

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YAŞLANMAYA BAĞLI OVARYUMLARDA
MEZENKİMAL KÖK HÜCRE EKSPRESYONU**

GÖKÇE GÜNYÜZ

YÜKSEK LİSANS

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Serpil KALKAN

KONYA 2013

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YAŞLANMAYA BAĞLI OVARYUMLARDA
MEZENKİMAL KÖK HÜCRE EKSPRESYONU**

GÖKÇE GÜNYÜZ

YÜKSEK LİSANS

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Serpil KALKAN

KONYA 2013

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **Gökçe GÜNYÜZ**'ün "**Yaşlanmaya Bağlı Ovaryumlarda Mezenkimal Kök Hücre Ekspresyonu**" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.
Konya, 27.06.2013

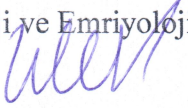


Tez Danışmanı

Prof. Dr. Serpil KALKAN
Histoloji ve Embriyoloji A.B.D.

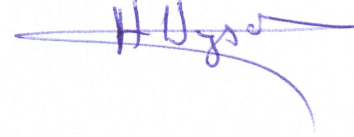
Jüri Üyesi

Prof. Dr. Hasan CÜCE
Histoloji ve Embriyoloji A.B.D.



Jüri Üyesi

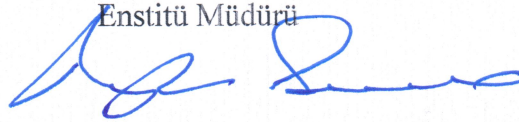
Prof. Dr. Hüseyin UYSAL
Fizyoloji A.B.D.



Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 11.07.2013 tarih ve 12-46 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Neyhan Ergene

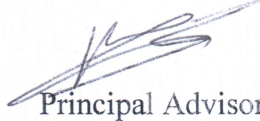
Enstitü Müdürü



APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled "*Expression Of Mesenchymal Stem Cells Due To Aging In Ovary*" by "Gökçe GÜNYÜZ" that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of *Master of Science* in the Department of "*Histology Embryology*", Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan.

Konya, Turkey/ 27.06.2013



Principal Advisor

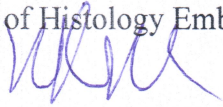
Professor Serpil KALKAN

Department of Histology Embryology

Examination Committee Member

Professor Hasan CÜCE

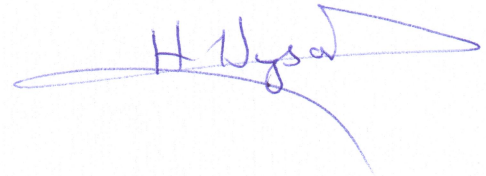
Department of Histology Embryology



Examination Committee Member

Professor Hüseyin UYSAL

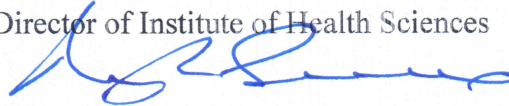
Department of Physiology



This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.

Professor Neyhan Ergene

Director of Institute of Health Sciences



BEYANAT

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

27.06.2013

Gökçe GÜNYÜZ



ÖNSÖZ

Tüm yüksek lisans eğitimim süresince desteklerini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Serpil Kalkan'a, laboratuvar aşamasında yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Gökhan Cüce'ye ve öğretim üyesi hocalarım, Prof. Dr. Hasan Cüce, Prof. Dr. Selçuk Duman, Prof. Dr. Aydan Canbilen, Prof. Dr. Murad Aktan'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca birlikte çalıştığım doktora ve yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma teşekkür ve saygılarımı sunarım. Çalışmalarım boyunca manevi desteğini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İç Kapak.....	i
Tez Onay Sayfası.....	ii
Approval.....	iii
Tez Beyan Sayfası	iv
Önsöz ve/veya Teşekkür.....	v
İçindekiler.....	vi
Simgeler ve Kısaltmalar Listesi.....	viii
Özet.....	ix
Abstract.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Dişi Üreme Sistemi ile İlgili Genel Bilgiler.....	2
1.1.1. Ovaryumdaki Yapılar ve Gelişimi	2
1.1.2. Fallop Tüpleri.....	3
1.1.3. Uterus	3
1.1.4. Vajina	4
1.1.5. Dış Genital Organlar	5
1.2.Ovaryum Anatomisi	5
1.3. Ovaryum Histolojisi	6
1.3.1.Ovaryum Folikülleri.....	7
1.3.1.1.Primordial Folikül.....	7
1.3.1.2.Primer Folikül	8
1.3.1.3.Sekonder Folikül	8
1.3.1.4.Tersiyer Folikül	9
1.3.1.5.Atretik Folikül.....	9
1.3.2 Ovulasyon.....	10
1.3.3. Korpus Luteum.....	11
1.4. Ovaryum Embriyolojisi.....	11
1.4.1.Oogenezis	15
1.5. Kök Hücreler	16
1.5.1.Kök Hücrenin Tanımı ve Kök Hücre Tipleri	16
1.5.2.Kök Hücre Araştırmalarının Tarihçesi	19
1.5.3. Kök Hücrelerin Sınıflaması.....	22
1.5.3.1.Kök Hücrelerin Farklılaşma Potansiyeline Göre Sınıflandırılması.....	23

1.5.3.2.Kök Hücrenin Kaynağı Olan Dokuya Göre Sınıflama.....	24
1.6.Kanser Kök Hücreleri.....	29
1.6.1.Ovaryumdaki Mezenkimal Kök Hücrelerin Kanserleşmesi.....	29
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3. BULGULAR	32
4. TARTIŞMA	46
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	50
6. KAYNAKLAR.....	51
7. EKLER.....	57
8. ÖZGEÇMİŞ.....	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADSCs: Adipoz Doku Kökenli Kök Hücreler

BM-MSC: Kemik İliği Kökenli Kök Hücreler

BMP2: Bone Morfogenetik Protein

EKH: Embriyonik Kök Hücre

FSH: Folikül Stimüle Hormon

HCG: Human Chorionic Gonadotropin

IVF: İn Vitro Fertilizasyon

LH: Lüteinleştirici Hormon

MKH: Mezenkimal Kök Hücre

OMI: Oosit Maturasyon İnhibitörü

TBF: Testis Belirleyici Faktör

YKH: Yetişkin Kök Hücreler

ZP: Zona Pellisuda

ÖZET

Bu çalışmada sıçanlarda farklı yaş gruplarında mezenkimal kök hücre markerleri olan CD73, CD90 ve CD105'in sağ ve sol ovaryumlardaki immünohistokimyasal ekspresyonu incelenmiştir.

Çalışmamızda 21 adet 250-300 gr ağırlığında Sprague-Dawley türü dişi sıçan kullanıldı. A Grubu 1 aylık, B Grubu 3,5 aylık ve C Grubu ise 8 aylık dişi sıçanlardan oluşturuldu. Sıçanlar anestezisi altında sakrifiye edildi, sağ ve sol ovaryumları çıkarıldı ve laboratuvar deneyleri için 6 adet deney grubu oluşturuldu. Tüm ovaryumlar % 10'luk formaldehitte tespit edildi. 2 günlük tespitten sonra rutin histolojik takip yapıldı ve elde edilen parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Bu parafin kesitlere CD90 (Bioss, bs-0778R), CD105 (Bioss, bs-0579R) ve CD73 (Santa Cruz Biotechnology, sc-32299) immünohistokimyasal boyamalar yapıldı. Bu markerlerin ovaryumlardaki ekspresyonları ve dişi ratların yaşları arasındaki ilişki değerlendirildi. A grubu sağ ovaryumunda CD105 ekspresyonu, A grubu sol ovaryumundaki CD105 ekspresyonuna göre istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır. C grubu sağ ve sol ovaryumlarında CD105 ekspresyonu A grubu sağ ovaryum CD 105 ekspresyonu ile benzer ama diğer gruplarla karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık çıkmıştır.

1 aylık ratların sağ ovaryumundaki CD105 ekspresyonu artışı, mezenkimal kök hücrelerin farklılaşmadan önceki sürecine ait olabileceği şeklinde yorumlanan literatür bilgiyi, 8 aylık sıçanlarda artan mezenkimal kök hücre ekspresyonu ise, mezenkimal kök hücrelerin ovaryum kanser kök hücrelerine dönüşebileceğini veya bu kanser kök hücrelerinin gelişimine destek verebileceğini içeren literatür bilgiyi destekler gözükmektedir. Fakat bu konudaki bilgiler hala tartışmalıdır ve mezenkimal kök hücrelerin rejeneratif tıpta kullanımı ve kanser oluşumu ile arasında kesin bir çizgi bulunmamaktadır.

ABSTRACT

Immunohistochemical expression of the mesenchymal stem cell markers (CD73, CD90, CD105) was examined at right and left ovarian in different age groups for this study.

Twenty one old female Sprague Dawley rats weighing 250 to 300 g were used. The rats were divided into three groups each. Group A, Group B and Group C were consisted from 1 month, 3.5 month and 8 month old female rats respectively. Rats were sacrificed under anesthesia, the right and left ovaries removed and six experimental groups were consisted for laboratory experiments. All ovaries were fixed in 10% formaldehyde for two days. 4 micron sections were obtained from paraffin blocks. CD90 (Bioss, bs-0778R), CD105 (Bioss, bs-0579R), and CD73 (Santa Cruz Biotechnology, sc-32299) immunohistochemical stainings were performed to these paraffin sections. The association between the ages of female rats and the expression of markers in ovaries were evaluated. CD105 expression of the right ovarian group A, was statistically significant according to CD105 expression of left ovarian group A. CD105 expression of right and left ovaries of Group C is similar to CD105 expression right ovarian Group A, but the difference was statistically significant compared to other all groups.

Increased expression of CD105 in one-month old rats right ovarian, may belong to the process before the differentiation of mesenchymal stem cells as reviewed in literature and also increased expression of mesenchymal stem cells at the 8 month old rat groups seem to support the literature information about mesenchymal stem cells can be turned into ovarian cancer stem cells with or could support the development of cancer stem cells. However, information on this topic is still controversial. There is a not a clear line between the use of mesenchymal stem cells in regenerative medicine and the occurrence of cancer.

1.GİRİŞ

Bilim adamları 2 tip kök hücre üzerinde çalışmaktadırlar. Embriyonik kök hücreler ve yetişkin kök hücreler. Bununla birlikte EKH'ler in klinikte kullanımı immunreaksiyon, tümör riski ve etik sorunlar yüzünden avantajını kaybetmiştir. Tersine yetişkin kök hücrelere olan ilgi ise giderek artmaktadır (Taha ve ark 2010).

Memeli organ sistemlerinde bulunan yetişkin ve organ kök hücreleri tüm yaşam boyunca bu organların tamiri ve devamlılığının sağlanması için önemlidir (Silva ve ark 2008). Mezenkimal kök hücreler, rejeneratif tedavi yaklaşımları için cazip bir aday yapan bir dizi pro-rejeneratif özellikler sergiler, bu özellikler çoklu soylara farklılaşma kapasitesi, yangı ve hasar bölgesine göç etme özelliği, parakrin bağışıklık, anjiyogenik, anti apoptotik ve proliferatif özellikleridir (Zimmerlin ve ark 2013).

Kemik iliği, mezenkimal kök hücreleri içeren ilk kaynak olarak rapor edilmiştir. Fakat ilerleyen hasta yaşı ile birlikte farklılaşma kapasitesi ve sayısında azalma olmaktadır (Weinzierl K). Yakın çalışmalarla dolaşımdaki kök hücrelerin yaşlı hastalarda ve diyabetik hastalarda fonksiyonu ve sayısının azaldığı gösterilmektedir (Nishiyama ve ark 2007).

Alternatif doku kaynaklarına olan ihtiyaç duyulması sonucu adipoz doku kök hücrelerin bol miktarda izole edilebildiği ve kolayca elde edilebilir bir doku olarak kullanılmaya başlanmıştır (Fisher ve ark 2009). MSC dolaşım kanı, yetişkin ve fetal kemik iliği, dalak, amniyotik sıvı, kıkırdak, kas tendonları, plasenta, yağ doku, fetal dokular, periosteum, snoviyal sıvı, timus, trabeküler kemik, dermis, akciğer ve diş eti gibi farklı ana dokularda ve organlarda bulunur (Kode ve ark 2009).

Fu X ve Takehara mezenkimal kök hücrelerin hasar görmüş ovaryumlarda iyileştirici etkisi olduğunu ileri sürmektedirler (Takehara ve ark 2013, Fu ve ark 2008). Lis R ise mezenkimal kök hücrelerin ovaryum kanser hücre hatlarını desteklediği şeklinde görüş belirtmişlerdir (Lis ve ark 2012).

Literatür bilgide mezenkimal kök hücrelerin ovaryumlardaki fonksiyonları hakkında zıt görüşler bulunmaktadır. Ama literatürde ovaryumlarda mezenkimal kök hücre ekspresyonu ve yaş grupları ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Buradan yola çıkarak, bu

çalışmada değişik yaş gruplarındaki rat ovaryumunda mezenkimal kök hücrelerin immünohistokimyasal olarak ekspresyonlarının araştırılması amaçlanmıştır.

1.1. Dişi Üreme Sistemi ile İlgili Genel Bilgiler

Dişi üreme sisteminde, pelviste bulunan bir çift ovaryum ile genital kanallar olan fallop tüpleri (ovudukt veya tuba uterinalar), uterus ve vajina iç genital organları oluşturur.

Labia major, labia minor ve klitoris ise dış genital organlar kapsamında incelenir. Meme bezleri ve plesenta, genital organ olmamakla birlikte fonksiyonel olarak genital sistemle ilişkilidirler. Kadın üreme sistemindeki siklik değişikliklerin merkezi durumda olan ovaryumlarda, kadın germ hücreleri olan oositler ve steroid hormonlar yapılır. Fallop tüpleri, oositin fertilizasyonun gerçekleştiği organlardır. Uterus ise, fertilize olan ovumun gebelik süresince barındığı yerdir. Ovaryumlar ve uterus, menstrual siklus olarak bilinen, düzenli aralıklarla tekrarlayan değişikliklere uğrarlar. Vagina, iç genital organların vücut dışına açıldığı yerdir. Kadın genital kanal sistemi ile dış genital organlar, fetal hormonların dolaşımında etkili olmaya başlamasından sonra gelişirler.

1.1.1. Ovaryumdaki Yapılar ve Gelişimi

Ovaryumlar, erişkinlerde 3 cm uzunlukta, 1,5-2 cm genişlikteki solid, badem biçimindeki bezlerdir. Menstrual siklus, gebelik ve postmenapozal dönemlerde boyutları ve histolojik görünümleri değişiklik gösterir. Ovaryumların bir yanları mezovaryum denilen bir mezentere sahiptir. Bu yapı ovaryumun hilumundaki geniş ligamente bağlanır. Ovaryumlar, visseral peritondan farklılanan bir örtü ile sarılıdır (Ovale ve ark 2009). Bu yapı orijinal olarak ‘germinal epitelyum’ adıyla bilinir, ancak ‘ovaryum yüzey epiteli’ daha uygun bir terminolojidir. ‘Germinal epitelyum’ yanlış bir isimlendirmedir, çünkü şimdi germ hücrelerinin primordial germ hücrelerinden köken aldıkları kesinlikle bilinmektedir (Moore 2002). Ovaryumun dışta kalan bölümü korteks, içte kalan bölümü ise medulladır, ancak bu iki bölgenin sınırı tam belli değildir. Yoğun fibröz bağ doku yapısında olan ve yüzey epitelinin altında bulunan tunika albuginea, tüm ovaryumu kapsül gibi sarar. Korteksin geri kalan kısmı, helezonik paternde düzenlenmiş hücrelerden zengin bağ dokusu yapısındadır. Bu bölgede matürasyonun ve dejenerasyonun farklı evrelerinde, oosit içeren, farklı boyutlardaki ovaryum folikülleri bulunur. Çocukluk çağındaki ovaryum korteksinde, primordial foliküller çok sayıdadır; seksüel olgunluğa erişmiş kadınlardaki ovaryum korteksinde ise, rüptüre foliküllerin yerini alan korpus luteumlar çok sayıdadır.

