom hücre canlılığı, 5 gün ekilen adipoz doku kök hücre medyumlarındaki PC3 prostat

karsinom hücre canlılığından daha düşük ve bu farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p=0,015$; $p<0,05$).

Tablo 4. MTT sonuçları (48. saat)

Gruplar	48. saat (ortalama değer \pm SD)
GM	1,90800 \pm 0,161
CM	1,86044 \pm 0,370
5. Gün	0,76431 \pm 0,135 ^a
10. Gün	0,26169 \pm 0,072 ^b

GM: Growth Medyum

CM: Control Medyum

MTT: [(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)

SD: Standart Sapma

$P^a=0,000$ GM, CM, b ile kıyaslandığında

$p^b=0,000$ GM, CM, a ile kıyaslandığında

$p^{GM}=0,997$ CM ile kıyaslandığında

Tablo 4'e göre PC3 prostat karsinom hücrelerde kontrol olarak kullanılan GM ve CM arasında 48. saatte anlamlı bir fark olmadığı ($p=0,997$; $p>0,05$) ve bu gruplarda hücre canlılığının yüksek olduğu görülmüştür. 48. saatte değerlendirilen 5 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre medyumları ile 10 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre medyumlarında PC3 prostat karsinom hücre canlılığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. 10 gün inkübe edilen adipoz kök hücre medyumlarındaki PC3 prostat karsinom hücre canlılığı, 5 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre medyumlarındaki PC3 prostat karsinom hücre canlılığından daha düşük ve bu farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p=0,000$; $p<0,05$).

Tablo 5. MTT sonuçları (72. saat)

Gruplar	72. saat (ortalama değer \pm SD)
GM	1,89700 \pm 0,131
CM	1,82469 \pm 0,233
5. Gün	0,69175 \pm 0,103 ^a
10. Gün	0,11325 \pm 0,021 ^b

GM: Growth Medyum

CM: Control Medyum

MTT: [(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)

SD: Standart Sapma

$P^a=0.000$ GM, CM, b ile kıyaslandığında

$p^b=0.000$ GM, CM, a ile kıyaslandığında

$p^{GM}=0.855$ CM ile kıyaslandığında

Tablo 5'e göre PC3 prostat karsinom hücrelerde kontrol olarak kullanılan GM ve CM arasında 72. saatte anlamlı bir fark olmadığı ve bu gruplarda hücre canlılığının yüksek olduğu görülmüştür. 72. saatte değerlendirilen 5 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre medyumları ile 10 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre medyumlarında PC3 prostat karsinom hücre canlılığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. 10 gün inkübe edilen adipoz kök hücre medyumlarındaki PC3 prostat karsinom hücre canlılığı, 5 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre medyumlarındaki PC3 prostat karsinom hücre canlılığından daha düşük ve bu farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

Tablo 6. MTT sonuçları (24., 48., 72. saat)

Grup (n=16)	24 h	48 h	72 h
GM	1.571 ± 0.286 ^a	1.908 ± 0.161 ^e	1.897 ± 0.131 ⁱ
CM	1.515 ± 0.311 ^b	1.86 ± 0.37 ^f	1.825 ± 0.233 ^j
5. gün CM	0.66 ± 0.095 ^c	0.764 ± 0.134 ^g	0.691 ± 0.103 ^k
10. gün CM	0.564 ± 0.064 ^d	0.261 ± 0.072 ^h	0.113 ± 0.197 ^l

^a $p<0.0001$ c ve d ile karşılaştırıldığında

^b $p<0.0001$ c ve d ile karşılaştırıldığında

^c $p<0.05$ d ile karşılaştırıldığında

^e $p<0.0001$ g ve h ile karşılaştırıldığında

^f $p<0.0001$ g ve h ile karşılaştırıldığında

^g $p<0.0001$ h ile karşılaştırıldığında

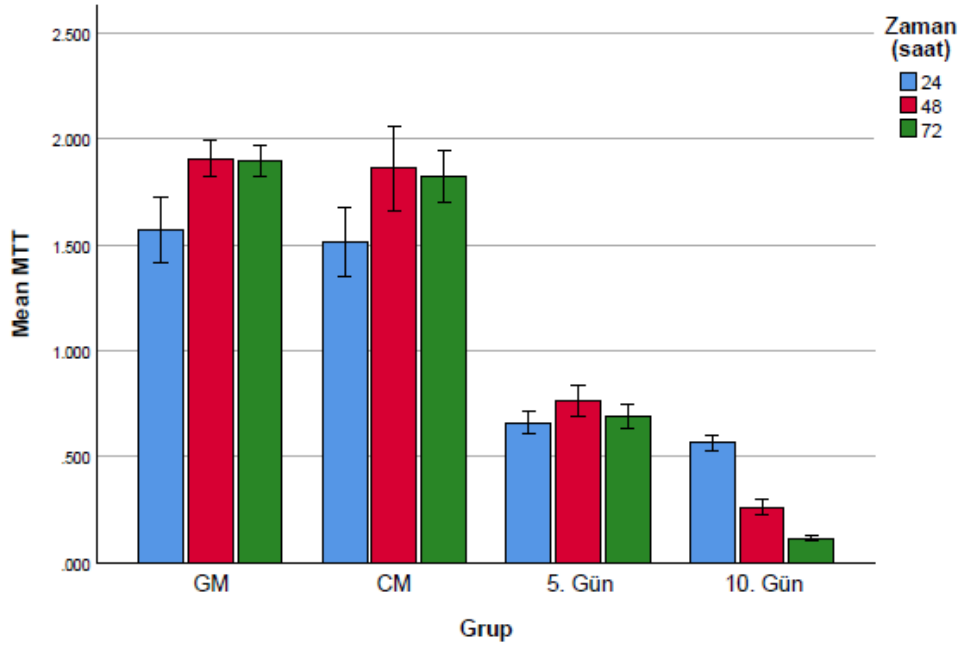
ⁱ $p<0.0001$ k ve l ile karşılaştırıldığında

^j $p<0.0001$ k ve l ile karşılaştırıldığında

^k $p<0.0001$ h ile karşılaştırıldığında

Tablo 6'ye göre PC3 hücrelerde kontrol olarak kullanılan GM ve CM hücrelerinde 24., 48. ve 72. saat değerlendirmesinde hücrelerde anlamlı bir fark olmadığı ve bu gruplarda hücre canlılıklarının yüksek olduğu görülmüştür. 5 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre medyumlarının 24., 48. ve 72. saatlerdeki değerlendirmelerinde en düşük PC3 prostat karsinom hücre canlılığı oranlarının 24. saatte olduğu; en yüksek PC3 prostat karsinom hücre canlılığı oranlarının 48. saate olduğu, istatistiksel olarak 48 ile 72. saat arasında

anlamli bir farklılığın olmadığı, bununla birlikte 24 saat ile 48 ve 72. saatler arasında anlamli fark olduğu belirlendi ($p<0.05$). 10 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre medyumlarının 24., 48. ve 72. saatlerdeki değerlendirmelerinde en düşük PC3 prostat karsinom hücre canlılığı ortalamalarının 72. saatte olduğu; en yüksek PC3 prostat karsinom hücre canlılığı oranlarının 24. saatte olduğu, istatistiksel olarak 24 saat ile 48 ve 72. saatler arasında anlamli fark olduğu belirlendi ($p<0.0001$; $p<0.05$) (Resim 22).



şekil 7. MTT sonuçlarının 24., 48., 72. saatlerdeki grafiksel gösterimi

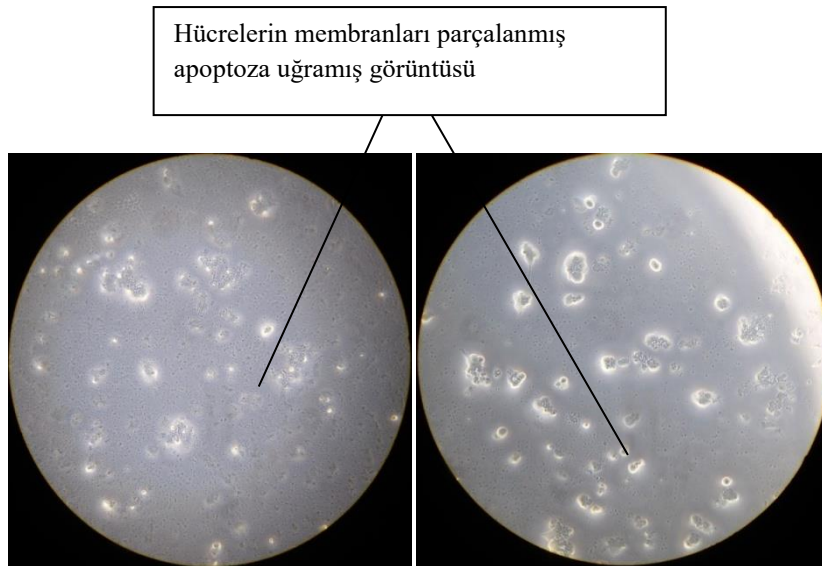
şekil 7’de 5 gün ve 10 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre medyumlarının 24., 48., ve 72. saatlerdeki PC3 prostat karsinom hücrelerinin MTT deneyi sonuçları ile hücre canlılıkları oranları gösterilmiştir. En düşük PC3 prostat karsinom hücre canlılığı oranlarının, 10 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre medyumlarının PC3 prostat karsinom hücreleri ile muamelesi sonrası 72. saatteki MTT testinde görüldüğü belirlendi.