Sınırları tam belirgin olmayan medulla; çok sayıda kıvrımlı kan damarları, sinirler ve lenfatikler içeren gevşek bağ dokusu yapısına sahiptir. Doğumda ovaryumlarda oogonyumlardan gelişen yaklaşık 400 bin primer oosit vardır; puberte ile birlikte dejenerasyon veya atreziler nedeniyle bu sayı yaklaşık 40 bin oosite düşer. Kadınlarda yaklaşık her 28 günde bir gerçekleşen ovulasyon ile oosit ovaryumdan atılır. Testisler gibi ovaryumlar da hem ekzokrin hem endokrin fonksiyona sahiptir. Endokrin fonksiyonları; östrojen ve progesteron hormonlarını salgılamaktır.

1.1.2. Fallop Tüpleri (Tuba uterina)

Tuba uterinalar, ovaryumdan uterusu kadar uzanan 12-15 cm uzunluğunda olan yapılardır. Embriyodaki müller kanallarının birleşmeyen orta bölgesinden gelişirler. Fallop tüpleri ligamentum latumdan köken alır ve mezosalinks olarak bilinen ince bir mezenter tarafından askıya alınmış durumdadırlar. Ovulasyon sonrası fallop tüpleri, oositi alır ve fertilizasyon için uygun bir ortam oluştururlar. Erken embriyo dönemi ya da zigotun uterusu ulaşmadan önceki yaklaşık 3 günlük gelişimi, normalde fallop tüpleri içerisinde olur. Fallop tüplerinin dört bölümü vardır. Dışa açılan borazan biçimli başlangıç segmenti infundibulumdur, bu bölümün ucunda fimbria adı verilen saçaklı kıvrımlar bulunur. Tüplerin ucu peritoneal kaviteye açılır, bu nedenle enfeksiyonlar, abdomene kolayca yayılır. Fallop tüplerinin en geniş parçası, ampulla bölümüdür. Bu bölüm ince bir duvar ve çok fazla mukoza kıvrımlarına sahiptir. Ampullanın devamında istmus olarak bilinen en kısa ve kalın duvarlı segment, uterusu bağlanır. Uterus duvarı içine giren son parça ise, intramural parçadır.

1.1.3. Uterus

Uterus; pelviste mesane ile rektum arasında uzanan, kalın musküler bir duvara sahip, lümeni müköz membran ile örtülü, içi oyuk armut biçimli organdır. Organın genişlemiş üst kısmı, gövde veya korpus bölümüdür. Tepedeki kubbe biçimli bölümü fundus olarak adlandırılır ve bu bölümün duvarından fallop tüpleri organ içine girer. Organın en dar ve en alt bölümü olan serviks, vajinaya açılır. Korpus ve fundus histolojik olarak, hemen hemen aynıdır, ancak serviks, bazı önemli yapısal farklılıklar gösterir. Gebe olmayan bir uterusun duvarı yaklaşık 2,5 cm kalınlıktadır ve üç tabakadan oluşur.

En dışta bulunan perimetrium; bağ dokusu yapısındadır, sadece bazı alanlarda serozayı oluşturmak üzere peritoneal mezotel ile örtülüdür.

Ortadaki ve en kalın tabaka olan myometrium; birbirine bağlı düz kas demetlerinden yapılmıştır, demetler bağ dokusu ile birbirinden ayrılır. Düz kaslar uterusun işleviyle ilişkili olarak sınırları tam ayırt edilemeyen üç tabaka şeklinde düzenlenmiştir: iç ve dış tabakalardaki hücreler genellikle longitudinal seyirlidir, orta tabakadakiler ise oblik ve sirküler seyirlidir.

Uterusun en iç tabakası olan endometrium; basit silindirik epitelin de katıldığı özelleşmiş bir mukozadır ve menstrual siklus sırasında siklik değişikliklere uğrar. Endometrium, basit tübüler yapıdaki uterus bezleri ile hücreden son derece zengin stroma ya da lamina propriyadan oluşur. Endometrial yapıda tekrarlayan değişiklikler, hipofiz uyarımları ile ovaryum cevabın karmaşık etkilerini yansıtır. Endometrium her ay fertilize bir ovumun implantasyonu ve beslenmesi için hazırlanır.

1.1.4. Vagina

Vagina, uterusun serviks bölümünü vücut dışına bağlayan, genişleyebilme özelliğine sahip fibromusküler bir tüptür. Kadın kopulasyon organı olarak fonksiyon yapar ve gebeliğin bitiminde doğum kanalı olarak fonksiyon görür.

Vajina duvarı üç tabakadan oluşur. Bunlar; mukoza, muskularis ve adventisyadır. Mukoza; 150-200 mikrometre kalınlıktaki keratinize olmayan çok katlı yassı epitelden ve bunun altında uzanan lamina propriyadan oluşur. Vajinada bez bulunmaz, serviksteki müköz bezlerden yüzeyin kayganlaştırılması ve koruması için gerekli olan mukus sağlanır. Kasılı olmayan relaks durumundaki vajinada, rugae adı verilen transvers mukozal kıvrımlar belirgin haldedir. Normal koşullarda yüzey epitelyum hücreleri çekirdeklidir. Sitoplazmaları, depo edilen glikojen miktarındaki değişikliklere bağlı olarak farklı görünümde olabilir. Ovulasyona yakın östrojen uyarımıyla hücrelerde glikojen içeriğinde artış olur. Hücreler döküldüğünde içerdikleri glikojen vajinal lümene boşalır. Hücreden zengin olan lamina propriada, seksüel stimülasyonlara bağlı olarak kanla dolan yaygın bir venöz pleksus bulunur. Muskularis, sınırları tam belli olmayan iki düz kas tabakasından oluşur ve miyometrium ile devamlılık gösterir. İç tabakası sirküler seyirlidir, dış tabaka genellikle daha kalındır ve longitudinal seyirli kaslardan yapılmıştır. Vajinal girişi iskelet kası yapısında bir sfinkter çevreler. En dışta bulunan adventisya; damar ve sinirden zengin, elastik liflerin çok olduğu düzensiz kompakt bağ dokusudur.

1.1.5. Dış Genital Organlar

Dış genital organlar; labia major ve minor, klitoris, vestibul orifis ve vestibuler bezlerdir.

Erkeklerdeki skrotumun homoloğu olan labia major; yoğun pigmentli bir epitelyum ile örtülü, kıl folikülleri, yağ ve ter bezlerinin de bulunduğu deri katlantıdır.

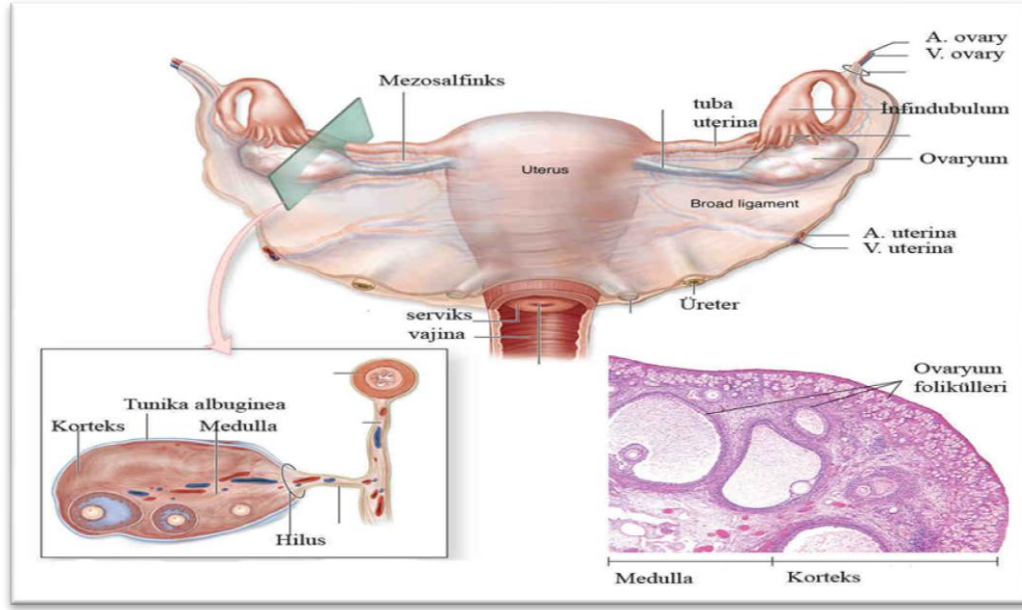
Labia minor; derin tabakalarında pigment bulunan çok katlı yassı epitel ve altında uzanan vasküler gevşek bağ dokudan oluşan katlantıdır. Yüzeyel epitelyum hücrelerinde yoğun keratinizasyon vardır. Yağ bezleri yüzeye açılır ve kıl folikülleri yoktur.

Penisteki korpus kavernozumların homoloğu olan klitoris, yaklaşık 2 cm'dir. Uçları rudimenter glans klitoris ile sonlanan iki erektil doku uzantısından oluşur. Penisten farklı olarak, klitoriste korpus spongiosum yapısı yoktur. Klitorisin erektil dokusu, cinsel uyarımla birlikte genişleyen ince duvarlı venöz kanallardan yapılmış pleksustan oluşur. Pleksusu oluşturan kanalların çevresinde gevşek bağ dokusu ve izole düz kas hücreleri bulunur. Bağ doku içerisinde çok sayıda sinir fasikulusları vardır, klitorisi dıştan kuşatan müköz membran yapısında da çok miktarda duyuşal sinir sonlanmaları bulunur.

Vajina ile üretranın açıldığı bölüm olan vestibul, çok katlı yassı epitelyum ile örtülüdür. Klitoris ve üretraya yakın olarak bulunan birçok küçük vestibuler bezden mukus salgılanır. İki tane daha büyük tübüloalveoler yapıdaki bezler olan major vestibüler bezler, labia minorun iç yüzeylerine açılır. Bu bezler ise erkeklerdeki bulboüretal bezlerin benzeridir (Ovale ve ark 2009).

1.2. Ovaryumun Anatomisi

Ovaryum, doğum yapmamış kadınlarda 3 cm uzunlukta, 1,5-2 cm genişlikte, 1cm kalınlıktadır ve pelvisin yan duvarlarında bulunan fossa ovarica adı verilen çukurcuklarda yer alır. Ovaryumların ön kısımlarında, kan damarlarının ve sinirlerin girdiği hilus adı verilen bölge bulunur. Mezovaryum (posterior), kan damarlarını ovaryumlara ileten bir periton kıvrımı olup, ovaryumu uterusun yan kenarlarından uzanan broad ligamentine bağlar. Ovaryumun üst kutbu suspansory ligamentle pelvik duvara, alt kutbu ise ovarian ligament ile uterusu tutunur (Sekil 1.1). Pubertal dönemden önce ovaryumun yüzeyi düz bir yapıdadır. Üreme döneminde ise tekrarlayan ovulasyonlar sebebiyle skarlı ve düzensiz bir hal alır. Postmenapozal dönemde, ovaryum boyutları üreme çağındaki dördte biri büyüklüğe iner (Ross ve ark 2006).



Sekil 1.1. Ovaryumların sematik olarak gösterilen anatomik yapısı (Junqueira ve ark 2009).

1.3. Ovaryum Histolojisi

Ovaryum tek katlı yassı epitelten alçak boylu kübik epitele kadar değişkenlik gösteren bir epitel ve epitelin hemen altında tunika albugina adı verilen bir bağ dokusu katmanıyla çevrelenmiştir. Enine kesitlerde dışta korteks (kabuk), içte medulla (öz) bulunur ve bu katmanlar birbirinden kesin bir çizgiyle ayrılmaz. Korteks katmanı oldukça kalındır ve bağ dokusu ve çeşitli gelişim evrelerinde bulunan follikülleri içerir (Kierszenbaum 2002).

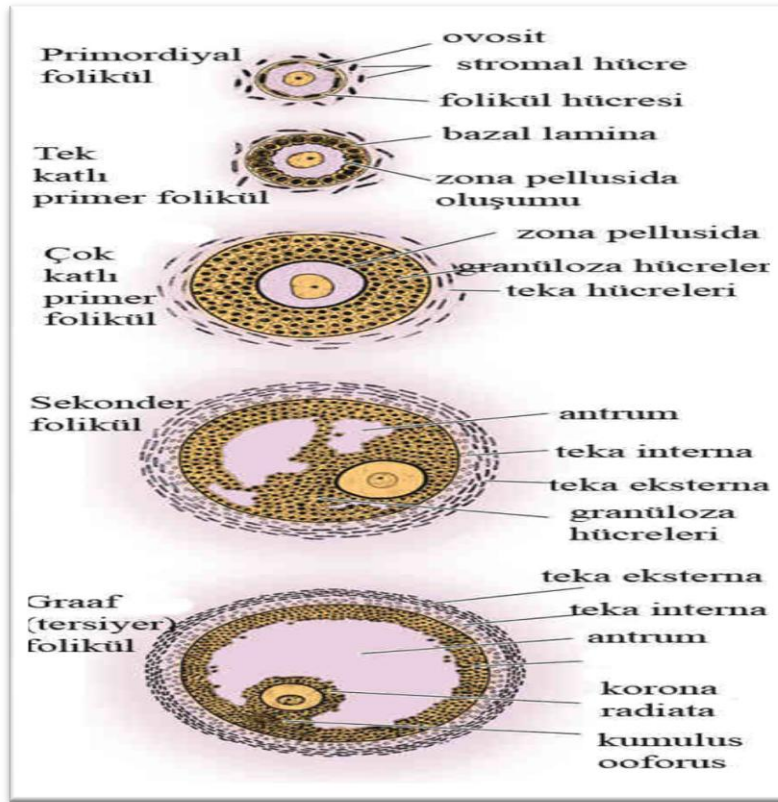
Medulla, kollajen demetleri ve elastik lif ağlarının bol bulunduğu sıkı bağ dokusudur. Medullada kan ve lenf damarları, kalın sinir demetleri ve hilus yakınında birkaç düz kas hücresi bulunur.

Korteks, stroma ve stromada yerleşik çeşitli gelişim evrelerindeki ovaryum folliküllerinden oluşur. Stroma, kollajen ve elastik lifler ile retiküler lif ağları ve iğ biçimli bağ dokusu hücrelerinden yapılmıştır. Korteksin bu intersitisyel bağ dokusu, germinal epitel altında sıklaşarak tunika albuginea'yı oluşturur (Erdoğan ve ark 2007).

Kortekste stroma içinde folliküller yerleşmiştir. Ovaryum follikülleri, ortada iri bir germ hücre (oosit) ile bunu çevreleyen follikül epitelinden oluşan yapılardır (Çorakçı ve ark 2005, Erdoğan ve ark 2007).

1.3.1. Ovaryum follikülleri:

Yenidoğan bir kız çocuğunun her iki ovaryumunda toplam 400.000 adet follikül bulunur. Bunlar 40 mikron çapında yuvarlak oluşumlardır ve iri bir oosit ile bunu çevreleyen yassı follikül epitelinden oluşmuştur. Bunlara primordiyal folliküller adı verilir. Her 28 günde bir, ovaryumlardan bir oosit atılır. Bir kadının üreme süreci 30-40 yıl sürer. Bu süre içerisinde yaklaşık 450 oosit atılır (Erdoğan ve ark 2007).



Sekil 1.2. Follikül gelişimi (Junqueira ve ark 2009)

1.3.1.1. Primordiyal Follikül

Folliküllerin gelişimindeki ilk fiziksel belirtiler oositin büyümesi ve granuloza hücrelerinin görünümündeki değişikliklerdir. Primordiyal folliküller, fetal yaşam sırasında oluşan tek sıralı yassı follikül hücreleriyle çevrili primer oositleri içerir. Primer oositler organeller bakımında n zengindirler. Çok sayıda mitokondriyon, gelişmiş Golgi kompleksi, granüllü endoplazmik retikulum ve birkaç ribozom içerirler. Primordiyal folliküller korteksin en üst katmanında yer alırlar. Sayıları artmaz ancak büyüyüp

gelişirler ve çoğu da dejenere olur (Ben ve ark 1996, Garner ve ark 2001, Ross ve ark 2003, Sadler 2005).

1.3.1.2. Primer Follikül

Pubertenin başlamasıyla, her menstrual siklusda 5- 15 arası primordiyal follikül olgunlaşmaya başlar. Büyümenin ilk işareti, yassı follikül epitel hücrelerinin kübikleşmesidir. Bu aşamada follikül, tek tabakalı (unilaminar) primer follikül adını alır. İlerleyen aşamalarda follikül hücrelerinin çoğalmasıyla çok tabakalı (multilaminar) primer follikül oluşur. Çoğalan follikül hücreleri de granüloza hücreleri adını alır. Granüloza hücreleri ile oosit arasında oluklu bağlantılar (nekzus) oluşur. Bu bağlantılar, besleyici maddelerin, iyonların ve düzenleyici moleküllerin geçişine olanak sağlar (Ben ve ark 1996, Garner ve ark 2001, Ross ve ark 2003, Erdoğan ve ark 2007).

Granüloza hücreleri çoğalırken, çevredeki stroma hücreleri de follikülü bağ dokusundan oluşmuş bir kılıfla sararak teka follikülü katmanını oluşturur. Teka katmanı geliştikçe iki tabakaya ayrılır. İçte teka interna denilen oldukça damarlı, kübik salgı hücrelerinden oluşan kat yer alır. Bu kübik hücreler farklılaşarak steroid hormon üreten hücrelere dönüşürler. Luteinleştirici hormon (LH) reseptörü taşıyan hücreler, östrojen öncülü androjenleri salgırlar. Teka interna katmanı fibroblastlar, kollajen lifler ve küçük damarlardan oluşur. Dışta bulunan diğer kat teka eksternadır. İçerdiği kollajen demetler ve düz kaslarıyla daha çok bir kapsül görevi görür. Teka eksterna katmanı ile ovaryumun stroması arasındaki sınır tam olarak belirgin olmamasına karşın teka interna ile granüloza katmanı arasındaki sınır burada bulunan bazal lamina (membrana limitans eksterna) ile oldukça iyi belirlenmiştir (Moore 2002, Ross ve ark 2003).

Oosit, follikül gelişimi sırasında kendi çevresinde, glikozaminoglikan ve glikoproteinlerden zengin bir katman olan zona pellusidayı (ZP) oluşturur. ZP, homojen, asidofilik, PAS (+) ve oldukça iyi boyanan jel kıvamında bir yapıdır. Zona pellusida ZP1, ZP2 ve ZP3 denilen 3 farklı glikoproteinden oluşur (Ross ve ark 2003).

1.3.1.3. Sekonder follikül

Büyümeyi sürdüren follikül içinde, sıvı dolu boşluklar (antrum) oluşur. Kısa sürede boşluklar birbirleriyle birleşerek yarım ay şeklinde follikül antrumunu oluşturur. Folliküler boşluğu dolduran sıvı, kan damarlarından plazmanın sızmasıyla oluşup yerel salgıların metabolik ürünleri ile değişmiş hale gelir. Boşluk oluşuktan sonra follikül,

sekonder (antral) follikül adını alır (Garner ve ark 2001, Ross ve ark 2003, Kierszenbaum 2006).

Sekonder follikülün granüloza hücrelerinin çoğalması, hipofiz bezinin ön lobundaki bazofil hücrelerinden salınan Folikül Stimüle Hormon (FSH)'a bağlıdır. FSH'ın etkisi altında granüloza hücrelerinin sayısı artar ve hücrelerarası boşluğa follikül sıvısı birikir. Bu sıvı glikozaminoglikan, proteoglikan ve hormon bağlayıcı proteinler içeren kan plazması benzeri bir sıvıdır. Follikül sıvısı hormonlardan progesteron, östradiol, inhibin, follistatin ve FSH ile LH salınımını düzenleyen aktivin içerir (Motta ve ark 1997, Garner ve ark 2001, Ross ve ark 2003).

Granüloza katmanı, oositi çevreleyen bölge dışında, her yerde aynı kalınlıktadır. Antrumda kenarda yerleşik, oosit çevresinde ise granüloza hücreleri daha yoğun bir şekilde birikerek bir tepelik oluşturur. Buraya kumulus ooforus denir. Buradaki granüloza hücreleri ovulasyon sonrasına değin oosit ile birleşik halde kalırlar. Zona pellusida çevresinde gevşek yerleşmiş kübik ya da alçak boylu prizmatik granüloza hücreleri sitoplazmik uzantılarıyla oosit ile bağlantılarını sürdürür. Primer oositi çevreleyen bu tek katlı granüloza hücre katmanına korona radiata denir. Oosit sitoplazmasında, mitokondriyonlar çekirdek yakınında toplanırlar. Sitoplazmada, protein ve lipit yapısında olan vitellus oluşmaya başlar. Oosit, 60-80 mikron büyüklüğe ulaşır (Gartner ve ark 2001, Ross ve ark 2003, Erdoğan ve ark 2007).

1.3.1.4. Tersiyer Follikül (Graaf follikülü)

Graaf follikülünde granüloza hücreleri çoğalır, antrum genişler. Follikül boşluğu follikül sıvısı ile dolar. Oositi saran zona pellusidaya komşu ilk sıra granuloza hücreleri tek katlı kübik ya da prizmatiktir. Bunun dışındakiler ise, poligonal biçimlidir. Graaf follikülünü en dıştan saran bazal membran kalın, homojen ve saydamdır. Buna, camsı zar denir. Tersiyer follikül döngünün başlangıcından başlayarak 10-12 günde oluşur (Block 1952, Garner ve ark 2001, Ross ve ark 2003, Erdoğan ve ark 2007).

1.3.1.5. Atretik Follikül

Yenidoğan döneminde sayıları 400 bin kadar olan primordiyal foliküllerden olgunlaşmayan büyük bir bölümü, erken postnatal dönemde ve puberteden sonra atreziye uğrarlar. Folikül atreziye uğrarken önce oosit, daha sonra foliküler hücreler dejenere olur. Atreziye uğrayan primordiyal foliküllerin yerini, stromal bağ dokusu alır. Ancak, gelişen

foliküllerin atrezisi daha kompleks bir olaydır. Primordial foliküllerde olduğu gibi, burada da ilk dejeneratif değişiklikler, oosit ve bunu takiben folikül hücrelerinde izlenir. Şişerek belirginleşen zona pellusida, oositin ve folikül hücrelerinin dejenere olmasından sonra bile, belirgin olarak izlenebilir. Makrofajlar, dejenere olmuş granüloza hücrelerini sarar. Foliküler hücre ile teka interna arasındaki bazal membran kalınlaşarak hiyalinize kalın bir bant oluşturur. Oluşan skar dokusu, korpus albikansa benzer ancak daha küçüktür. Atrezi şöyle gerçekleşir; mitoz durur, granüloza hücreleri arasında endonükleazlar ve hidrolitik enzimler yayılır, granüloza tabakasında çok miktarda nötrofil ve makrofaj izlenir, daha sonra granüloza hücreleri antruma dökülür, teka interna hipertrofiye uğrar, folikül büzüşür ve bağ dokusu folikül antrumuna doğru ilerler.

Otolitik değişikliklere dayanıklı olan zona pellusida, makrofajlar tarafından fagoside edilerek ortadan kaldırılır. Camsı membran olarak da bilinen kalın bir bazal membranın varlığı geç dönem atrezinin bir özelliğidir (Eşrefoğlu 2004).

1.3.2. Ovulasyon

Siklusun ortasına doğru (ortalama 28 günlük menstrüel siklusun 14. günü) ovaryum folikülü, FSH ve LH'nin etkisiyle (Balasch ve ark. 1995) ani bir büyüme gösterir ve ovaryum yüzeyinde kistik bir kabartı oluşur. Stigma, kısa sürede küçük damarsız bir nokta şeklinde bu kabartının yüzeyinde belirir.

Ovulasyon öncesi, sekonder oosit ve kumulus ooforusun bazı hücreleri gerginleşmiş folikülün iç yüzeyinden ayrılır.

Ovulasyon, LH üretimindeki ani yükselişle tetiklenir. Ovulasyon genellikle LH artışından 12-24 saat sonra olur. LH artışı (kandaki yüksek östrojen düzeyi bu artışa neden olmuştur), stigmanın dışarıya balonlaşmasına yol açarak bir vezikül oluşturur. Daha sonra stigma patlar ve sekonder oosit folikül sıvısıyla birlikte atılır. Oositin atılması, folikül içi basıncın artması ve teka eksternadaki düz kasların, prostaglandin uyarımına bağlı olarak kasılmasının bir sonucudur. Folikül duvarının enzimlerle sindirimi (parçalanması), ovulasyona neden olan ana mekanizmalardan biri olarak görülmektedir (Oehninger ve Hoolgen, 1993). Atılan sekonder oosit; zona pellusida, bir ya da daha fazla tabakalı ışınal tarzda dizilmiş folikül hücrelerinin oluşturduğu korona radiata ve kumulus tabakası ile sarılmıştır. Böylece oosit-kumulus kompleksi oluşur (Tablot, 1985). LH artışının aynı

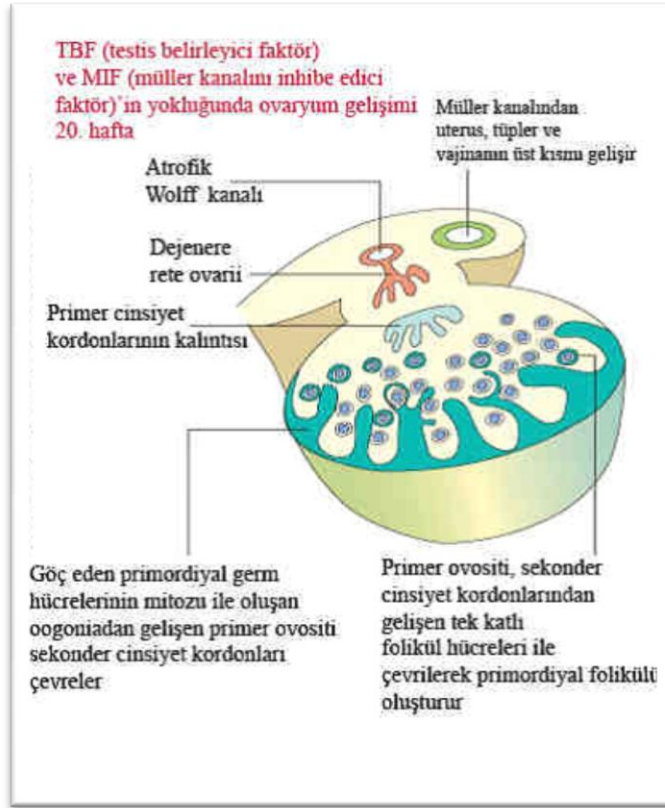
zamanda primer oositin ilk mayoz bölünmesini de başlattığı düşünülmektedir. Bu nedenle olgun ovaryum folikülünde sekonder oosit bulunur (Moore 2002).

1.3.3. Korpus Luteum

Ovulasyondan sonra granüloza ve teka interna hücreleri bölünmeden büyüyerek hormon salgılayan lutein hücrelerine dönüşürler. Böylece geçici bir endokrin bez olan korpus luteum (sarı cisim) oluşur. Korpus luteum, progesteron ve östrojen hormonları salgılar. Graaf follikülünde, ovulasyon sonrası bir iç basınç düşer ve teka katmanındaki kan damarlarından kan sızması ile kısa bir süre için follikül içine kan toplanır. Buna kırmızı cisim (korpus rubrum, korpus hemorajikum) denir. Döllenme olmadığında, ovulasyonu izleyen 9. günde korpus luteum en fazla erişebileceği boyuta ulaşır ve ovaryumun yüzeyinde sarımsak bir çıkıntı halinde izlenir. Daha sonra luteal hücrelerin dejenerasyonu giderek küçülür ve korpus albicans olarak bilinen fibrotik skar dokusu haline gelir. Bu sırada progesteron üretimi de azaldığından menstrual kanama başlar. Oositin döllenmesi durumunda, korpus luteumun dejenere olması, gelişmekte olan embriyonun sinsityotrofoblastları tarafından salgılanan koriyonik gonodotropin (HCG) hormonu tarafından engellenir. Böylece korpus luteum büyümesini sürdürür ve gebelik korpus luteumuna dönüşür. Bu yapı 3. ayın sonunda ovaryumun 1/3 ile 1/2'si kadar bir büyüklüğe ulaşır. Sarımsak renkteki luteal hücreler dördüncü ayın sonuna değin progesteron salgılamayı sürdürür. Bundan sonra, plasentanın trofoblastik bileşeni tarafından salgılanan progesteron hormonunun miktarı, gebeliğin sürdürülmesine yetecek düzeye geldiğinden yavaş yavaş dejenere olur. 4. aydan önce gebelik korpus luteumun dejenerasyonu genelde düşükle sonuçlanır (Sadler 2005).