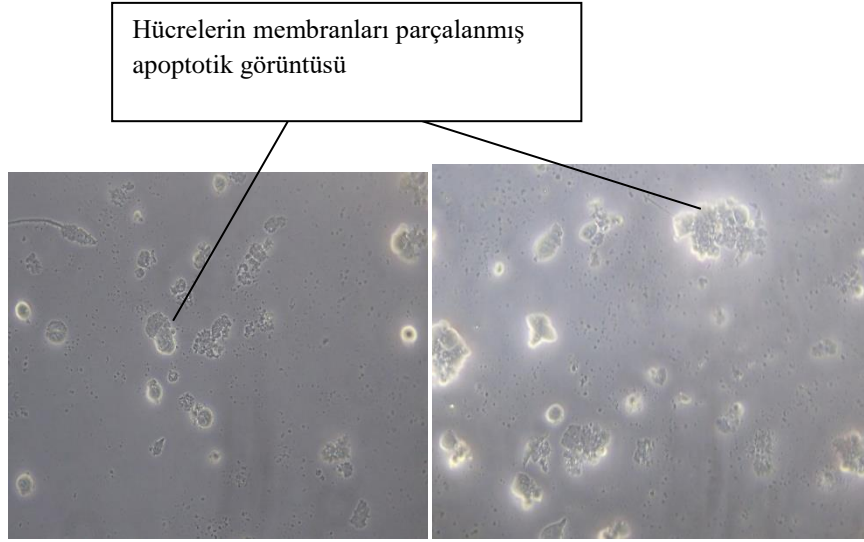
Resim 22. 72 saat sonra CM (kontrol medyumunda, DMEM + % 1 FBS) hücrelerin görüntüsü

4.2. Hücrelerde Apoptoz Analizinin Sonuçları

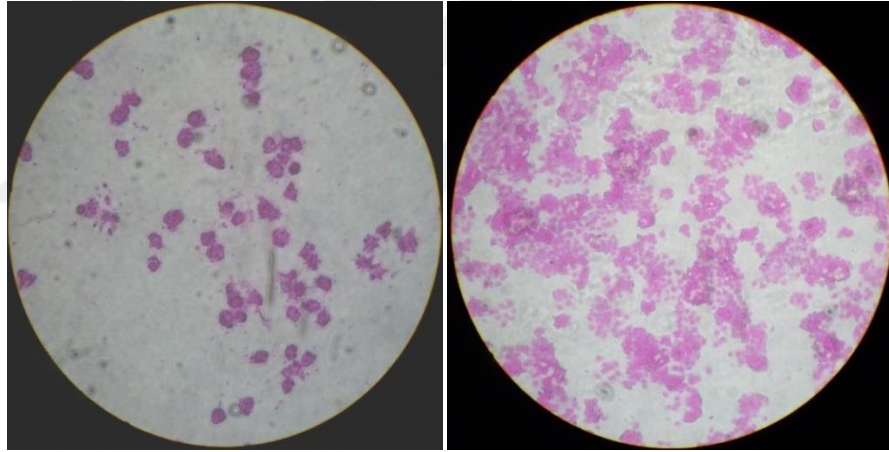
PC3 prostat karsinom hücrelerinde apoptozun saptanması için Biocolor ApoPercentage kit kullanılmıştır. Apoptoza uğrayan hücreler bu metotta boyayı almakta ve pembe-mor bir renk oluşmaktadır. 5 ve 10 günlük adipoz doku kök hücreleri ile muamele edilen PC3 hücrelerinde apoptoza uğrayan hücreler resim 23'te görülmektedir.



Resim 23. 5 ve 10 günlük kök hücre CM ile muamele edilen PC3 hücrelerinin 72 saat sonraki görünümü (x4) Hücreler apoptoza uğramıştır

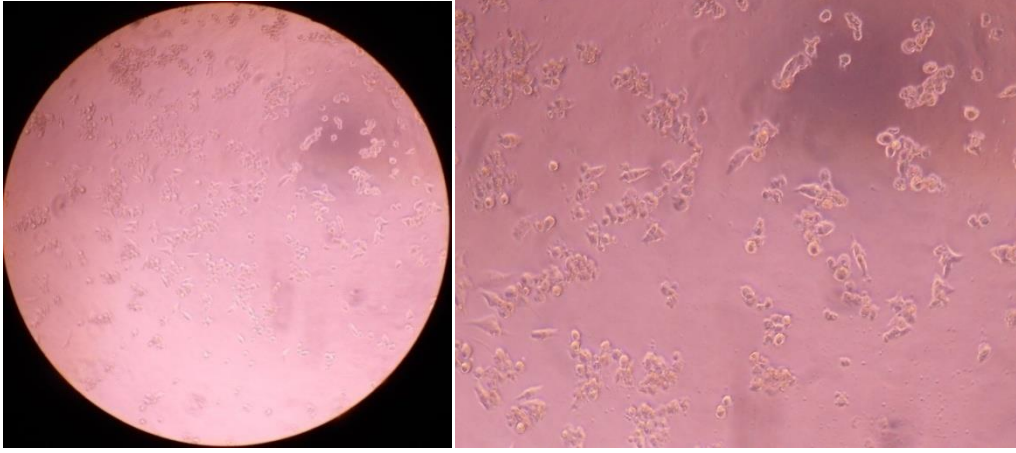


Resim 24. 10 günlük kök hücre CM ile muamele edilen PC3 hücresinin 72 saat sonraki görünümü (x10) Hücreler apoptoza uğramıştır

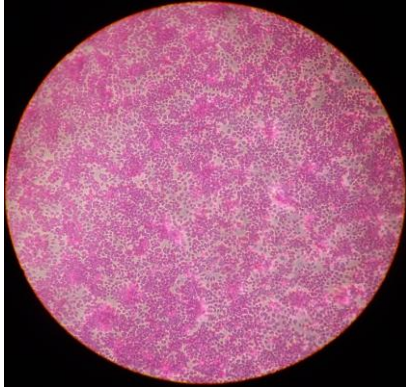


(A) (B)

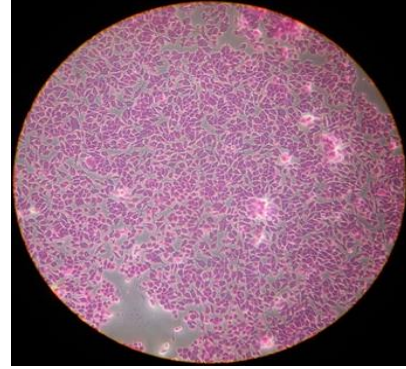
Resim 25. (A) x10'lük büyütmede invert mikroskopta; (B) x4'lük büyütmede apoptotik hücreler görülmektedir



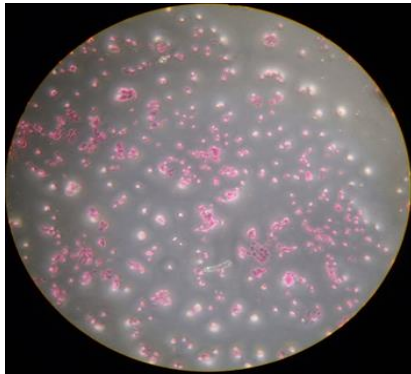
Resim 26. x4'lük büyütmede invert mikroskopta apoptoza uğramış hücreler görülmektedir (72 h) (boya çözeltisi eklendiğinde)



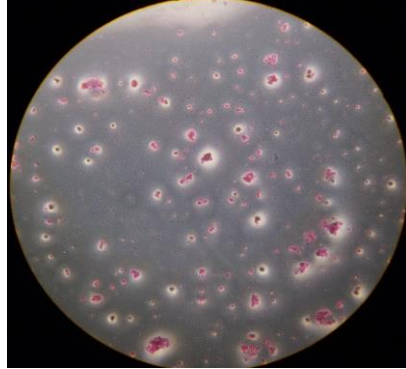
5.gün kök hücre CM (24 h)



10.gün kök hücre CM (24 h)



5.gün kök hücre CM (72 h)



10.gün kök hücre CM (72 h)

Resim 27. 5 ve 10 günlük kök hücre CM ile muamele edilen PC3 hücresinin 24 saat ve 72 saat sonraki görünüşleri