1.4. Ovaryum Embriyolojisi

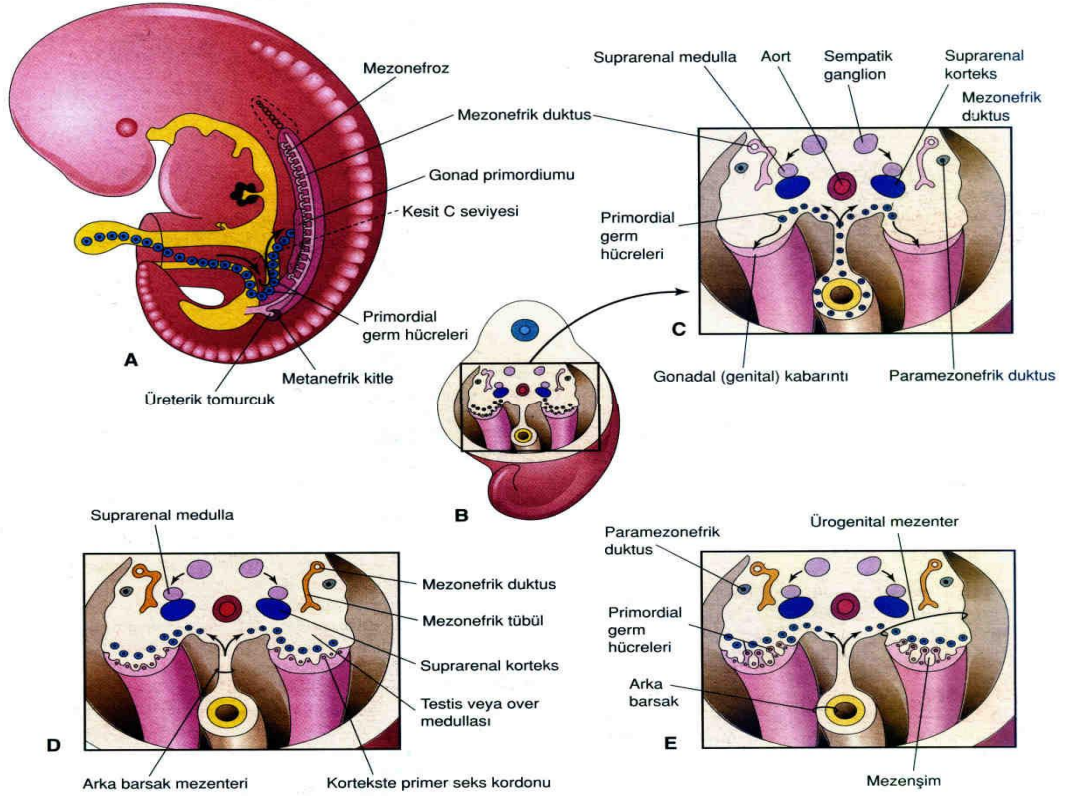
Embriyonun cinsiyeti, genetik olarak döllenme sırasında belirlenmiş olmasına karşın, gonadlar gelişimin 7. haftasına değin erkek ya da dişi yapısal özelliğe sahip değildir. Cinsiyetin farklanması, çok sayıda genin rol oynadığı karmaşık bir süreçtir. SRY geni (Y kromozomunun üzerindeki cinsiyet belirleyici bölge), Y kromozomunun kısa kolunda (Yp11) bulunur ve cinsiyet belirleyicisidir. Bu genin protein ürünü olan transkripsiyon faktörü, gelişmemiş durumdaki üreme organlarının cinsiyetini belirleyen genleri harekete geçirir. SRY geni Testis Belirleyici Faktör (TBF)'dür. Bu faktörün var olması durumunda fetusun cinsiyeti erkek, yokluğunda ise kızdır (Sadler 2005).



Şekil 1.3. Ovaryumun farklanması (Kierszenbaum 2006).

Gonadlar başlangıçta sölom epitelinin çoğalması ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşmuş bir çift genital ya da gonadal kabartılar şeklinde belirirler. Gelişimin 6. haftasına değin bu kabartılar içinde üreme hücreleri görülmez.

İlkel (primordiyal) üreme hücreleri, gelişimin 2. haftasında primer embriyonik ektodermden (epiblast) köken alırlar. Daha sonra epiblasttan ayrılarak ameboid hareketlerle vitellus kesesinin ekstraembriyonik yapılarına göç ederler. Başlangıçta embriyonun kaudalinde yerleşik ekstraembriyonik mezodermden görülürler, sonra vitellus kesesi duvarı endoderminde izlenirler (Moore 2002, Sadler 2005)



Sekil 1.4. Ovaryumların embriyolojik gelişimi (Moore ve ark. 2002).

Gelişimin 4. haftasında son bağırsağın mezenterinin dorsali boyunca ilerleyerek, 5. hafta başında ilkel gonadlara ulaşırlar. 6. haftada ise, genital kabartılara yerleşirler. İlkel üreme hücrelerinin izlediği bu yola, germ çizgisi (hattı) denir. İlkel üreme hücreleri, açık renk sitoplazmaları ve oval şekilleriyle ayırt edilirler. Bu hücreler, genital kabartılara ulaşamadıklarında gonadlar gelişemez. Gonadların ovaryum ya da testis'e farklılaşmalarında ilkel üreme hücrelerinin tetikleyici etkisi vardır (Moore 2002, Sadler 2005).

İlkel üreme hücrelerinin ilkel gonadlara ulaşmasından hemen önce ve ulaşması sırasında, genital kabartının epitelini çoğaltır ve epitel hücreleri altındaki mezenşimin içine gömülürler. Burada ilkel cinsiyet kordonları olarak adlandırılan, düzensiz şekilli kordonları oluştururlar. Erkek ve dişi embriyolarda bu kordonlar, yüzey epiteline bağlıdır ve bu evrede erkek ya da dişi gonadların birbirinden ayırt edilmesi olanaksızdır. Bu nedenle, bu evreye farklılaşmamış evre, bu gonada da farklılaşmamış gonad denir (Sadler 2005).

XX kromozomları, ovaryumun gelişimi için genler içerir. 10. haftaya kadar ovaryumlar histolojik olarak ayırt edilmezler. XX kromozomlarına sahip dişi embriyolarda, ilkel cinsiyet kordonları düzensiz hücre kümelerine ayrılır. İlkel üreme hücresi grupları içeren bu kümeler, daha çok ovaryumun medullar bölgesinde yerleşmişlerdir. Bu hücre kümeleri bir süre sonra kaybolarak yerlerini damarlı stromaya (medulla) bırakırlar.

Dişi gonadın yüzey epitelini, erkek gonadın aksine çoğaltmayı sürdürür. 7. haftada yüzey epitelinden köken alan hücre kordonları alttaki mezenşim içine gömülür. Bunlar yüzeye yakın yerleşirler ve ikincil kordonlar olarak adlandırılırlar. 4. ayda bu kordonlar, bir ya da daha çok sayıda ilkel üreme hücresini çevreleyen izole hücre toplulukları haline gelirler. Bu üreme hücreleri zamanla oogonyumlara dönüşürken, yüzey epitelinden aşağıya göç eden ve üreme hücrelerini çevreleyen epitel hücrelerinden de foliküler hücreler oluşur (Moore 2002, Sadler 2005).

Germ hücreleri, göçleri sırasında bir yandan da çoğalırlar. Bunlar spermiyum ve oositlerin öncülleridir. 6. haftanın sonunda mitoz bölünmeyle çoğalan hücrelerin sayıları kadardır (Block ve ark 1952, Motta ve ark 1997).

Ovaryum farklılaşmasının ilk belirtileri 6 ile 8. haftalar arasında germ hücrelerinin hızla mitotik bölünmesidir. Bu bölünme sonucunda 16 ile 20. haftalar arasında yaklaşık 6-7 milyon oogonyum oluşur. Bu evreden başlayarak ovaryum'un üreme hücre sayısı geri dönüşümsüz azalır ve yaklaşık 50 yıl sonra da tüm oosit içeriği tükenir. 20'li yaşlarda

104.000, erken 30'lu yaşlarda 33.000 düzeyine inen folikül ve oosit sayısı 40'lı yaşlarda 7900'e kadar düşer (Block ve ark 1952).

1.4.1. Oogenezis

Oogenezis; oogonia denilen primitif germ hücrelerinin, olgun oositlere dönüşmesiyle gerçekleşen olaylar dizisidir. Hücrelerdeki bu olgunlaşma süreci, doğumdan önce başlar, cinsel olgunluğa erişildiğinde tamamlanır.

Erken fetal hayatta, oogonia doğumdan önce, primer oositleri oluşturmak için hacimce büyür, primer oosit oluştuğunda ovaryuma ait stroma hücreleri ile çevrelenir. Bu yapı tek tabakalı düzleşmiş foliküler epitel hücrelerini oluşturur. Bu hücre tabakası ile çevrelenmiş primer oosit, primordial folikülü oluşturur.

Puberte boyunca primer oosit büyür, foliküler epitelyum hücreleri önce kübik sonra prizmatik bir görünüm kazanır, böylece primer folikül oluşur. Primer oosit kısa sürede zona pellusida adı verilen renksiz, hücre içermeyen glikoprotein örtüsüyle çevrelenir. Zona pellusida yüzeyinin Scanning Electron Mikroskop görüntülerinde, İsviçre peynirine benzeyen iç içe geçen pencereler oluşturulmuş, düzgün ağ benzeri bir yapı ortaya çıkarılmıştır. Primer folikülün kübik foliküler epiteli, birden fazla kat içerdiğinde olgunlaşmış veya sekonder folikül adını alır.

Primer oosit ilk mayoz bölünmesine, doğumdan önce başlar ancak profaz puberteye kadar tamamlanamaz. Primer oosit, puberte boyunca cinsel olgunluğa ve üreme siklusları başlayıncaya kadar profazda bekler (diktioten). Primer oositi çevreleyen foliküler hücrelerin oosit maturasyon inhibitörü (OMI) adındaki bir maddeyi salgılayarak, oositin mayotik bölünme sürecini durdurduğu düşünülmektedir.

Oositlerin doğum sonrası olgunlaşması puberte ile başlar, her ay genellikle bir folikül olgunlaşır ve ovulasyon olur. İlk mayotik bölünmenin uzun sürmesi (45 yıla kadar) mayotik hataların sıklığındaki yüksekliği kısmen açıklayabilir. Profaz 1'de bekleyen primer oositler de radyasyon gibi çevresel ajanlara duyarlıdır.

Doğumdan sonra kızlarda primer oosit oluşmaz, erkeklerde ise puberte sonrası da primer spermatozoid yapımı devam eder. Primer oositler puberteye kadar ovaryum foliküllerinde bekler. Folikül olgunlaştıkça primer oositin boyutları artar, ovulasyondan

hemen önce birinci mayoz bölünmeyi tamamlar. Spermatogenezdeki benzer aşamalardan farklı olarak, sitoplazma eşit olarak bölünmez.

Sekonder oosit hemen hemen tüm sitoplazmayı alır, birinci polar cisimciğe çok azı kalır. İlk polar cisimcik; küçük, işlevsel olmayan ve kısa süre içinde dejenere olacak bir hücredir. Ovulasyondan sonra sekonder oositin çekirdeği ikinci mayoz bölünmeye başlar, ama bölünme durduğunda sadece metafazı ilerlemiştir. Eğer bir sperm sekonder oositin içine girerse, ikinci mayotik bölünme tamamlanır ve yine sitoplazmanın çoğu bir hücreye, fertilize olmuş bir oosite veya olgun ovuma geçer. Diğer hücre kısa sürede dejenere olan, küçük ve işlevsiz bir hücredir. İkinci polar cisimcik atıldığında oositin olgunlaşması tamamlanır

Yeni doğan bir kız bebeğin ovaryumlarında yaklaşık 400 bin primer oosit vardır ama çocuklukta çoğu geriler, adölesan dönemde 40 binden fazla değildir. Bunlardan sadece 400 kadarı sekonder oosit olur ve üreme döneminde ovulasyon sırasında atılır. Bu oositlerin çok azı olgunlaşır. Kontraseptif ilaç kullanan kadınlarda yumurtlanan oosit sayısı oldukça azalır. Çünkü, bunların içindeki hormonlar ovulasyonun olmasını engeller (Moore 2002).

1.5. Kök Hücreler

1.5.1. Kök Hücrenin Tanımı ve Kök Hücre Tipleri

Organizmayı oluşturan hücreler çoğalma, bölünme ve büyüme özellikleri bakımından birbirlerinden bazı farklılıklar göstermektedirler. İleri farklılanma gösteren eritrositlerin ve sinir hücrelerinin bölünmedikleri kabul edilir ve bu hücreler post mitotik hücreler olarak tanımlanır. Bazı hücreler ise, uzun süre sessiz kalırlar fakat uygun sinyallerle bölünmek üzere tetiklenebilirler (Kierszenbaum 2006).

Canlı vücudunda, uzun süre bölünebilen, kendini yenileyen ve aynı zamanda vücudun ihtiyacına göre farklı hücre tiplerine farklılaşabilme yeteneğine sahip olan, bu özelliklerini ise kendilerine özgü sinyaller vasıtasıyla gerçekleştiren hücreler 'kök hücreler' olarak bilinmektedir (Odorico ve ark 2001). Farklılaşmamış kök hücrelerin, diğer hücrelerden farklı olarak, başlangıçtaki hücrenin karakteristik özelliklerini taşıyan en az bir benzer hücre oluşturabilme yeteneği (self-renewal); tek bir hücreden birden fazla hücre serisine farklılaşabilme yeteneği (multi-lineage differentiation) ve bir dokunun işlevsel olarak yeniden yapılandırılması özellikleri vardır (Weissman 2000).

Kök hücreler, genlerin kontrolü altında aldıkları sinyallere göre birçok dokuya kaynaklık edebilmelerine rağmen, özelleşmiş bir hücrenin işlevini yerine getiremezler. Laboratuvar ortamında bu hücreler, uzun zaman dilimlerinde çoğaltılabilirler. Okarma ve arkadaşları tarafından, kök hücre serilerinin 300-400 döngü boyunca çoğalabildikleri gösterilmiştir (Okarma ve ark 1999). Bu sınırsız bölünme yetenekleri telomeraz enzim aktivitesi sonucunda oluşmaktadır. Bu enzim, doğrusal kromozomların ucunda bulunan, tekrarlanan 'TTAGGG' DNA dizileridir ve telomerlerin kısalmasını önlemektedir. Telomerler ne kadar uzun olursa, hücrelerin bölünme kapasitesi de o kadar fazla olur. Bir hücrede telomeraz ne kadar aktifse telomer uzunluğu da o kadar korunabiliyor demektir. Kök hücrelerde de çok aktif telomeraz enzim aktivitesi ve buna bağlı uzun telomer zinciri vardır. Bu nedenle, kök hücreler çok uzun sınırsız bölünme yetenekleri ile kendilerini kopyalarlar. İnsan germ, tümör (Aragona ve ark 2000), embriyonik (Hoffman ve ark 2005) 15 ve erişkin kök hücre (Tam ve ark 2007) serilerinde yüksek telomeraz enzim aktivitesi bulunmuştur. Ondokuzuncu yüzyıldan bu yana gelişim gösteren klonlama teknolojisindeki ilerlemeler devam ederken, kök hücreler hakkındaki çalışmalar da aynı şekilde gelişim göstermiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda, bir dokudan elde edilen kök hücrelerin, uygun ortam şartlarında, uygun uyarılarla farklı doku hücrelerine dönüşebilme yetenekleri gösterilmiştir. Bu kavram plastisite (transdiferansiyasyon) olarak tanımlanmıştır (Vescovi ve ark 2002). Kök hücreler, totipotent, pluripotent ve multipotent olmak üzere 3 grup altında tanımlanmaktadır (Weissman 2002). Sperm ve oositin fertilizasyon sonucu birleşmesi ile oluşan zigot, vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilecek potansiyele sahip ilk embriyonik hücredir. Bu hücreye her şeyi yapabilen anlamında 'totipotent hücre' denir. Bu terim, erken embriyonik dönemdeki embriyonun, 5. gününe kadar olan tüm blastomerleri için geçerlidir. Totipotent embriyonik kök hücreler, tam ve işlev gören bir canlıyı oluşturabilecek tüm hücre tiplerine farklılaşabildikleri gibi, plasenta ve amniyon kesesi gibi embriyon dışı dokulara da farklılaşma yeteneğine sahiptirler (Tablo-1). Totipotent hücreler, gelişimin ileri evrelerinde pluripotent hücrelere dönüşebilmektedirler (Chapman ve ark 1999). Pluripotent kök hücreler, fertilizasyondan sonra, pre-implantasyonun 5. gününde oluşan blastosist aşamasındaki embriyoda bulunan hücrelerdir (Tablo-1). Blastosist; embriyon dışı tabakaları oluşturacak trofoblastik hücreler, blastosöl ve iç hücre kitlesi olmak üzere 3 yapıdan oluşmuştur. Embriyonik kök hücrelere (EKH) kaynaklık eden iç hücre kitlesinden elde edilen hücreler 'pluripotent kök hücreler' olup, gerekli ortam sağlandığında, yaklaşık 200 hücre türüne dönüşebilecek potansiyele sahiptirler. Ancak bu kök hücreler, sadece embriyoya ait bütün hücre ve dokuları oluşturacak olan ana iskeleti

meydana getirdiklerinden ve embriyon dışı tabakalara farklılaşamadıklarından dolayı, işlev gören bir organizmayı oluşturamazlar (Thomson 1998).

Bunun dışında; gastrula aşamasındaki embriyoda bulunan, her üç embriyonik germ yaprağına (ektoderm, mezoderm ve endoderm) farklılaşma yetisine sahip epiblastlar ile her bir germ yaprağını oluşturan ve her biri farklı somatik hücrelere farklılaşabilen ektoderm, mezoderm ve endoderm hücreleri de ‘pluripotent embriyonik kök hücreler’ olarak isimlendirilirler (Tablo-1). Gelişmekte olan bir organizmada, EKH’den söz etmek mümkün değildir.

‘Multipotent kök hücreler’, embriyonik gelişimin ileri evresine (fötal, prenatal, postnatal, infertil ve çocukluk dönemleri) ait hücreler olup, özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilirler (ör. hematopoetik kök hücre) ve yetişkin (dokuya özgü) kök hücrelere dönüşebilirler. Multipotent hücreler doğumla birlikte kordon kanında ve erişkin vücudunda özellikle kemik iliği ve yağ dokusunda bulunurlar. Başta kemik iliği olmak üzere vücudumuzun çeşitli organlarında ve bu organların belirli doku bölgelerinde lokalize olan, gerektiğinde kendini çoğaltıp, farklılaşabilen, kararlı haldeki kök hücrelere ‘Yetişkin Kök Hücreler’ (YKH) denir (Tablo-1). YKH, doku ya da organa özel doku bütünlüğünün devamını sağlayan kök hücrelerdir (Can 2009). Multipotent bir kök hücre olan yetişkin kök hücreleri, embriyonik kök hücreler (EKH) ve embriyonik germ hücreleriyle karşılaştırıldığında, daha düşük pluripotensiyeye, yani daha az sayıda hücre türüne farklılaşma kapasitesine sahiptirler (Chapman ve ark 1999). Bu özelliklerinden dolayı, prokürsör (öncü veya progenitör) hücre olarak isimlendirilebilirler. YKH, retina, akciğer, kalp kası, iskelet kası, barsaklar, böbrek, dalak, kemik iliği, kan ve deri gibi dokuların oluşumuna katkıda bulunabilmektedirler (Grove ve ark 2004). Ayrıca, sahip oldukları asimetric hücre bölünme potansiyeliyle, hemen hemen sınırsız bir şekilde kendilerini yenileme kabiliyetine de sahiptirler (Schwab ve ark 2005). Yetişkin kök hücrelerden bulunduğu dokuya göre birden fazla türde hücreye farklılaşabilen hücrelere ‘Multipotent Yetişkin Kök Hücreler’, tek bir dokuda yerleşik sadece bir hücre tipine farklılaşabilen hücrelere ‘Unipotent Yetişkin Kök Hücreler’ denir. Örnek olarak, kas dokusundaki uydu hücreleri verilebilir.

YKH üzerindeki en kapsamlı çalışmalar, immun sistem ve kan yapımını sağlayan ‘hematopoetik kök hücreler’ üzerinde gerçekleştirilmiştir (Masson ve ark 2004). Hematopoetik progenitör hücre kaynağı olarak kemik iliği, periferik kan ve göbek kordonu kullanılmaktadır (Cuneo ve ark 2004). Kemik iliği, hematopoetik ve mezenkimal kök

hücrelerine (MKH) diferansiye olma potansiyeline sahip olan, stromal hücrelerin yapımını da üstlenmektedir (Masson ve ark 2004).

MKH veya kemik iliği stromal hücreleri olarak bilinen fibroblast koloni formları, ilk olarak 1974 yılında tanımlanmışlardır. Bunu takiben 1999 yılında bu hücreler, çoğalma faktörleri kullanılarak in vitro kültürlerde saflaştırıp üretilerek osteoblast, kondrosit ve adipositler elde edilmiştir (Vats ve ark 2005). Yapılan çalışmalarda MKH'in, kemik, kas ve diğer dokuların onarımı için mutlaka gerekli olduğu tespit edilmiştir (Chapman ve ark 1999).

İnsanda gelişimin ikinci haftasının başında epiblast tabakasından köken alan ve ilk kez dördüncü haftanın başında vitellus kesesi duvarında gözlenen kök hücrelere ise 'Primordiyal Germ Hücreleri' denir. Bu hücreler kadında oositlerin öncüsü olan oogonyumları; erkekte spermatozoonların öncüsü olan spermatogonyumları oluştururlar (Can 2009).

'Embriyonik Germ Hücreleri' ise primordiyal germ hücrelerinden köken alan pluripotent kök hücrelerdir. 5-9 haftalık fetusun gonadal kıvrım ve mezenter bölgesindeki primordiyal germ hücrelerinin kültürü ile elde edilirler. İlk olarak farede gözlenen bu hücreler insanlarda da gösterilmiştir. Germ hücrelerinin diabet, ürolojik ve nörolojik sorunlarda tıbbi tedavide kullanılması için çalışmalar yapılmaktadır (Kerr ve ark 2006).

Spontan olarak sonlanmış ya da ebeveynlerin izniyle yasal ve sistemli olarak sonlandırılmış gebeliklerdeki fetüslerden elde edilebilen, çoğalma ve farklılaşma yeteneklerine sahip, sınırlı sayıdaki hücrelere 'Fetüs Kök Hücreleri' denir. Bu gruptaki kök hücrelere örnek olarak; amniyon sıvısındaki kök hücreler, plasenta kaynaklı kök hücreler ve göbek kordonu stroması kaynaklı kök hücreler verilebilir (Can 2009).

Son yıllarda kök hücre araştırmalarında çığır niteliğinde olabilecek bir gelişme yaşanmıştır. 2006 yılında Takahashi ve Yamanaka adlı araştırmacılar tarafından EKH'e benzeyen pluripotent kök hücre özelliği kazandırılmış 'Yeniden Programlanmış Somatik Hücre' anlamına gelen uyarılmış pluripotent kök hücreleri keşfedilmiştir. Yeniden programlanma, belirli genlerin ifadesinden sorumlu transkripsiyon faktörlerinin somatik hücreye aktarılması prensibine dayanmaktadır (Jaenisch 2009).

1.5.2. Kök Hücre Araştırmalarının Tarihçesi

Transplantasyon düşüncesi, tarih boyunca mitolojide yer alan ve her biri xenotransplantasyon örneği olan sfenkslerin, deniz kızlarının ve kantaronların örneğinde

hayata geçmiştir. Mitolojide, ateşi tanrılardan çalarak insanlığa hediye etmesi üzerine, Zeus tarafından cezalandırılan ‘Prometheus’un hikayesi’ de buna bir örnektir. Zeus tarafından, Olimpos dağında bir kayaya bağlanarak karaciğerinin her gün bir kartal tarafından yenmesi şeklinde bir cezaya çarptırılan Prometheus’un karaciğeri, her gün kendisini yenilemektedir. Bu, karaciğer hücresinin rejenerasyon yeteneği ve dolayısı ile kök hücre kavramını ortaya koyan ilk hikâyedir.

Bugünün kök hücre tedavisi üzerine dünyada belki de ilk çalışmaları yapan, insan ömrünü uzatmanın yolunun, doğum sonrası atılan plasentalarda, kordon hücrelerinde olduğunu söyleyen araştırmacı Prof. Dr. Süreyya Tahsin Aygün’dür. 1950-1960’lı yıllarda kendisi hayvanlarda fetal greftler ve kordon kanı greftleri ile çeşitli hastalıkların tedavisinde araştırmalar yaptı ve bu araştırmalarını Almanca tıp dergilerinde yayınladı (Şahin 2005, Saydam 2005, Omay 2005).

1878 yılında ilk kez, memeli yumurtalarını vücut dışında fertilize etme girişimleri başlatıldı (Trounson ve ark 2000).

1959’da, tavşanlarda yavruyla sonuçlanan ilk başarılı in vitro fertilizasyon (IVF) çalışması gerçekleşti (Trounson ve ark 2000).

1960’da, farelerde teratokarsinomların embriyonik germ hücrelerinden kaynaklandığı, gösterildi (Friedrich ve ark. 1983, Kleinsmith ve ark 1964).

1968’de Edwards ve Bavister, in vitro olarak ilk kez insan yumurtasını fertilize ettiler (Trounson ve ark 2000).

1970’li yıllarda kültürde kök hücreler, embriyonik gelişmeyi göstermek için çoğaltıldı.

1975’de erken memeli gelişiminin incelenmesinde, teratoma ve teratokarsinomlar model sistem olarak kullanılmaya başlanmıştır (Martin ve ark 1975).

1978’de ilk in vitro fertilizasyon bebeği, Louise Brown İngiltere’de doğdu (Trounson ve ark 2000).

1981’de, implantasyonun son evresindeki fare embriyolarının pluripotent hücreler içerdiği tespit edilmiş ancak bu hücrelerin in vitro ortamda kültüre etme girişimleri başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Embriyo gelişimi için, hücre hatlarının kullanılması çalışmalarındaki in vitro sistemler, in vivo koşullarda oluşturulan teratokarsinomlardan sağlanabilmektedir. Bu teratokarsinom hücre hatlarının, pluripotent embriyonik kök hücrelerle pek çok morfolojik, biyokimyasal ve immünolojik özellikleri paylaştığı fakat kültüre edilme girişimlerinde transformasyona ve karyotipik değişikliklere uğradığının belirlendiği bildirilmektedir (Downing ve ark 2004).

1981’de, teratokarsinom hücre hatları konusunda edinilen deneyimler neticesinde, implantasyonun son evresindeki embriyonların ektopik bölgelere 20 transferinin pluripotent kök hücreleri içeren teratomlara neden olduğu ortaya konuldu (Downing ve ark 2004).

1981’de Evans, Kaufman ve Martin laboratuarda ilk kez fare embriyonik kök hücrelerini blastosistlerin ‘iç hücre grubu’ndan elde ettiler ve kültürde çoğaltmayı başardılar (Martin 1981, Evans ve ark 1981).

1989’da Pera ve arkadaşları, her 3 germ tabakasından insan embriyonal karsinom hücre dizilerini elde ettiler (Pera ve ark 1989).

1994’de in vitro fertilizasyon için gönüllülerce verilen örneklerden insan blastosistleri elde edildi ve kültürde 2 pasaj sağlandı (Bongsa ve ark 1994).

1995-1996’da hayvanlarda ilk kez in vitro embriyonal kök hücre sağlandı (Thomson vd. 1996, Trounson ve ark 2000).

1998’de Wisconsin-Madison Üniversitesinden James Thomson ve arkadaşları, infertilite tedavisi gören çiftlerden normal insan blastosistlerinin iç hücre grubundan insan embriyonik kök hücrelerini ilk kez elde ettiler ve kültürde çoğaltmayı başardılar (Thomson ve ark 1998). Aynı zamanda, Johns Hopkins Üniversitesinden John Gearhart, fetal gonadal dokulardaki izole bir grup hücreden insan embriyonik germ hücrelerini elde etti ve bu hücreleri ‘primordial germ hücreleri’ olarak adlandırdı. Bu hücreler, yumurta ve spermi oluşturmak üzere görevliydi.

2000’de, insan embriyonik kök hücrelerinin pluripotent olduğu anlaşıldı. Sonraki yıllarda daha farklı yöntemlerle insan embriyosundan pluripotent kök hücre elde edilmesi başarıldı. Artık bu hücrelerin gerçekten de kalp, pankreas ve sinir sistemi gibi doku ve organların yerini alabileceği kanıtlanmıştır. Transplantasyon amaçlı pankreatik ada hücreleri, dopamin salgılayan nöronlar, kalp kası hücreleri gibi insan dokuları yapmaya yönelik yöntemler geliştirilmektedir.

2006’da bir grup Japon araştırmacı tarafından, yeniden programlanmış anlamına gelen, uyarılmış pluripotent kök hücreleri üretildi (Takahashi ve ark 2007).

2008’de yapılan kök hücre çalışmaları sonucunda nörolojik hastalıklarda kök hücre çalışmalarının etkili ve güvenli bir tedavi metodu olduğu belirtilmiştir (Deda 2008).

2009’da yapılan çalışmada, aortokoronar baypas ile eş zamanlı kemik iliğinden elde edilen otolog kök hücrelerin miyokarda direkt enjeksiyonu uzun dönem sonuçları göz önüne alındığında güvenli olduğu ve hastaların tedavisine olumlu katkıları bulunduğu açıklanmıştır (Yerebakan ve ark 2009).

2010'da yapılan çalışmalarda, otolog retina pigment epiteli transplantasyonunda embriyonik kök hücreler, kemik iliği kaynaklı kök hücreler, göbek kordonu kaynaklı kök hücrelerin kullanıldığı ve başarılı sonuçlar alındığı belirtilmiştir (Da Cruz ve ark 2010).

2011 'de MKH'in, çeşitli kıkırdak hastalıklarında hasarlı dokuların onarılması için ve doku blokları elde edilmesinde doku mühendisliği için ideal hücre tipi olduğu bildirilmiştir (Akgün ve ark 2011).

2012'de fare modelleri ile yapılan çalışmalar sonucunda tanımlanan yeni moleküler belirteçler lösemi hastalarının tanısı ve prognozunu belirlemede kullanılabilecek bilgi ve bulgular verdiği bildirilmiştir (Terzi ve ark 2012).

2013'de gelişen gen teknolojileri ile, ökaryot hücreye gen aktarımı mümkün ve bu teknolojiler ile hücrede istenilen genlerin aktiflenmesi veya susturulmasının olası olduğu açıklanmıştır. Uygun ortam sağlandığında normalde kapalı olan bazı genlerin aktif formlarının hücre çekirdeğine aktarılması ile farklı bir insan hücresinden indüklenmiş pluripotent kök hücreler elde edilmekte olduğu bildirilmiştir (Çoban ve ark 2013).