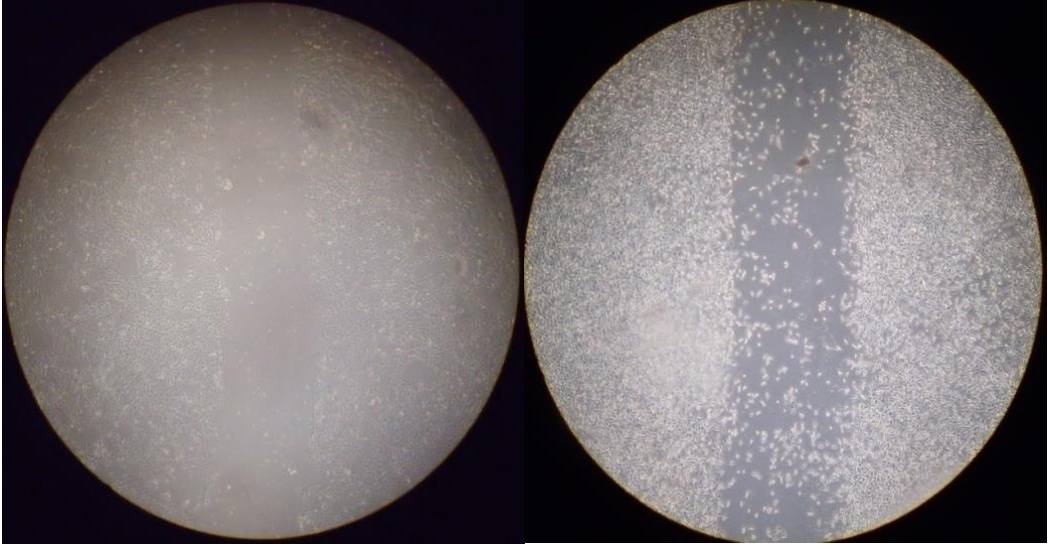
Hücrelerde apoptoz analizinin sonuçlarına göre apoptoza uğrayan hücrelerin görüntüleri Resim 23, 24, 25, 26 ve 27'de gösterilmektedir. 5 gün ve 10 gün inkübe edilen

adipoz doku kök hücre medyumlarının 24., 48. ve 72. saatlerdeki PC3 prostat karsinom hücrelerinin apoptoz analiz sonuçlarına göre en yüksek PC3 prostat karsinom hücre apoptoz oranlarının, 10 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre medyumlarının PC3 prostat karsinom hücreleri ile muamelesi sonrası 72. saatteki apoptoz analizinde görüldüğü belirlendi.

4.3. Hücrelerde Migrasyon Analizinin Sonuçları

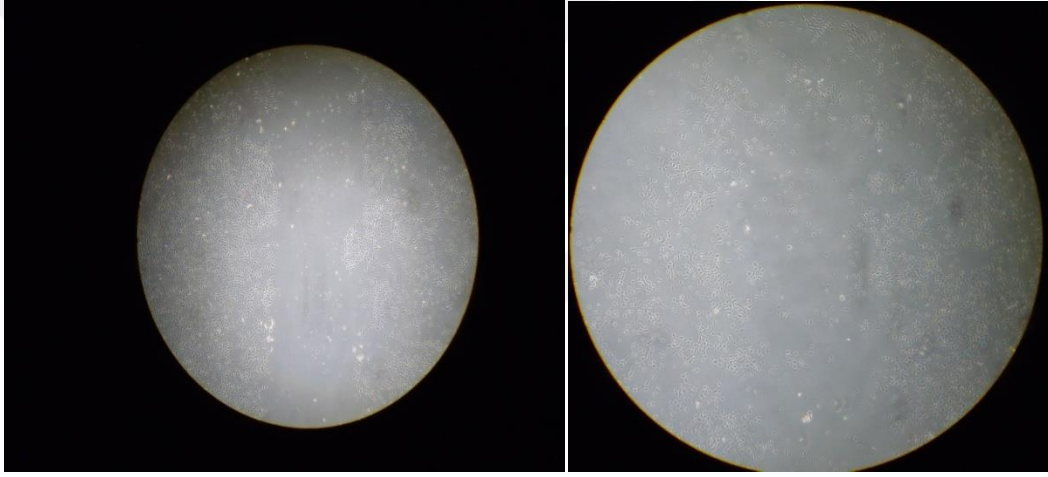
Migrasyon çalışmalarının amacı, herhangi bir inhibitör veya aktivatör varlığında hücrelerin göç etme düzeylerini izlemektir. Anjiogenezde hücrelerin proliferasyonu, migrasyonu (bazal membranı parçalaması), invazyonu ve tüp yapılarının oluşması olmak üzere dört basamak olmaktadır.

Migrasyon analizi sonucu elde edilen görüntüler insan adipoz doku kök hücre (ADMSC) ortam medyumunun PC3 prostat karsinom hücreleri üzerinde hücreler migrasyonunu azaltma yeteneği olduğunu göstermiştir. Resim 28’de kontrol GM hücreleri 0. ve 24. saat karşılaştırıldığında 24. saatte hücreler migrasyonunun azaldığı; 5 gün ve 10 gün inkübe edilen adipoz doku kök hücre ortam medyumunu ile muamelesi sonrasında 24. saatte PC3 prostat karsinom hücrelerin migrasyona uğradığı ve çizimin önemli ölçüde açıldığı gösterilmiştir.



Kontrol (GM) sıfırıncı saat

Kontrol (GM) 24. Saat



5. gün kök hücre CM 24. Saat

10. gün kök hücre CM 24. saat

Resim 28. Adipoz doku kök hücre (ADMSC) ortam medyumunun PC3 hücreleri üzerinde hücresel migrasyonu

5. TARTIŞMA

Prostat kanseri, batı ülkelerinde en sık tanı konulan kötü huylu tümörlerden birisidir ve erkeklerde ikinci önde gelen ölüm nedenidir. Prostat kanserinde temel klinik problem, hormona duyarlı kanserlerin endokrin tedavisi ile tedaviden sonra hormon duyarsız bir hastalığa dönüşmesidir. Erken evrede saptanan prostat kanseri radikal prostatektomi ve radyoterapi ile başarılı bir şekilde yok edilebilse de, metastatik evreye geldiğinde tedavisi mümkün değildir (Rolfo ve ark, 2014). Aslında, daha etkili tedavilerin geliştirilmesi, dünya çapında bir öncelik olarak görülmektedir.

Kök hücreler, farklılaşmadan kendilerini uzun yıllar yenileyebilmeleri ve fizyolojik veya doğal şartlarda istenilen hücreye farklılaşabilmeleri ile diğer hücrelerden farklıdırlar. Kök hücre çalışmalarında iki tip hücre kullanılmaktadır. Bunlardan birincisi embriyolardan izole edilen kök hücrelerdir. Bu hücreler için *in vitro* fertilizasyon çalışmalarına ihtiyaç duyulmamakta, sahipleri tarafından bağışlanmaktadır. İkinci tip ise hem fetal hem de yetişkin dokudan izole edilebilen mezenkimal kök hücrelerdir. Bu iki kök hücre dışında son zamanlarda somatik hücrelerden uyarılmış pluripotent kök hücreler de hücre çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır (Al-Daccak ve Charron, 2015).

Mezenkimal kök hücreler mezodermden köken alırlar ve yüksek farklılaşma kabiliyetine sahip multipotent kök hücrelerdir. MKH'ler ilk kez 1960'larda erişkin kemik iliğinden izole edilmiş olup fibroblast benzeri hücreler olarak tanımlanmışlardır. 1991'de Caplan tarafından farklılaşma özelliklerine dayanarak MKH olarak adlandırılmışlardır (Caplan, 1991; Timaner, 2019). MKH'ler bazı kültür koşullarında *in vitro* endodermal (epitel) ve ektodermal (nöronal) hücrelere farklılaşabilmekte olup, uygun koşullarda osteoblastlar, kondroblastlar, miyositler ve adipositler gibi farklı hücrelere dönüşebilirler ve buldukları dokunun onarımı ve yenilenmesinde görev alırlar (Karakaya, 2013). MKH'lerin ana kaynağı kemik iliği olup, kemik iliğinde MKH'ler farklılaşmanın yanısıra hematopoetik kök hücreleri destekleyerek hematopoezisi teşvik eder. MKH'ler rutin liposuction prosedürlerini takiben yağ dokusundan izole edilebilir. Bu MKH'ler adipoz hücrelere dönüşerek bağışıklık sistemini desteklemektedir. Bu iki ana MKH kaynağına ek olarak, dolaşımdaki MKH'ler periferik kandan, göbek kordonundan, plasentadan, akciğerlerden, kas ve kemiklerden etkin bir şekilde izole edilebilir. MKH'ler bu organların her birinde çeşitli olgunlaşmış mezenkimal hücre soylarına yol açarak inflamasyonu kontrol

eden ve doku onarımını destekleyen roller oynar (Timaner, 2019). Böylece birçok organ ve dokunun homeostatik dengesinin korunmasına yardım eder. Buldukları dokudan ayrılıp hasarlı olan dokulara geçerek dokunun onarımını yaparlar (Nardi ve da Silva, 2006).

MKH'ler immün baskılayıcı özelliklerinden dolayı transplantasyon sonrası kullanılmakta olsa da en yaygın kullanıldıkları alan kalp damar hastalıklarıdır. Miyokard infarktüsü sonrası MKH'lerin hasarlı bölgeye verilmesi, bölgede iyileşme ve hücre yenilenmesi olduğu görülmüştür (Parekkadan ve Milwid, 2010). Kanser tedavisinde de son yıllarda kullanılmaya başlayan MKH'ler özellikle kemoterapi sonrası dönemde kullanıldığında kemoterapinin yan etkilerini azalttığı gösterilmiştir (Galderisi ve ark, 2010).

Mezenkimal kök hücrelerin rejeneratif aktiviteleri ile birçok çalışmada koruyucu ve tedavi edici özelliği gösterilmiş olsa da insan malignitelerinin büyümesi ve metastazasyonu üzerine etkileri tartışmalıdır (Ohlsson ve ark, 2003; Studeny ve ark, 2004; Fierro ve ark, 2004; Zhu ve ark, 2009). MKH'lerin kanserli hücreleri baskılayıp çoğalmalarını durdurduğu bilinirken son yıllardaki çalışmalarda kanser oluşumunu tetiklediği, kitleyi büyüttüğü, yeni damarların oluşumunu hızlandırdığı ve dolayısıyla kanserin yayılımını tetiklediği gösterilmiştir (Torsvik ve Bjerkgvig, 2013; Trounson ve McDonald, 2015). MKH'ler ile kanser hücreleri arasında MKH'lerden salınan sitokinler aracılığıyla iletişim sağlandığı ve tümör hücrelerinin büyüme ve metastazlarını desteklemek için MKH'leri aldıkları düşünülmektedir (Jotzu ve ark, 2010). Kaposi sarkomu, kolorektal kanser, pankreas kanseri, glioma, meme ve melanom metastazları, mide, cilt ve over kanserleri gibi çeşitli kanser tiplerinde yayılmış MKH'ler gösterilmiştir (Timaner, 2019). MKH'lerin tümörlere yerleşmesinin kesin mekanizmaları hala bilinmemekle birlikte yapılan çalışmalardan bazıları, potansiyel olarak MKH'lerin immünomodülatör ve pro-anjiyogenik özellikleri ile tümör büyümesini ve gelişimini arttırdığını gösterirken, diğerleri ise tümör büyümesinin inhibisyonunu ve uzun sağkalımı göstermiştir (Karnoub ve ark, 2007; Lu ve ark, 2008; Yu ve ark, 2008). Örneğin, MKH'lerin, kanser hücrelerinin apoptozisini indükleyerek, *in vitro* ve *in vivo* olarak tümör hücresi büyümesi üzerinde potansiyel inhibe edici etkileri olduğu tarif edilmiştir (Lu ve ark, 2008). MKH'nin hepatoselüler karsinoma (HCC) (Livraghi ve ark, 2005; Li ve ark, 2010) metastazını ve meme kanseri hücre çoğalmasını (Qiao ve ark, 2008) engelleyebildiği gösterilmiştir. MKH'ler, yüksek derecede inflamatuvar bir anjiyogenik tümör olan Kaposi sarkomu (KS) modelinde güçlü antitümör etkileri sergilemiştir (Khakoo ve ark, 2006). Prostat kanseri, hem moleküler hem de klinik açıdan heterojen bir hastalıktır. Bu nedenle kanser hücreleri aynı dokuda yer alsalar da farklı çoğalma yetenekleri ile farklı metastaz özelliklerine sahip olabilirler. Bunun yanında farklı

bireylerde farklı yayılım gösterip uygulanan tedaviye farklı yanıtlar verebilirler (Erden, 2014).

Kök hücre biyolojisi alanındaki son çalışmalar, somatik kök hücrelerin, yani kemik iliği ve adipoz stromal progenitör hücreleri gibi mezenkimal kök hücrelerin rejeneratif tıp için terapötik uygulamalara sahip olabileceğini göstermektedir. MKH'ler kültürde çoklu geçiş potansiyeli ve çeşitli hücre tiplerine farklılaşma potansiyeline sahip olduklarından, doku rejenerasyonu için umut vaat etmektedirler. Uygun kültür koşullarında endotelyal, myosit ve nöral hücrelere farklılaşabilmektedirler. Yağdan türetilmiş stromal hücrelerin (ADMSC'ler) kemik iliği MKH'leri ile bir takım özellikleri paylaşmasına rağmen, ADMSC'ler ve kemik iliği MKH'leri arasındaki bazı farklılıklar malign hastalıklarla ilgili olarak özellikle bildirilmiştir (Takahara ve ark, 2014). Bazı çalışmalar, ADMSC'lerin glioma hücrelerinin (Yu ve ark, 2008) ve hem meme kanserinin (Muehlberg ve ark, 2009) hem de prostat kanserinin (Prantl ve ark, 2010) çoğalması üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu bildirirken, bazı çalışmalarda ADMSC'lerle ortak kültürün, pankreas kanseri hücrelerinin proliferasyonu üzerinde baskılayıcı etkisi olduğu bildirilmiştir (Cousin ve ark, 2009). Bu nedenle, ADMSC'lerin tümör hücresi proliferasyonu üzerindeki etkisi hala tartışmalıdır. Çalışmamızda ADMSC ortam medyumunun PC3 prostat karsinom hücrelerinde proliferasyonuna ve migrasyonuna etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, ADMSC ortam medyumunun migrasyon ve apoptoz üzerine etkileri incelenmiştir.

Yapılan çalışmalarda, çoğalma ve farklılaşma yeteneği içeren mezodermal kök hücrelerin en fazla insan plesantasından elde edilen koryon kaynaklı kök hücreler olduğu bildirilmiştir (Kmiecik ve ark, 2013). Rolfo ve ark (2014), insan amniyotik türevli kök hücrelerin (hAMSC) insan prostat kanseri hücrelerinin büyümesini engelleyen faktörler içerip içermediğini tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında; hAMSC koşullu ortamın prostat kanseri hücre proliferasyonunu inhibe ederken, normal insan prostat hücre hatlarında çok az inhibe edici etkisi olduğunu göstermişlerdir. ADMSC ortam medyumunun PC3 prostat karsinom hücreleri üzerinde etkisini incelediğimiz bizim çalışmamızda adipoz doku kaynaklı kök hücreler kullanılmış olup ADMSC'de kültüre edilen PC3 hücrelerinin hücre canlılıklarının normal ortam medyumları ile kıyaslandığında önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur.

Rolfo ve ark (2014), yaptıkları çalışmalarında hAMSC tarafından üretilen çözünür sinyallerin kanser hücresi proliferasyonunu etkilediğini göstermişlerdir. hAMSC hücreleri hem LNCaP hem de PC3 prostat kanser hücrelerinin proliferasyonunu 24-72. saatlerdeki DMEM ve RPMI medyumları ile karşılaştırıldığında inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Hem

MTT hem de doğrudan hücre sayımı teknikleri ile elde ettikleri sonuçlara göre özellikle hAMSC'lerin 3. gününde 24. saate göre belirgin bir şekilde proliferasyonu inhibe ettiğini gözlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da en güçlü proliferasyon inhibasyonu etkisinin 72. saatte olduğu belirlenmiştir.

Rolfo ve ark (2014) çalışmalarında aynı zamanda hAMSC CM'nin LNCaP ve PC3 hücre döngüsü süreci üzerindeki etkisini de test etmişlerdir. hAMSC ile muamele edilen hücreler ve koşulsuz DMEM hücreleri FACS analizi için PI ile boyanmıştır. PI, DNA'ya bağlanmakta ve hücre döngüsünün her fazındaki hücrelerin yüzdesini tespit etmektedir. Çalışmalarının sonucunda PC3 hücre sayılarının S fazında azaldığını gözlemişlerdir. Bizim çalışmamızda hücre döngü süreçleri incelenmemiştir.