1.5.3. Kök Hücrelerin Sınıflaması

Kök hücreleri sınıflamak için kullanılan terminolojiler şaşırtıcı ve karmaşık olabilir. Temel olarak 2 çeşit sınıflama kullanılabilir. Bunlardan en sık kullanılanı, kök hücrenin köken aldığı dokuya dayanan sınıflamadır. İkinci sınıflama daha çok fonksiyonel olan ve kök hücrelerin potansiyel gelişimlerini temel alan sınıflamadır (Can 2008).

İsim	Hücre Tipi (Yerleşim)	Farklanma Etkinliği	Farklanma Yönü
EKH	Morula aşamasındaki hücreler	Totipotent	Embriyon ve embriyon dışı tabakalar
EKH	Blastosist aşamasındaki iç hücre kitlesi hücreleri	Pluripotent	Embriyon gövdesi (tüm somatik ve germ hücreleri)
EKH	Gastrula aşamasındaki epiblast hücreleri	Pluripotent	Endoderm, mezoderm ve ektoderm hücreleri
EKH	Ektoderm, mezoderm ve endoderm hücreleri	Pluripotent	Tüm somatik hücreler
YKH	Özgün doku hücreleri	Multipotent	Hücresinin bulunduğu dokuya göre bir veya daha fazla türde hücre
YKH	Bir dokudaki yerleşik hücreler	Unipotent	Bir hücre tipi

Tablo1.1. EKH*: Embriyon kök hücreler; YKH** : Yetişkin kök hücreleri;(Can A 2008).

1.5.3.1. Kök Hücrelerin Farklılaşma Potansiyeline göre Sınıflandırılması

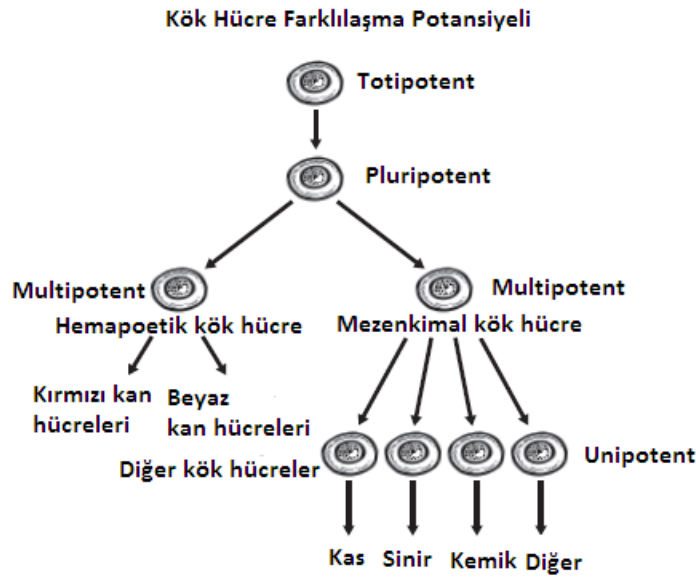
Totipotent kök hücreler;

Oositin döllenmesinden sonraki yaklaşık 4. güne kadar oluşan hücre kitlesidir. Zigot, en önemli ve ilk totipotent hücre olarak kabul edilir. Totipotent hücreler farklılaşma kapasitesine bakıldığında, vücuttaki tüm hücre ve dokulara farklılaşabilen hücre tipidir. Bu hücreler, embriyonik ve embriyonik olmayan dokulara farklılaşabilirler.

Pluripotent kök hücreler; Embriyonik olmayan hücelere farklılaşamazlar. Bu özellikleriyle totipotent hücelerden ayrılırlar. Bu hüceler, ektoderm, mezoderm ve endorderme ait tüm hücelere farklılaşabilirler. Fetusun gonadal hüceleri, pluripotent hücelerdir.

Multipotent kök hüceler; bu hücelerin farklılaşma yetenekleri kısıtlıdır. Kendi grubundaki hücre ve doku gruplarına farklılaşabilirler. Hematopoetik hücelerin sadece yine kan kökenli hücelere farklılaşması buna örnektir.

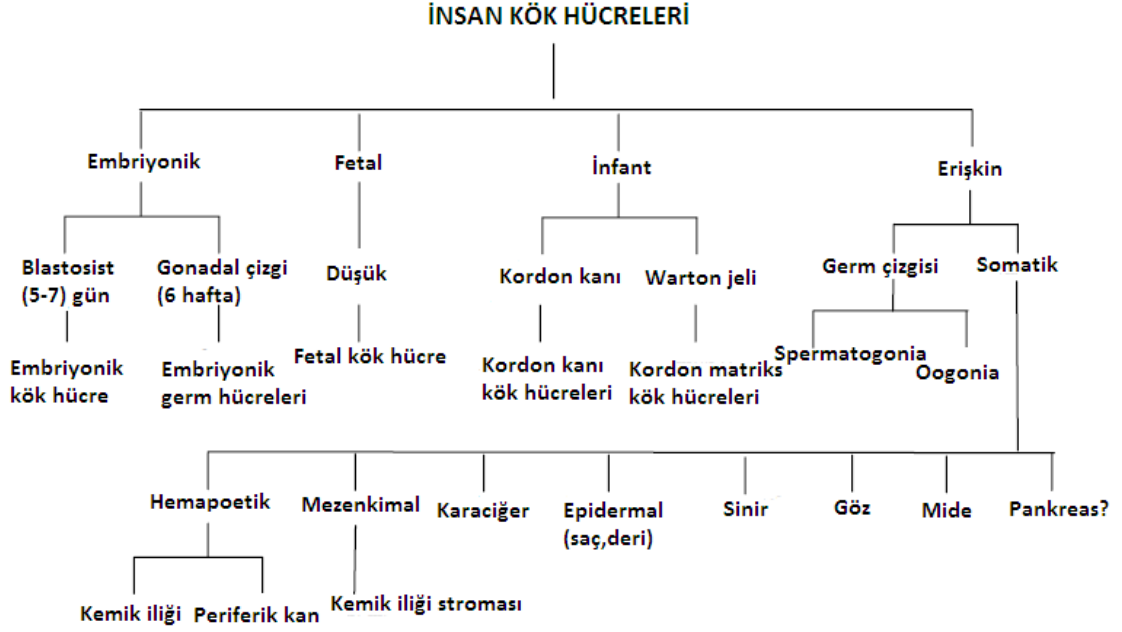
Unipotent kök hüceler; sadece bir hücre grubuna farklılaşabilen hücelerdir. Kas dokusundaki uydu hüceler buna örnektir.



Şekil 1. 5. Kök hücelerin farklılaşma potansiyeli (Alwattar ve ark 2011).

1.5.3.2. Kök Hücrenin Kaynağı Olan Dokuya Göre Sınıflama

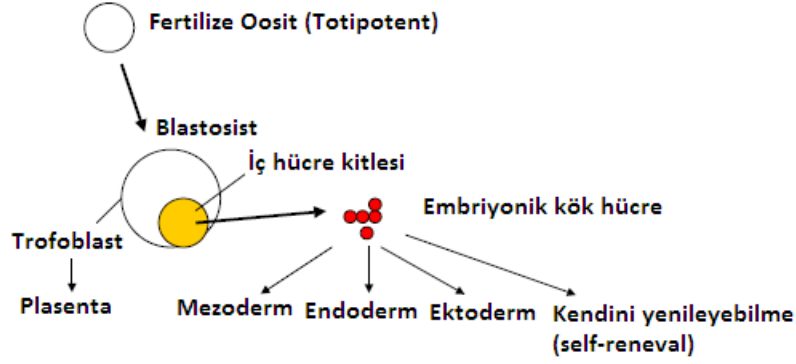
Kök hüceler kaynaklandıkları dokuya göre 4 ana sınıfa ayrılır: embriyonik kök hüceler, erişkin kök hüceleri, fetal kök hüceler, umbilikal kord kök hüceleri. Bu ana gruplar kendi içlerinde alt gruplara ayrılarak isimlendirilirler. Fetal ve erişkin kök hücelerinin embriyonik kök hücelerden geliştiğini; erişkin organlarında görülen kök hücelerin, bu embriyonik kök hücelerin kalıntıları olduğunu ve doku yaralanmalarının onarımında bu kalıntı kök hücelerin görev yaptığını düşünenler de vardır (Bongso ve ark 2005).



Şekil 1.6. Kök hücrelerin kaynağı olan dokuya göre sınıflandırılması (Bongso ve ark 2005).

Embriyonik Kök Hücreler

Memeli embriyoları, bütün omurgalıların embriyoları gibi birbirine benzer görünümdeki blastula (blastosit), gastrula ve nörula evrelerini geçirir. Zigot oluştuktan sonra embriyonik olan ve embriyonik olmayan hücreler blastula evresinde ortaya çıkar. Böylelikle iç hücre topluluğu ve trofoblastlar olmak üzere 2 çeşit hücre tipi oluşur. Embriyonik dokular, iç hücre topluluğundan oluşurken, trofoblastlar uterusu implantasyonda rol oynayan plasenta ve koryonik membrana farklılaşır. Embriyonun gelişiminde en önemli özellik hücre-hücre kontaklarıdır. Bu şekilde hücreler birbirleriyle haberleşir, koordine olur ve farklılaşır.



Şekil 1.7. Embriyonik kök hücre gelişimi (Friel ve ark 2005).

Embriyonik indüksiyonda denilen embriyonik gelişim; primer, sekonder ve tersiyer indüksiyon olmak üzere 3 ana evrede biçimlenir.

Primer indüksiyon; gastrülasyon ve hücrelerin ektoderm, mezoderm ve endoderm olmak üzere vücuttaki tüm dokuların kaynağı olan 3 germ yaprağının oluştuğu koordineli hareketi kapsar.

Sekonder indüksiyon; oluşan üç germ tabakasının etkileşimiyle nörolasyonun yani beyin, spinal kord ve periferik sinirlerin oluştuğu aşamayı kapsar.

Tersiyer indüksiyon; organogenez, yani vücuttaki tüm organların oluştuğu aşamayı kapsar (Panno 2005).

Memelilerde zigot, 2 hücre, 4 hücre, 8 hücre ve morula evreleri totipotent hücreleri içerir. Puliripotent embriyonik kök hücreler iç tabaka hücrelerinden 5 veya 6 günlük blastosistten gelişirler. Embriyogenez süresince iç tabaka hücreleri, epiblast ve hipoblast olmak üzere iki tabakaya ayrılır. Hipoblast yolk-sac kesesini oluştururken, epiblast tabakası üç germ yaprağını oluşturur (Bongso ve ark 2005).

Araştırmacılar embriyonik kök hücrelerin farklılaşabilme özelliğini ilk olarak, 1980' li yıllarda keşfetmişlerdir. Bir farenin blastosistlerini, diğer bir farenin embriyonik kavitesine transfer ederek, transfer edilen hücrelerden birçok doku ve organın geliştiğini gözlemlemişlerdir

İnsan embriyonik kök hücreleri, puliripotent ve farklılaşmamış hücrelerin belirteçleri olan; CD9, CD24, Oktamer bağlayıcı protein (oct-4), Nanog, ALP, LIN 28, Thy-1, SSEA-3 ve 4 antijenlerini sunarlar (Ural 2006).

Fetal Kök Hücreleri

Kök hücreler, düşük yapan kadınlardan alınan hücrelerden de elde edilebilirler. Bu kök hücreler, sınırsız sayıda bölünme ve kendilerini yenileme özelliğine sahiptir. Bölünerek çoğalan bu hücreler, aynı kendileri gibi hücreler oluştururlar. Embriyodan elde edilen bu hücreler pluripotent yapıdadır, yani gerekli koşullar sağlandığında kas, sinir, karaciğer gibi her hücre tipine dönüşebilirler. Bu hücreler tekrar farklılanarak kromozom sayılarını yarıya indirip yumurta ve sperm hücresine dönüşebilirler. Ancak tek başlarına yeni bir organizma oluşturamazlar çünkü, totipotent değildirler.

Rahim içerisinde biraz daha büyümüş olan organizmada, ileride sperm ve yumurta olacak üreme hücreleri de kök hücresi olarak kullanılabilirler. Bu hücreler, kültür ortamında tüm hücre türlerine dönüşebilirler. Yani, embriyonik kök hücrelerine benzer davranış gösterirler. Bu nedenle, bilimsel çalışmalarda embriyonik kök hücrelerine alternatif olarak kullanılmaktadır. Ancak fetustan elde edilen bu kök hücreler, gelişimin daha geç safhasında olduğu için, çoğalma potansiyeli daha düşüktür. Düşük yapan kadınlardan elde edilen fetuslar veya çeşitli sakatlıklar nedeniyle gebeliğe son verilip alınan fetuslar, bu tür kök hücreler için kaynak oluşturmaktadır (Şenel 2002).

Fetal kök hücre kullanımı yeni değildir. Kordon kanı hematopoetik kök hücreleri yaklaşık son 20 yıldır kullanılmaktadır. Ayrıca Parkinson hastalığının tedavinde kullanılan fetal nöral dokular ile hastalığın tedavisinde bazı klinik ilerlemeler kaydedilmiştir. Fetal kök hücreler multipotent hücrelerdir (O'Donoghue ve ark 2004).

Infant Kök Hücreler

Kordon Kanı Kök Hücreleri:

Kordon kanında, kemik iliği ve erişkin periferik kanından farklı olarak dolaşımda olan kök hücreler ve hücre elemanları bulunur. Kordon kanı, kemik iliği ile karşılaştırıldığında daha düşük Graft Versus Host reaksiyonu gösterir. Bunun sebebi, hücreler tarafından sentezlenen artmış IL-10 seviyeleri ve azalmış β -2-mikroglobulin düzeyleridir.

Kordon kanı hücrelerinin, karaciğer ve nöronlara dönüştüğü görülerek, multipotent oldukları gösterilmiştir. Kordon kanından kaynaklanan matriks hücrelerinin yararlı kök hücreler olduğu gösterildikten sonra, ilgiler kordon kanına yönelmiş ve kordon kanı kök

hücreleri daha sonra kullanılmak üzere depolanmaya başlamıştır. Bu matriks Warton Jeli olarak adlandırılmış ve mezenkimal kök hücre izolasyonunda kullanılmıştır. Kordon kanı hücreleri yüksek telomeraz aktivitesi gösterirler ve tipik kök hücrelere benzer c-kit gibi antijenler taşırlar (Bongso ve ark 2005).

Erişkin Kök hücreleri

Erişkin kök hücre olarak adlandırılan bir grup hücre, bu hücreleri destekleyen hücreler, mikroçevre olarak adlandırılan bir bölgede ve erişkinde kemik iliği, yağ dokusu, kalp, böbrek, beyin, deri, göz, gastrointestinal sistem, karaciğer, pankreas, akciğer, meme, over, prostat ve testis gibi organlarda tespit edilmiştir. Bunlar, özel mikroçevrelerinde yüksek telomeraz aktivitesine sahip oldukları halde embriyonel kök hücrelerle karşılaştırıldıklarında, daha az farklılaşma kapasitesine sahiptirler ve daha kısıtlı sayıda progenitör hücre oluşturabilirler. Bu hücreler, sayıca çoğalabilirler ya da daha olgun veya dokuya özel hücre tiplerine farklılaşabilirler (Ural 2006).