ADMSC'lerin parakrin fonksiyonları sayesinde birçok hastalığın tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (Kim ve ark, 2009). Yağ dokusundan elde edilen ADMSC'ler parakrin etkisi ile patolojik durumları iyileştirmekte ve proliferasyonu inhibe edip apoptoza neden olmaktadır. Nöroblastoma tümör hücrelerine karşı ADMSC'lerin apoptoz etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, tümör hücrelerinden salgılanan bir takım aracı moleküller aracılığıyla kök hücrelerin tümör hücrelerine yönlendiği ve MKH'lerin bir takım genlerle tümör hücrelerini öldürücü etkide bulunduğu bildirilmiştir. Çalışmada, Tümör Nekroz Faktör İlişkili Apoptoz İndükleyici Ligand'ın hücre membranında bulunan reseptörüne bağlanması ile hücrenin apoptoza gitmesinin sağladığı ve bu etkiyi sadece kanser hücreleri üzerinde göstermesiyle tedavide umut verici olduğu bildirilmiştir (Cingöz, 2013). Çalışmamızda saptanan ADMSC ortam medyumunun PC3 prostat karsinom hücreleri üzerinde apoptozu arttırmasıyla prostat kanseri tedavisinde etkili olabileceğini desteklemektedir.

MKH'lerin tümör hücresi proliferasyonu üzerindeki etkisi, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar özellikleri arasındaki hassas dengeye bağlıdır (Rhee ve ark, 2015). Waterman ve ark. (2012) çalışmalarında tümörlerin içinde MKH'lerin bir antitümörijenik MKH-I durumundan protümörijenik bir MKH-II durumuna işlevsel bir değişime uğradıklarını öne sürmüşlerdir. Proinflamatuvar durumda, MKH'ler kanser hücrelerine inflamatuvar hücre infiltrasyonunu teşvik ederek tümör büyümesini inhibe etmekte, böylece kanser önleyici bağışıklığa neden olmaktadır (Ohlsson ve ark, 2003). Ek olarak, tümör hücresinin bölünmesine ve çoğalmasına katkıda bulunan temel moleküler sinyal yollarının parakrin inhibasyonu ile kanser hücresi proliferasyonunu hafifletmektedir. Ayrıca, proinflamatuvar MKH'ler kanser hücresi apoptozunu indükleyerek tümör anjiyogenezisini inhibe etmektedirler (Lu ve ark, 2008; Otsu ve ark, 2009; Timaner ve ark, 2019). Buna karşılık, antiinflamatuvar MKH'ler çoklu tümör destekleyici aktivitelere dahil olmaları ile

karakterize edilmektedirler. MKH'ler kendiliğinden büyüyen tümörlere, tümörün bozulmasına yanıt olarak geliştirilmiş bir etkiye sahiptir. Bu etki ile antitümör immün tepkisini baskılayabilmekte, metastaza yol açan bir epitelyal mezenkimal geçişi indükleyebilmekte, tümör anjiogenezisini uyarabilmekte ve tümör hücresi direncini tedaviye teşvik edebilmektedir (Ridge ve ark, 2017; Zhang ve ark, 2013). Tüm bu süreçlere ek olarak MKH'lerin metabolik durumlarını değiştirerek de tümör büyümesini desteklediği gösterilmiştir (Timaner ve ark, 2019). Çalışmalar MKH'lerin hem anti hem de protümörijenik rollerini göstermiş olsa da genel olarak MKH'lerin önde gelen mekanizmasının antitümörijenikten daha fazla protümörijenik olma eğiliminde olduğunu göstermiştir (Melzer ve ark, 2016; Norozi ve ark, 2016; Ridge ve ark, 2017; Timaner ve ark, 2019).

Takahara ve ark (2014) yaptıkları çalışmalarında adipoz doku kök hücrelerin (ADMSC) prostat kanseri hücreleri üzerindeki, anti-proliferatif ve pro-apoptotik etkilerini in-vitro olarak incelemişler ve ADMSC'lerin androjen bağımlılığı gözetilmeksizin (androjene duyarlı ve androjene cevap vermeyen) prostat kanseri hücrelerinin büyümelerini apoptoz yoluyla inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, ADMSC'lerin prostat kanseri hücresi üzerindeki inhibitör etkisinin, sadece hücreden hücreye temas koşulları altında değil, aynı zamanda hücreler ayrı ayrı olarak kültürlendiğinde de gözlendiğini bildirmişlerdir. Bu durumun, ADMSC'lerin prostat kanseri hücre proliferasyonunu/apoptozisini hem doğrudan hem de uzaktan düzenlediğini ileri sürmüşlerdir.

Tahakara ve ark (2014) çalışmalarında ADMSC'lerin PC3 hücreleri üzerindeki uzak / parakrin etkisi ile ilgili olarak, ADMSC'lere karşı cDNA mikrodizisi ile NHDF'lere karşı elde edilen veriler ile ekspresyonu 3 kattan daha fazla düzenlenmiş genleri seçmelerine olanak sağlamıştır. Bunlar, salgılanan sitokinler / ligandları ve proliferasyon / apoptozun düzenlenmesinde rol oynayan aday moleküller olarak transkripsiyon faktörlerini içermektedir. Onlar çalışmalarında ADMSC'lerde düzenlenmiş olan genler arasında, kilit sekretuar bir faktör olarak TGF-b1'e odaklanmışlardır. TGF-b ailesinin üyeleri, yara iyileşmesi ve patofizyolojik tepkiler gibi fizyolojik tepkileri düzenler ve ayrıca hücre göçü, hayatta kalma, proliferasyon ve farklılaşmanın düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (Massague, 2008; Takahara ve ark, 2014). Bu fonksiyonların yanı sıra, TGF-b1'in epitelyal, endotelyal, hematopoetik ve mezenkimal hücreler de dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde güçlü bir hücre döngüsü progresyon inhibitörü olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, TGF-b1'in kanser biyolojisindeki herhangi bir kesin rolü oldukça tartışmalıdır. Örneğin, TGF-b ailesinin çeşitli üyelerinin PC3 ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı

bulunmuştur (Adler ve ark, 1999). Gerçekten de, klinik araştırmalar, PC3 dokularında TGF-b1'in yukarı regülasyonunun ve TGF-b1'in yüksek idrar / serum seviyelerinin, artmış tümör anjiyojenezi ve tümör metastazı ile ilişkili olduğunu, bunun da zayıf bir klinik sonuçla sonuçlandığını göstermiştir (Weissert ve ark, 1997). TGF-b1'in PC3 ilerlemesi üzerinde doğrudan bir promosyon etkisi yoktur. Buna karşın, çok yeni bir çalışma TGF-b1'in Smad2 / 3 sinyalinin aktivasyonu ile androjene duyarlı (LNCaP) ve kastrasyona dirençli (C4-2) hücre büyümesini bastırđını göstermektedir. ADMSC'lerin PC3 hücreleri / tümörleri üzerindeki etkisi ile ilgili gözlenen bu tutarsızlıkların, endojen TGF-b1 üretiminde endojen TGF-b1 üretiminde ve TGF-b1 sinyalleşmesinde, tümörün çevresindeki stromadaki dolaylı etkilerinde muhtemelen muhtemel olduğu varsayılmaktadır. Takahara ve ark. ADMSC'lerin bir TGF-b1 donörü olarak kullanılabileceğini ve ADMSC transplantasyonunun, apoptoz yoluyla PC3 tümör büyümesini azaltmak için yeterli kapasiteye sahip olacağını önermektedir.

ADMSC'lerin tümör büyümesi üzerindeki dolaylı baskılayıcı etkisi için bir başka olası mekanizma, T lenfositlerin *in vivo* sitotoksik bir fenotipe dönüştürülmesine aracılık etmesi olabilir. Takahara ve ark. çalışmalarında CDNA mikroarray verileri; TNF süper ailesinin üyeleri, CD70 (TNFSF7) ve CD137'nin (TNFSF9) üyelerinin, ADMSC'lerde NHDF'lerden (sırasıyla 5.5 kat ve 4.6 kat) daha fazla regüle edildiğini gösterdiğini bildirmişlerdir. Böylece insan T hücre klonlarında sitotoksikite ve sitokin üretimi uyarılmaktadır. Ligand CD137 ve reseptörü (4-1BB), antijen sunum işleminde ve sitotoksik T hücrelerinin oluşumunda rol oynar (Gullo ve ark. 2010). Bu nedenle, nakledilen ADMSC türevli CD70 veya CD137 ile aktive edilen sitotoksik T hücreleri, PC3 hücrelerinin apoptoz yoluyla ilerlemesini engelleyebilir.

ADMSC'lerin PC3 hücre çoğalması üzerindeki inhibe edici etkisi için bir başka olası mekanizma, belki de PC3 hücreleri ile teması takiben hücre döngüsünün durmasını/apoptozunu uyarabilen ATF5 ve GADD45G gibi transkripsiyon faktörlerinin transferini içeren hücre teması olabilir. Yapılan bazı çalışmalar, ADMSC'lerin mitokondrilerinin kardiyomyositlere transfer edilebildiğini, bunun da hücre yeniden programlanmaya yol açtığını göstermiştir (Acquistapace ve ark, 2011).

İnvazyon ve metastaz kanser hücrelerinin başlıca özelliklerindedir. Birçok çalışma, sekonder metastatik lezyonların oluşumunda MKH'lerin kanser hücrelerine göçü ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. Bu etkiler MKH'ler tarafından salgılanan çok çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler ile sağlanmaktadır (Hill ve ark, 2017; Timaner ve ark, 2019).*In vivo* ve *in vitro* olarak yapılan prostat, kolorektal ve meme kanseri çalışmalarında

MKH'lerin tümör mikroçevresine alınmasında tümör ve inflamatuvar hücreler tarafından salgılanan maddeler ile migrasyona teşvik edildiği bildirilmiştir. MKH'ler kanser hücreleri tarafından alındıktan sonra tümör büyümesini inhibe etmektedir (Christodoulou ve ark, 2018).

Çoğu karsinomda olduğu gibi, çoğalma ve farklılaşma yeteneklerinde belirgin farklılıkları olan çeşitli hücre popülasyonlarını ve ayrıca transplantasyon sonrası tümörü yeniden oluşturmak için farklı kapasiteler içerir. Bu gözlemler, tümör hücrelerinin, kanser kök hücreleri (CSC) adlı bir varsayımsal progenitör alt kümesinden kaynaklanabileceği hipotezine yol açmaktadır (Guzman-Ramirez ve ark, 2009). CSC zaten izole edilmiş ve farklı insan malignitelerinden karakterize edilmiştir. Yetişkinlerde kök hücreler, sabit bir kök hücre havuzunun korunmasında ve böylece doku homeostazisinin sağlanmasında önemli bir rol oynayan fizyolojik olarak sınırlı ve özelleştirilmiş bir mikro-çevrede bulunur (Rolfo ve ark, 2014). Kanser kök hücrelerinin kontrolsüz proliferasyona uğrayan progenitör hücrelerdeki mutasyonlardan kaynaklanması mümkündür (Li ve Naaves, 2006). Kanser kök progenitörlerinin normal kök hücrelere benzer bir mikro ortamdan kaynaklanmasının yanı sıra dominant büyümeyi teşvik edici sinyallere doğru kaydığı da öne sürülmüştür. Rolfo ve ark (2014) çalışmalarında, kök hücrelerin, doku hiperplazisi ve / veya tümör oluşumunu kontrol etmek için parakrin / otokrin yolunda etki eden gizli faktörleri olduğunu düşündüklerini ve kanser kök hücrelerinin bu molekülleri kaybetmiş olabileceğini bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, ADMSC'ler herhangi bir etik kaygı duymadan kök hücre kaynağı olarak kolayca elde edilebildiğinden ve kültürde istenen hacme hızla genişletilebildiğinden, otolog ADMSC transplantasyonu PCa için yeni bir terapötik strateji olarak vaat ediyor gibi görünmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar;

1. Çalışmamızda PC3 hücrelerde kontrol olarak kullanılan GM ve CM hücrelerinde 24., 48. ve 72. saat değerlendirmesinde hücrelerin canlılıklarında anlamlı bir fark olmadığı ve bu gruplarda hücre canlılıklarının yüksek olduğu görülmüştür.

2. 5 gün inkübe edilen ADMSC ortam medyumlarının PC3 prostat kanseri hücresi ile muamelesi sonrası 24., 48. ve 72. saatlerdeki değerlendirmelerinde en düşük PC3 hücre canlılığı oranlarının 24. saatte olduğu; en yüksek PC3 hücre canlılığı oranlarının 48. saatte olduğu, istatistiksel olarak 48 ile 72. saat arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı, bununla birlikte 24 saat ile 48 ve 72. saatler arasında anlamlı fark olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

3. 10 gün inkübe edilen ADMSC ortam medyumlarının PC3 prostat kanseri hücresi ile muamelesi sonrası 24., 48. ve 72. saatlerdeki değerlendirmelerinde en düşük PC3 hücre canlılığı oranlarının 72. saatte olduğu; en yüksek PC3 hücre canlılığı oranlarının 24. saatte olduğu, istatistiksel olarak 24 saat ile 48 ve 72. saatler arasında anlamlı fark olduğu belirlenmiştir ($p<0.0001$; $p<0.05$).

4. Apoptoz analizinde en yüksek PC3 prostat karsinom hücre apoptoz oranlarının 10 gün inkübe edilen ADMSC ortam medyumlarının PC3 hücreleri ile teması sonrası 72. saatte gerçekleştiği görülmüştür.

5. ADMSC ortam medyumu içindeki faktörlerin, özellikle PC3 prostat karsinom hücrelerinde proliferasyonu inhibe ettiği ve apoptoza neden olduğu saptanmıştır.

KAYNAKLAR

Abate-Shen C, Shen MM. Molecular genetics of prostate cancer. *Genes and Development* 2000, 14(19), 2410-2434

Abdel Aziz MT, Atta HM, Mahfouz S, Fouad HH, Roshdy NK, Ahmed HH, Rashed LA, Sabry D, Hassouna AA, Hasan NM. Therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on experimental liver fibrosis. *Clinical Biochemistry* 2007, 40(12), 893-899.

Acar MB. Genç ve Senesent Mezenkimal Kök Hücre Sekretomlarının Kanser Hücre Hatlarına Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2015.

Acquistapace A, Bru T, Lesault PF, Figeac F, Coudert AE, le Coz O, Christov C, Baudin X, Auber F, Yiou R, Dubois-Randé JL, Rodriguez AM. Human mesenchymal stem cells reprogram adult cardiomyocytes toward a progenitor-like state through partial cell fusion and mitochondria transfer. *Stem Cells* 2011, 29, 812-824.

Adler HL, McCurdy MA, Kattan MW, Timme TL, Scardino PT, Thompson TC. Elevated levels of circulating interleukin-6 and transforming growth factor-beta 1 in patients with metastatic prostatic carcinoma. *Journal of Urology* 1999, 161, 182-187.

Al Daccak R, Charron D. Allogenic benefit in stem cell therapy: cardiac repair and regeneration. *Tissue antigens* 2015, 86(3), 155-162.

Balbay D. Prostat. Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2008, 199-208.

Baltacı S. Temel Üroloji. Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N (Eds), Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2007, 740-766.

Barry FP, Murphy JM. Mesenchymal Stem Cells: Clinical applications and biological characterization. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2004, 36, 568-584.

Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, Ferrer K, McIntosh K, Patil S, Hardy W, Devine S, Ucker D, Deans R, Moseley A, Hoffman R. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Experimental Hematology* 2002, 30(1), 42-48.

Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. The Evolving Concept of a Stem Cell: Entity or Function. *Cell* 2001,105(7), 829-841.

Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *Journal of Orthopaedic Research* 1991, 9(5), 641-650.

Christodoulou I, Goulielmaki M, Devetzi M, Panagiotidis M, Koliakos G. Mesenchymal stem cells in preclinical cancer cytotherapy: A systematic review. *Stem Cells Research and Therapy* 2018, 8, 1-38.

Cingöz A. Nöroblastoma Tümör Hücrelerine Karşı Adipoz Doku Kaynaklı İnsan Kök Hücrelerinin Apoptoz Etkinliğinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniveristesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2013.

Clarke MF, Fuller M. Stem cells and cancer: two faces of eve. *Cell* 2006, 124(6), 1111-1115.

Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, Maitland NJ. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Research* 2005, 65(23), 10946-10951.

Cousin B, Ravet E, Poglio S, De Toni F, Bertuzzi M, Lulka H, Touill, Andre M, Grolleau JL, Peron JM, Chavoïn JP, Bourin P, Penicaud L, Casteilla L, Buscail L, Cordelier P. Adult stromal cells derived from human adipose tissue provoke pancreatic cancer cell death both in vitro and in vivo. *PLoS One* 2009, 4, 62-78.

D'Ippolito G, Schiller PC, Ricordi C, Roos BA, Howard GA. Age-related osteogenic potential of mesenchymal stromal stem cells from human vertebral bone marrow. *Journal of Bone and Mineral Research* 1999, 14(7), 1115-1122.

Erden S. Kök hücreler ve klinikte kullanımları. *Journal of New Results in Engineering and Natural Science* 2014, 3, 1-8.

Eroğlu C. PC-3 ve LNCaP Prostat Kanseri Hücre Hatlarında Ferulik Asitin Etkisinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Denizli 2014.

Feldman BJ, Feldman D. The development of androgen-independent prostate cancer. *Nature Reviews of Cancers* 2001, 1, 34-45.

Fierro FA, Sierralta WD, Epanan MJ, Minguell JJ. Marrow-derived mesenchymal stem cells: role in epithelial tumor cell determination. *Clinical and Experimental Metastasis* 2004, 21, 313-319.

Francis MP, Sachs PC, Elmore LW, Holt SE. Isolating adipose-derived mesenchymal stem cells from lipoaspirate blood and saline fraction. *Organogenesis* 2010, 6(1), 11-14.