Mezenkimal Kök Hücreler;

MKH ilk olarak 1966 yılında, Friedenstein ve arkadaşlarının kemik iliği örneklerinin in vitro ortamda fetal sığır serumu katkılı medium ile yapılan kültüründe, kültür kabına yapışan hücrelerin, yapışmayan hücrelerden ayrılması ile tanımlanmıştır. Kültür kabına yapışma ve koloni oluşturma kabiliyetinde olan mezenkimal kök hücreler, kültür ortamında çoğalma yeteneği yüksek, mezenkimal ve diğer embriyonik tabakalara ait özel hücrelere dönüşme kabiliyetinde olan hücrelerdir. Bu çalışmalar insan MKH'nin tümünün osteojenik özellik gösterdiği, diğer özelliklerinin ise kültür sırasında kaybolduğu bildirilmiştir (Attar 2004).

MKH kemik iliğinin dışında, yağ dokuda, periosteumda, sinovyal zarda, kasta, deride, kıl kökünde, periodontal ligamentlerde, dişte, kılcal damar duvarında, plasentada, göbek kordon kanında ve kanda bulunmaktadır. Dokularda bulunan MKH'lerin görevi tam anlamıyla açıklanamasa da dokuların homeostazında görev aldığı düşünülmektedir (Ulloa-Montoya ve ark 2005).

Kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücreler, sıklıkla iliak kanattan alınan örneklerden elde edilir (Digirolamo ve ark 1999). Femur ve tibia gibi uzun kemiklerin medüller kanalından (Murphy ve ark 2002) ve vertebra korpuslarından da elde edilebilir (D'Ippolito ve ark 1999). Kemik iliğindeki mezenkimal kök hücrelerin sayıları, doğum sonrasında ortaya çıktıktan sonra yaşın ilerlemesi ile erişkin dönemde giderek azalır.

Yenidoğanda aspiratlardaki kök hücre oranı 1/ 10.000 iken, 80 yaşındaki bireyde 1/2.000.000 oranına kadar azalır (Fibbe 2002).

1.6. Kanser Kök Hücreleri

Kök hücreler, homeostatik süreçlerin anahtarlarıdır. Birçok durumda, hatalı veya çalışmayan organ ve dokuların yerine konmak üzere çözüm olarak düşünülmektedir. Ancak, kök hücrelerin hastalıklarda da önemli rolü olduğuna dair bulgular artmaktadır. En son hücre çoğalması ve farklılaşması gibi homeostatik kontrollere yanıt vermeyen kanserlerde kök hücreleri suçlanmıştır. Kanser, uzun bir süre çoğalmayı düzenleyen sinyallere yanıtı bozan mutasyonlar sonucu gelişen bir hastalık olarak görülmüştür. Kanser kök hücreleri ile ilgili ikinci önemli konu, az ve çok sayıda olmaları ile bağıntısız olarak kökenleridir. Karsinogenez için 'kanser kök hücre hipotezi' 2006 yılında tanımlanmıştır. Bu hipoteze göre kanser kök hücre hastalığıdır ve malign kök hücreler tümörijenik aktivitenin merkezinde yer alırlar. Bu hücreler kendilerini yenileme ve özgün nesilleri içerisinde değişik hücre türlerine diferansiye olabilme yetisine sahiptirler (Saıgal ve ark 2011).

1.6.1. Ovaryumdaki Mezankimal Kök Hücrelerin Kanserleşmesi

Kanser kök hücreleri normal kök hücrelerdeki genetik değişimlerden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle kanser kök hücreleri tanımlamak için, tümör içinde bulunan ve dokunun orjininde ekspresse edilen kök hücre markerlerinin karakterizasyonu gerekmektedir (Burgos ve ark 2012).

Mezenkimal kök hücreler (MSC), pluripotent hücrelerdir ve çok çeşitli bağ doku hücre tiplerine dönüşürler. Çok sayıda kemik iliği kök hücreleri tümör bölgelerine toplanırlar ve ovaryum kanser hücrelerinde invazyon, metastaz ve kemoterapi direncine katılırlar. MKH'nin, yumurtalık kanseri gelişimine katkıda bulunma ihtimali bulunmaktadır. Bunu da Bone morfogenetik protein (BMP2) aracılığı ile sağlamaktadır. MKH in vivo ve in vitro yumurtalık kanser hücrelerinde bir artışa neden olmaktadır. Birçok çalışma metastatik profil edinimi ile ilgili spesifik faktörler üzerine odaklanırken, sadece birkaç çalışma mezenkimal kök hücreler ve kanser hücrelerinin etkileşimi üzerinden oluşan transkriptomik değişikliklere odaklanmıştır (Lis ve ark 2012).

2.GEREÇ VE YÖNTEM

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezi'nden elde edilen 21 adet dişi sıçan, her grupta 7 adet olmak üzere 3 gruba ayrıldı. 1. Grupta 1 aylık dişi sıçanlar, 2. Grupta 3,5 aylık dişi sıçanlar ve 3.Grupta ise, 8 aylık dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar, Ksilazin/ Rompun anestezisi altında sakrifiye edildi. Sağ ve sol ovaryumları çıkarıldı ve % 10'luk formaldehitte tespit edildi. 2 günlük tespitten sonra rutin histolojik takip yapıldı ve elde edilen parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Bu parafin kesitlere CD90 (Bioss, bs-0778R), CD105 (Bioss, bs-0579R) ve CD73 (Santa Cruz Biotechnology, sc-32299) immünohistokimyasal boyamalar kullanıldı. Bu markerlerin ovaryumlardaki ekspresyonları ve dişi ratların yaşları arasındaki ilişki değerlendirildi. Tüm laboratuvar çalışmaları N.E. Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD'nda gerçekleştirildi.

İmmünohistokimyasal Metod

İmmünohistokimya için CD73, CD90 ve CD105 primer antikorunu 1/250 oranında antikor diluent ile sulandırılarak kullanıldı.

1) Ovaryum kesitleri immünohistokimyasal boyama için 16 saat 60 C°'lik etüvde tutuldu.

2) 30'ar dakika iki saat değişim ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi.

3) Absolü, %96 ve %90'lık azalan dereceli alkol serilerinden geçirildi.

4) Endojen peroksidazı maskelemek için kesitler karanlıkta % 3'lük H₂O₂'de 5 dk bekletildi. 3 defa PBS'den geçirildi.

5) Antijenin geri dönüşümünü sağlamak için kesitler, içinde EDTA tamponu (pH=8) olan şaleye konarak mikrodalga fırında 5'er dakikalık periyotlarla 3 kere bekletildi. Mikrodalga fırından çıkarılan kesitler oda sıcaklığında 20 dakika soğumaya bırakıldı.

6) Kesitlere 20 dakika Scy Tek marka ultra block uygulandı.

7) 1/100 oranında sulandırılmış primer antikor ile bir saat inkübe edildi.

8-) 20 dakika Ultra Tek Anti-Polvalent Biotinylated sekonder antikoru uygulandı.

9) 20 dakika Ultra Tek Horseradish Peroxidase uygulandı.

10) 20 dakika kromojen (Scy Tek marka AEC Substrat System) dokulara uygulandı.
(20 ml AEC kromojen + 1 ml AEC substrat iyice karıştırıldı) Distile su ile çalkalandı.

11) 5 dakika Mayer Hematoksilen ile zıt boyama yapıldı. 3 dk çeşme suyunda yıkandı.

12)DPX Mountant (Biostatin Ready Reagents) kapama maddesi ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Tüm gruplarda uygulanan CD73, CD90 ve CD105 boyamalarının değerlendirilmesinde kesit üzerinde bulunan ovaryum dokusundaki $0,05 \text{ mm}^2$ alan içersinde (Saad ve ark 2004) tüm boya tutan ve tutmayan damarsal yapılar sayıldı. Bu sayılar daha sonra yüzde oranlarına çevrildi.

125 47 ise $100 \times 47 = 4700$

100'de kaç ? $4700 \div 125 = 37,6$ olarak hesaplandı.

Daha sonra bu yüzde değerleri üzerinden istatistiksel değerlendirmeler yapıldı.

İstatistiksel Değerlendirme

Yüzdeye dönüştürülen değerler arcsin transformasyonu yapılarak analiz edildi, devamında gruplar arasındaki farklılığa One-Way ANOVA (Tukey Testi) ile bakıldı.

3.BULGULAR

Tablo 3.1. A Grubuna ait ekspresyon değerleri, sağ ve sol ovaryumlardaki toplam damar sayısının CD73, CD90, CD105'i ekspresse eden damar sayılarına bölümü sonucu elde edilen yüzde oranları

	CD73	CD90	CD105
A1 SAĞ	125/47=37,6	40/7=17,5	19/16=84,21
A1 SOL	103/32= 31,06	89/15= 16,85	96/33=34,37
A2 SAĞ	97/38 =39,17	92/30=32,6	85/34=40
A2 SOL	120/27= 22,5	157/36=22,92	41/6=14,63
A3 SAĞ	105/36 =34,28	78/19=24,35	83/54=65,06
A3 SOL	92/23=25	87/18=20,68	69/22=31,88
A4 SAĞ	53/17=32,07	40/7=17,5	44/25=56,81
A4 SOL	106/23=21,9	69/33=47,82	67/24=35,82
A5 SAĞ	68/10= 14, 70	61/15=24,59	64/21=32,81
A5 SOL	113/27= 23, 89	107/28=26,16	101/32,9=32,57
A6 SAĞ	93/26=27,95	66/15=22,72	46/21=45,65
A6 SOL	136/35= 25, 73	86/10=11,62	108/30=27,77
A7 SAĞ	117/52,45=44,82	96/23=23,95	89/44=49,43
A7 SOL	94/34=36,17	75/15=20	91/34=37,36

Tablo 3.2. B Grubuna ait ekspresyon değerleri, sağ ve sol ovaryumlardaki toplam damar sayısının CD73, CD90, CD105'i ekspresse eden damar sayılarına bölümü sonucu elde edilen yüzde oranları

	CD 73	CD90	CD105
B1 SAĞ	115/60=52,17	87/24=27,58	102/42=41,17
B1 SOL	127/48=37,79	83/35=42,16	64/16 = 25
B2 SAĞ	87/31=35,63	34/5=14,7	76/27=35,52
B2 SOL	94/44=46,80	103/27 =26, 21	58/17=29,31
B3 SAĞ	196/86=43,87	248/83=33,46	105/45=42,85
B3 SOL	81/31=38,27	129/63=48,83	155/55=35,48
B4 SAĞ	76/14=18,42	43/12=27,9	55/16=29,09
B4 SOL	65/18=27,69	117/36=30,76	34/12=35,29
B5 SAĞ	64/12=18,75	25/7=28	37/8=21,62
B5 SOL	83/20=24,09	109/40=36,69	94/45=47,87
B6 SAĞ	67/9=13,43	54/12=22,22	66/13=19,69
B6 SOL	72/17=23,61	77/18=23,37	47/17=36,17
B7 SAĞ	58/27=46,55	22/10=45,45	50/29=58
B7 SOL	147/21=14,28	94/42=44,68	68/31=45,58

Tablo 3.3. C Grubuna ait ekspresyon değerleri, sağ ve sol ovaryumlardaki toplam damar sayısının CD73, CD90, CD105'i ekspresse eden damar sayılarına bölümü sonucu elde edilen yüzde oranları

	CD73	CD90	CD105
C1SAĞ	99/69=69,69	47/38=80,85	59/39=78
C1SOL	145/128=88,2	83/59=71,08	105/76=72,38
C2SAĞ	87/64=73,56	71/46=64,78	58/38=65,51
C2SOL	61/40=65,57	58/37=63,79	49/34=69,38
C3SAĞ	73/55=75,34	96/60=62,5	44/26=59,09
C3SOL	50/39=78	41/24=58,53	80/57=71,25
C4SAĞ	96/61=63,54	71/44=71,97	25/12=48
C4SOL	110/50=45,45	83/27=32,53	96/43=44,79
C5SAĞ	56/41=73,21	62/42=67,74	48/21=43,75
C5SOL	59/42=71,18	31/18=58,06	35/20=57,14
C6SAĞ	92/59=64,13	64/47=73,45	68/49=72,05
C6SOL	82/60=73,17	69/46=66,66	71/52=73,23
C7SAĞ	84/63=75	78/48=61,53	73/29=39,72
C7SOL	75/51=68	66/31=46,96	85/43=50,58

Tablo 3.4. Tüm gruplarda CD73 ekspresyonu, 1 ve 2 numaralı sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. $p<0,001$.

GRUP	N	Ortalama \pm SE	P=0,000	
			1	2
ASAĞ	7	33,29 \pm 3,91	33,29 ^b	
ASOL	7	26,43 \pm 2,22	26,43 ^b	
BSAĞ	7	33,14 \pm 6,34	33,14 ^b	
BSOL	7	30,43 \pm 4,41	30,43 ^b	
CSAĞ	7	78,14 \pm 2,73		78,14 ^a
CSOL	7	78,71 \pm 6,99		78,71 ^a
Toplam	42	46,69 \pm 3,96		
			,051	1,00

Tüm gruplarda CD73 (Tablo 3.4).ve CD90 (Tablo 3.5) ekspresyonu için C grubu sağ ve sol ovaryumlarında diğer grupların sağ ve sol ovaryumlarına göre istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır

Tablo 3. 5.Tüm gruplarda CD90 ekspresyonu, 1 ve 2 numaralı sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. $p<0,001$.

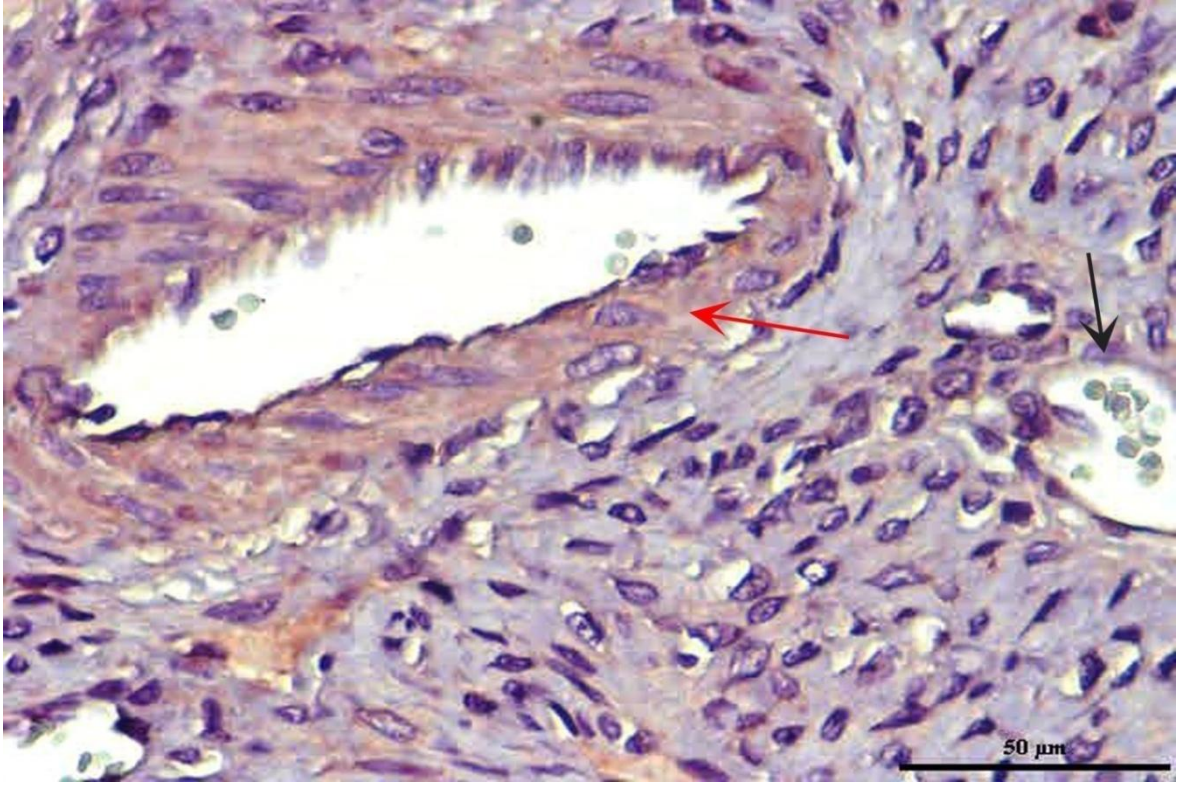
GRUP	N	Ortalama \pm SE	P=0,000	
			1	2
ASAĞ	7	22,86 \pm 2,04	22,86 ^b	
ASOL	7	23,43 \pm 4,61	23,43 ^b	
BSAĞ	7	28,43 \pm 3,87	28,43 ^b	
BSOL	7	36,43 \pm 3,93	36,43 ^b	
CSAĞ	7	75,57 \pm 3,68		60,57 ^a
CSOL	7	60,57 \pm 5,87		75,57 ^a
Toplam	42	41,21 \pm 3,5		
			,	

Tablo 3.6. Tüm gruplarda CD105 ekspresyonu, 1, 2 ve 3 numaralı sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. $p<0,001$.

GRUP	N	Ortalama \pm SE	P=0,000		
			1	2	3
ASAĞ	7	57,43 \pm 8,47		57,43 ^{a,b}	57,43 ^{a,b}
ASOL	7	30,71 \pm 3,08	30,71 ^c	36,00 ^{b,c}	
BSAĞ	7	36,00 \pm 5,61	36,00 ^{b,c}	37,00 ^{b,c}	
BSOL	7	37,00 \pm 3,28	37,00 ^{b,c}		
CSAĞ	7	62,43 \pm 7,04			62,43 ^a
CSOL	7	68,00 \pm 5,59			68,00 ^a
Toplam	42	48,60 \pm 3,17			

A grubu sağ ovaryumunda CD105 ekspresyonu, A grubu sol ovaryumundaki CD105 ekspresyonuna göre istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır. C grubu sağ ve sol ovaryumlarında CD105 ekspresyonu A grubu sağ ovaryum CD 105 ekspresyonu ile benzer ama diğer gruplarla karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık çıkmıştır (Tablo 3.6).

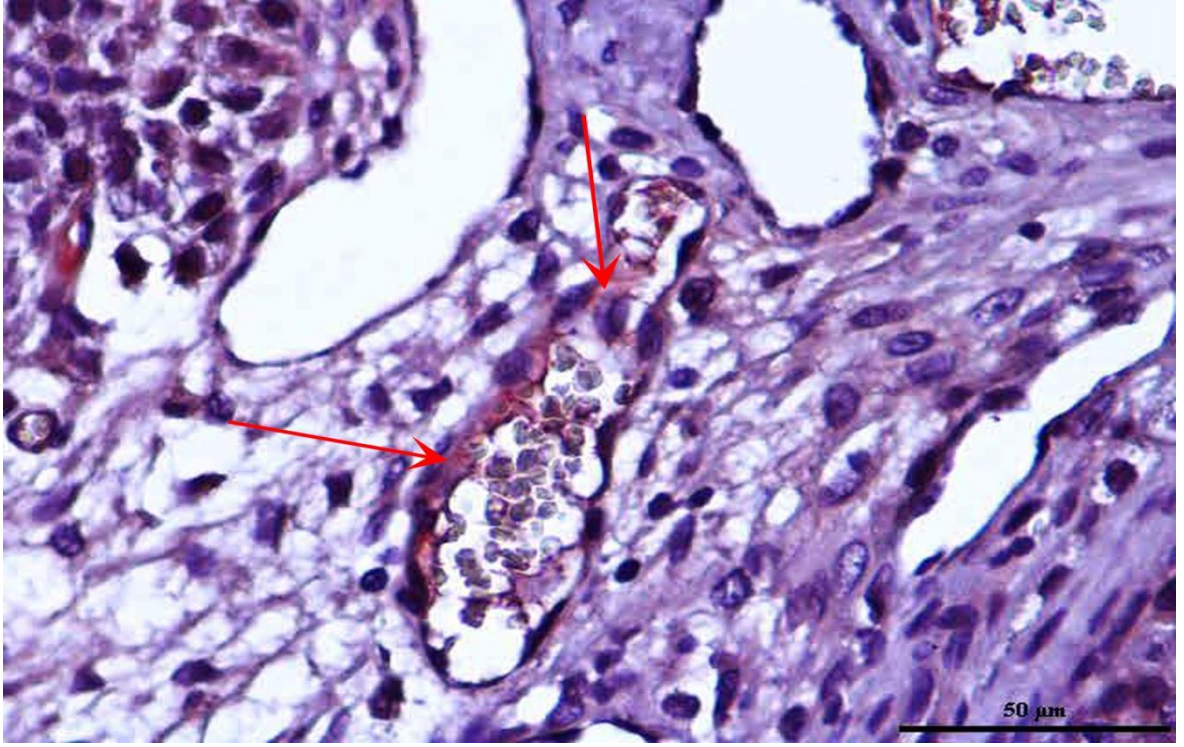
CD73, 90 ve 105 ekspresyonları venüllerde endotel hücrelerinin nükleuslarının bitiminden sitoplazması boyunca gözlenmiştir (Resim 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 3.10, 3.11, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16, 3.17, 3.18). Arteriollerde ise hem endotel hücrelerinin nükleuslarının bitiminden sitoplazması boyunca hem de tunika mediada da gözlenmiştir (Resim 3.1, 3.2, 3.12).



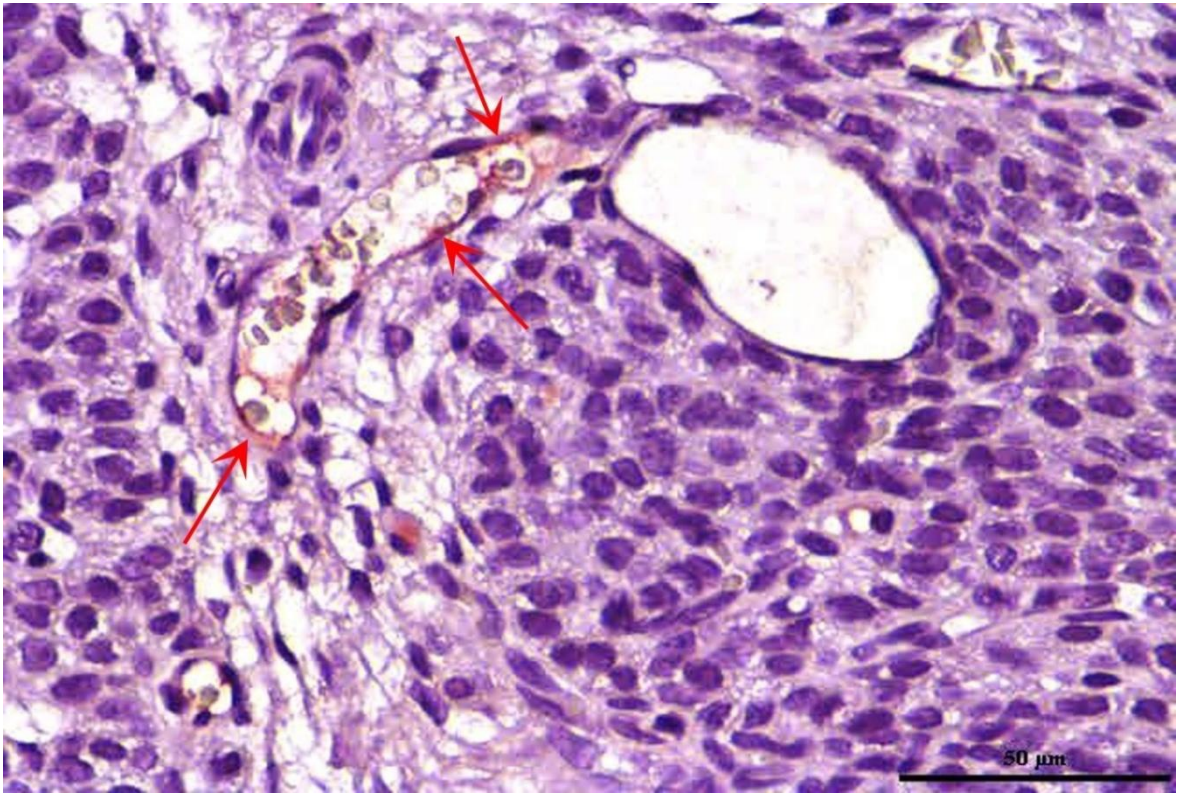
Resim 3.1. A grubu sağ ovaryuma ait bir arteriyolde CD73 ekspresyonu kırmızı okla, venülde negatif ekspresyon ise siyah okla gösterilmiştir.



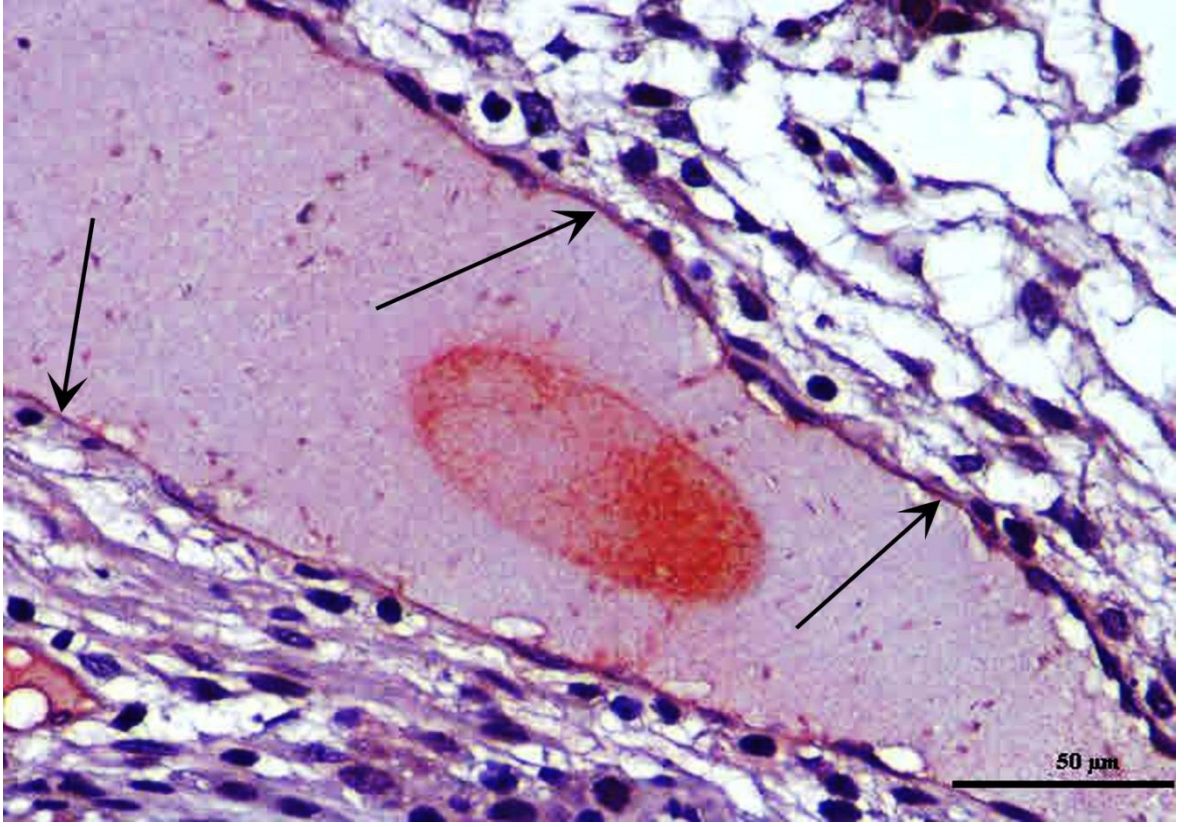
Resim 3.2. A grubu sağ ovaryumda arteriollerde CD90 ekspresyonu oklarla gösterilmiştir.



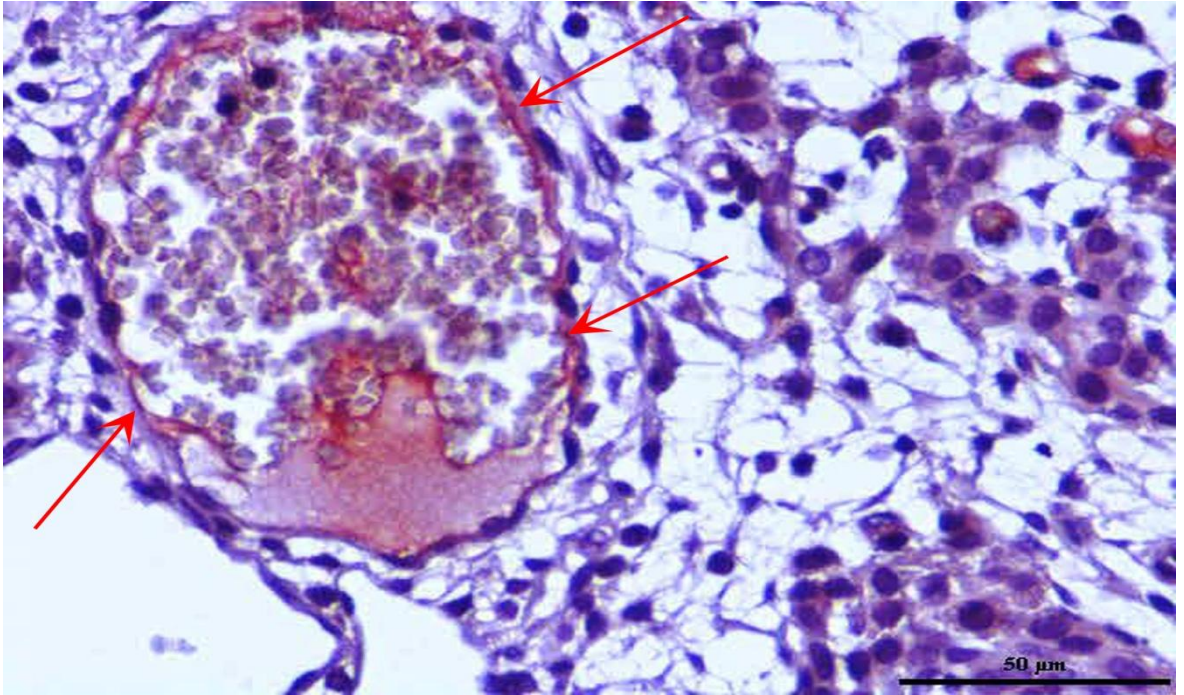
Resim 3.3. A grubuna ait sağ ovaryumda CD105'in venülde ekspresyonu kırmızı oklarla gösterilmiştir.