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

Fu M, Wang C, Reutens AT, Wang J, Angeletti RH, Siconolfi-Baez L, Ogryzko V, Avantiaggiati ML, Pestell RG. p300 and p300/cAMP-response element-binding protein-associated factor acetylate the androgen receptor at sites governing hormone-dependent transactivation. *The Journal of Biological Chemistry* 2000, 275(27), 20853-20860.

Galderisi U, Giordano A, Paggi MG. The bad and the good of mesenchymal stem cells in cancer: Boosters of tumor growth and vehicles for targeted delivery of anticancer agents. *World Journal of Stem Cells* 2010, 2(1), 5.

GulloC, KohLK, PangWL, HoKT, TanSH, SchwarzH. Inhibition of proliferation and induction of apoptosis in multiple myeloma cell lines by CD137 ligand signaling. *PLoS One* 2010, 5, 10845.

Guzman-Ramirez N, Voller M, Wetterwald A, Germann M, Cross NA, Rentsch CA, Schalken J, Thalmann GN, Cecchini MG. In vitro propagation and characterization of neoplastic stem/progenitor-like cells from human prostate cancer tissue. *Prostate* 2009, 69, 1683-1693.

Gün M. İnsan Embriyonu Kök Hücreleri Araştırmalarının Etik Boyutu: Türkiye İçin Bir Etik Düzenleme Önerisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2013.

Güneş AM. Kök hücre plastisitesi ve tıptaki kullanım alanları. *Güncel Pediatri* 2005, 3, 36-42.

Hammerich KH, Ayala GE, Wheeler TM. Anatomy of the prostate gland and surgical pathology of prostate cancer. In: Hricak H, Scardino P (eds), Prostate Cancer. Cambridge University Press, Cambridge, 2009, s 1-10.

Hill BS, Pelagalli A, Passaro N, Zannetti A. Tumor-educated mesenchymal stem cells promote pro-metastatic phenotype. *Oncotarget* 2017, 8(42), 73296-73311.

Holm S. Time to reconsider stem cell ethics the importance of induced pluripotent cells. *Journal of Medical Ethics* 2008, 34(2), 63-64.

İnan Y. Patoloji. Klinisyen Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2006.

Jiang X, Cui P, Chen W, Zhao D, Luo J, Li G, Sun A. Study on the directed inducing process of cartilage cells differentiated from human marrow mesenchymal stem cell. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi* 2002, 37(2), 137-139.

Jotzu C, Alt E, Welte G, Li J, Hennessy BT, Devarajan E, Song YH. Adipose tissue-derived stem cells differentiate into carcinoma-associated fibroblast-like cells under the influence of tumor-derived factors. *Analytical cellular pathology* 2010, 33(2), 61-79.

Kambhampati S, Ray G, Sengupta K, Reddy VP, Banerjee SK, Van Veldhuizen PJ. Growth factors involved in prostate carcinogenesis. *Frontiers in Bioscience* 2005, 10, 1355-1367.

Kansu E. Kök hücre biyolojisi ve plastisitesinde güncel kavramlar. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2005, 36, 191-197.

Kansu E. Kök hücreleri ve klonlama. *Avrasya Dosyası* 200, 3, 41-50.

Kapoor S, Patel SA, Kartan S, Axelrod D, Capitle E, Rameshwar P. Tolerance-like mediated suppression by mesenchymal stem cells in patients with dust mite allergy-induced asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2012, 129(4), 1094-1101.

Karakaya A. Kök Hücre Çalışmaları ve Etik Türkiye’de İnsan Embriyosundan Elde Edilen Kök Hücreler Üzerinde Yapılan Çalışmalarda Etik Sorunlar, Yüksek Lisans Tezi, Fatih Sultan Mehmet Vakıf Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, İstanbul 2013.

Karaöz E, Ovalı E. Kök Hücreler. Derya Kitabevi, Trabzon, 2004, 15-63.

Karnoub AE, Dash AB, Vo AP, Sullivan A, Brooks MW, Bell GW, Richardson AL, Polyak K, Tubo R, Weinberg RA. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. *Nature* 2007, 449, 557-563.

Kaur S, Kartha CC. Stem Cells Concepts and Prospects. In: N. Mukunda (Edt), Current Trends in Science Platinum Jubilee Special, Indian Academy of Science, Bangalore, 2009.

Khakoo AY, Pati S, Anderson SA, Reid W, Elshal MF, Rovira II, Nguyen AT, Malide D, Vombs CA, Hall G, Zhang J, Raffeld M, Rogers TB, Stetler-Stevenson W, Frank JA, Reitz M, Finkel T. Human mesenchymal stem cells exert potent antitumorigenic effects in a model of kaposi’s sarcoma. *Journal of Experimental Medicine* 2006, 203, 1235-1247.

Kim WS, Park BS, Sung JH. Protective role of adipose-derived stem cells and their soluble factors in photoaging. *Archives of Dermatological Research* 2009, 301(5), 329-336.

Kmiecik G, Niklinska W, Kuc P, Pancewicz-Wojtkiewicz J, Fil D, Karwowska A, Karczewski J, Mackiewicz Z. Fetal membranes as a source of stem cells. *Advances in Medical Sciences* 2013, 58, 185-195.

Koçak P. Development of The Poly (2-Ethyl-2-Oxazoline) (Petox) Based Multifunctional Carrier Systems for Treatment and Diagnosis of Prostate Cancer, Yüksek Lisans Tezi, Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2017.

Lensch MW, Mummery CL. From Stealing Fire to Cellular Reprogramming: A Scientific History Leading to the 2012 Nobel Prize. *Stem Cell Reports* 2013, 1(1), 5-17.

Li GC, Ye QH, Xue YH, Sun HJ, Zhou HJ, Ren N, Jia HL, Shi J, Wu JC, Dai C, Dong QZ, Qin LX. Human mesenchymal stem cells inhibit metastasis of a hepatocellular carcinoma model using the mhcc 97-h cell line. *Cancer Science* 2010, 101, 2546-2553.

Li H, Chen X, Calhoun-Davis T, Claypool K, Tang DG. PC3 human prostate carcinoma cell holoclones contain self-renewing tumor-initiating cells. *Cancer Research* 2008, 68(6), 1820-1825.

Li L, Neaves WB. Normal stem cells and cancer stem cells: the niche matters. *Cancer Research* 2006, 66, 4553-4557.

Livraghi T, Meloni F, Frosi A, Lazzaroni S, Bizzarri M, Frati L, Biava PM. Treatment with stem cell differentiation stage factors of intermediate-advanced hepatocellular carcinoma: an open randomized clinical trial. *Oncology Research Featuring Preclinical and Cancer Therapeutics* 2005, 15, 399-408.

Lodish H, Berk A, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, Bretscher A, Ploegh H. Moleküler Hücre Biyolojisi. Geçkil H, Özmen M, Yeşilada Ö (Eds). Palme Yayıncılık, Ankara, 2011, 1150.

Lu YR, Yuan Y, Wang XJ, WEI LL, Chen YN, Cong C, Li S, Long D, Tan W, Mao Y, Zhang J, Li Y, Cheng J. The growth inhibitory effect of mesenchymal stem cells on tumor cells in vitro and in vivo. *Cancer Biology and Therapy* 2008, 7, 245-251.

Massague J. TGF beta in cancer. *Cell*, 2008, 134, 215-230.

Melzer C, Yang Y, Hass R. Interaction of MSC with tumor cells. *Cell Commun Signal* 2016, 14(1), 20.

Moore KA, Ema H, Lemischka IR. In vitro maintenance of highly purified, transplantable hematopoietic stem cells. *Blood* 1997, 89, 4337-4447.

Muehlberg FL, Song YH, Krohn A, Pinilla SP, Droll LH, Leng X, Seidensticker M, Ricke J, Altman AM, Devarajan E, Liu W, Arlinghaus RB. Tissue-resident stem cells promote breast cancer growth and metastasis. *Carcinogenesis* 2009, 30, 589-597.

Nadig RR. Stem cell therapy - Hype or hope? A review. *Journal of Conservative Dentistry* 2009, 12(4), 131-138.

Nagaya N, Kangawa K, Itoh T, Iwase T, Murakami S, Miyahara Y, Fujii T, Uematsu M, Ohgushi H, Yamagishi M, Tokudome T, Mori H, Miyatake K, Kitamura S. Transplantation of mesenchymal stem cells improves cardiac function in a rat model of dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2005, 112(8), 1128-1135.

Nardi NB, da Silva Meirelles L. Mesenchymal stem cells: isolation, in vitro expansion and characterization. In: Wobus AM, Boheler K (eds), *Stem Cells, Handbook of Experimental Pharmacology*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2006, s 249-282.

Netter FH. Musculoskeletal system: A compilation of paintings. Anatomy, physiology and metabolic disorders. RT Woodburne, Crelin ES, Kaplan FS (Eds), Ciba-Geigy Corporation, New Jersey 1987, 134

Neuss S, Becher E, Wöltje M, Tietze L, Jahnen-Dechent W. Functional expression of HGF and HGF receptor/c-met in adult human mesenchymal stem cells suggests a role in cell mobilization, tissue repair, and wound healing. *Stem Cells* 2004, 22(3), 405-414.

Norozi F, Ahmadzadeh A, Shahrabi S, Vosoughi T, Saki N. Mesenchymal stem cells as a double-edged sword in suppression or progression of solid tumor cells. *Tumor Biology* 2016, 37(9), 11679-11689.

Obakan P. Farklı Prostat Kanseri Hücre Hatlarında Epibrassinolide Tetiklenen Apoptotik Süreçte Poliaminlerin Rollerinin Araştırılması, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2013.

Ohlsson LB, Varas L, Kjellman C, Edvardsen K, Lindvall M. Mesenchymal progenitor cell-mediated inhibition of tumor growth in vivo and in vitro in gelatin matrix. *Experimental and Molecular Pathology* 2003, 75, 248-255.

Ohnishi S, Yanagawa B, Tanaka K, Miyahara Y, Obata H, Kataoka M, Kodama M, Ishibashi-Ueda H, Kangawa K, Kitamura S, Nagaya N. Transplantation of mesenchymal stem cells attenuates myocardial injury and dysfunction in a rat model of acute myocarditis. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2007, 42(1), 88-97.

Otsu K, Das S, Houser SD, Quadri SK, Bhattacharya S, Bhattacharya J. Concentration-dependent inhibition of angiogenesis by mesenchymal stem cells. *Blood* 2009, 113(18), 4197-4205.

Özdemir G. Hematopoietik Kök Hücre Transplantasyonu Yapılan Erişkin Hastalarda Erken Dönemde Saptanan Sitokin Düzeyleri İle Hastalığın Klinik Seyri Arasındaki İlişinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gaziantep 2014.

Özdemir K. Prostat Kanseri Tanılı Hastalarda Uyku Kalitesi, Yorgunluk, Yaşam Kalitesi, Fiziksel Aktivite, Alt Ekstremitte Fiziksel Fonksiyonları, Denge ve Mobilite Arasındaki İlişkinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2015.

Parekkadan B, Milwid JM. Mesenchymal stem cells as therapeutics. *Annual Review of Biomedical Engineering* 2010, 12, 87.

Pienta KJ, Bradley D. Mechanisms underlying the development of androgen independent prostate cancer. *Clinical Cancer Research* 2006, 12, 1665-1671.

Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999, 284(5411), 143-147.

Prantl L, Muehlberg F, Navone NM, Song YH, Vykoukal J, Logothetis CJ. Adipose tissue-derived stem cells promote prostate tumor growth. *Prostate*, 2010, 70, 1709-1715.

Qiao L, Zhao TJ, Wang FZ, Shan CL, Ye LH, Zhang XD. NF- κ B downregulation may be involved in the depression of tumor cell proliferation mediated by human mesenchymal stem cells. *Acta Pharmacologica Sinica* 2008, 29(3), 333-340.

Ramalho-Santos M, Willenbring H. On the Origin of the Term Stem Cell. *Cell Stem Cell* 2007, 1(1), 35-38.

Rhee KJ, Lee JI, Eom YW. Mesenchymal stem cell-mediated effects of tumor support or suppression. *International Journal of Molecular Science* 2015, 16(12), 30015-30033.

Ridge SM, Sullivan FJ, Glynn SA. Mesenchymal stem cells: key players in cancer progression. *Molecular Cancer* 2017, 16(1), 31.

Rolfo A, Giuffrida D, Giuffrida MC, Todros T, Calogero AE. New perspectives for prostate cancer treatment: in vitro inhibition of LNCaP and PC3 cell proliferation by amnion-derived mesenchymal stromal cells conditioned media. *The Aging Male* 2014, 17(2), 94-101.

Sağsöz H, Ketani MA. Kök Hücreler. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2008, 2, 29-33.

Schulz WA, Burchardt M, Cronauer MV. Molecular Biology of Prostate Cancer. *Molecular Human Reproduction* 2003, 9, 437-448.

Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J, Dirks PB. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Research* 2003, 63(18), 5821-5828.

Studený M, Marini FC, Dembinski JL, Zompetta C, Cabreira-Hansen M, Nebiyou Bekele B, Champlin RE, Andreeff M. Mesenchymal stem cells: potential precursors for tumor stroma and targeted-delivery vehicles for anticancer agents. *Journal of the National Cancer Institute* 2004, 96, 1593-1603.

Şahin F, Saydam G, Omay SB. Kök Hücre Plastisitesi ve Klinik Pratikte Kök Hücre Tedavisi. *Türk Hematoloji-Onkoloji Dergisi* 2005, 1(15), 48-56.

Şimşek Ö. Yetişkin Kök Hücrelerin Dünü ve Bugünü. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 2012, 7(3), 231-236.

Takahara K, Ii M, Inamoto T, Komura K, Ibuki N, Minami K, Uehara H, Hirano H, Nomi H, Kiyama S, Asahi M, Azuma H. Adipose-derived stromal cells inhibit prostate cancer cell proliferation inducing apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2014, 446(4), 1102-1107.

Taplin ME, Balk SP. Androgen receptor: A key molecule in the progression of prostate cancer to hormone independence. *Journal of Cellular Biochemistry* 2004, 91, 483-490 .

Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998, 282(5391), 1145-1147.

Timaner M, Tsai KT, Shaked Y. The multifaceted role of mesenchymal stem cells in cancer. *Seminars in Cancer Biology* 2019, in press.

Topçu Sarıca L. Deneysel Sepsis Modellerinde Kök Hücre Uygulamasının İmmünomodülatuar Etkileri, Uzmanlık Tezi, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İstanbul 2016.

Torsvik A, Bjerkvig R. Mesenchymal stem cell signaling in cancer progression. *Cancer Treatment Reviews* 2013, 39(2), 180-188.

Trounson, A, McDonald C. Stem cell therapies in clinical trials: progress and challenges. *Cell Stem Cell* 2015, 17(1), 11-22.

van den Hoogen C, van der Horst G, Cheung H, Buijs JT, Pelger RC, van der Pluijm G. Integrin α v expression is required for the acquisition of a metastatic stem/progenitor cell phenotype in human prostate cancer. *The American Journal of Pathology* 2011, 179(5), 2559-2568.

Waterman RS, Henkle SL, Betancourt AM. Mesenchymal stem cell 1 (MSC1)-based therapy attenuates tumor growth whereas MSC2-treatment promotes tumor growth and metastasis, *PLoS One* 2012, 7(9), e45590.

WeissertR, MelmsA, LinkH. Altered tumor growth factor beta mRNA expression is associated with thymectomy-related clinical remission in myasthenia gravis. *Journal of The Neurological Science* 1997, 151, 49-55.

Yalınay Çırak M. Türk Toplumunda Prostat Kanseri Proteom Profillerinin ve Androjen Reseptör, Psa, Rnasel Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2011.

Yu JM, Jun ES, Bae YC, Jung JS. Mesenchymal stem cells derived from human adipose tissues favor tumor cell growth in vivo. *Stem Cells and Development* 2008, 17, 463-473.

Zhang T, Lee YW, Rui YF, Cheng TY, Jiang XH, Li G. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote growth and angiogenesis of breast and prostate tumors. *Stem Cell Research and Therapy* 2013, 4(3), 70.

Zhu M, Heydarkhan-Hagvall S, Hedrick M, Benhaim P, Zuk P. Manual isolation of adipose-derived stem cells from human lipoaspirates. *Journal of Visualized Experiments* 2013, 26(79), 50585.

Zhu Y, Sun Z, Han Q, Liao L, Wang J, Bian C, Li J, Yan X, Liu Y, Shao C, Zhao RC. Human mesenchymal stem cells inhibit cancer cell proliferation by secreting dkk-1. *Leukemia* 2009, 23, 925-933.

Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, Daniel AU, Huang JI, Mizuno H, Alfonso Z, Fraser JK, Benhaim P, Hedrick MH. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular Biology of the Cell* 2002, 13, 4279-4295.



ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : ÖĞÜTLÜ, Özde
Uyruk : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi: İzmir 17.04.1987
Telefon : 0 (541) 822 6608
E-mail : ozdeogutlu@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji	Devam ediyor.
Lisans	Muğla Üniversitesi Muğla Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik	06.06.2008

BURSLAR ve ÖDÜLLER

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer	Unvan
2018 – devam ediyor	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi	Hemşire
2015-2018	Aydın Büyükşehir Belediyesi	Hemşire
2009-2015	Dokuz Eylül Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi	Hemşire

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

2. PROJELER

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler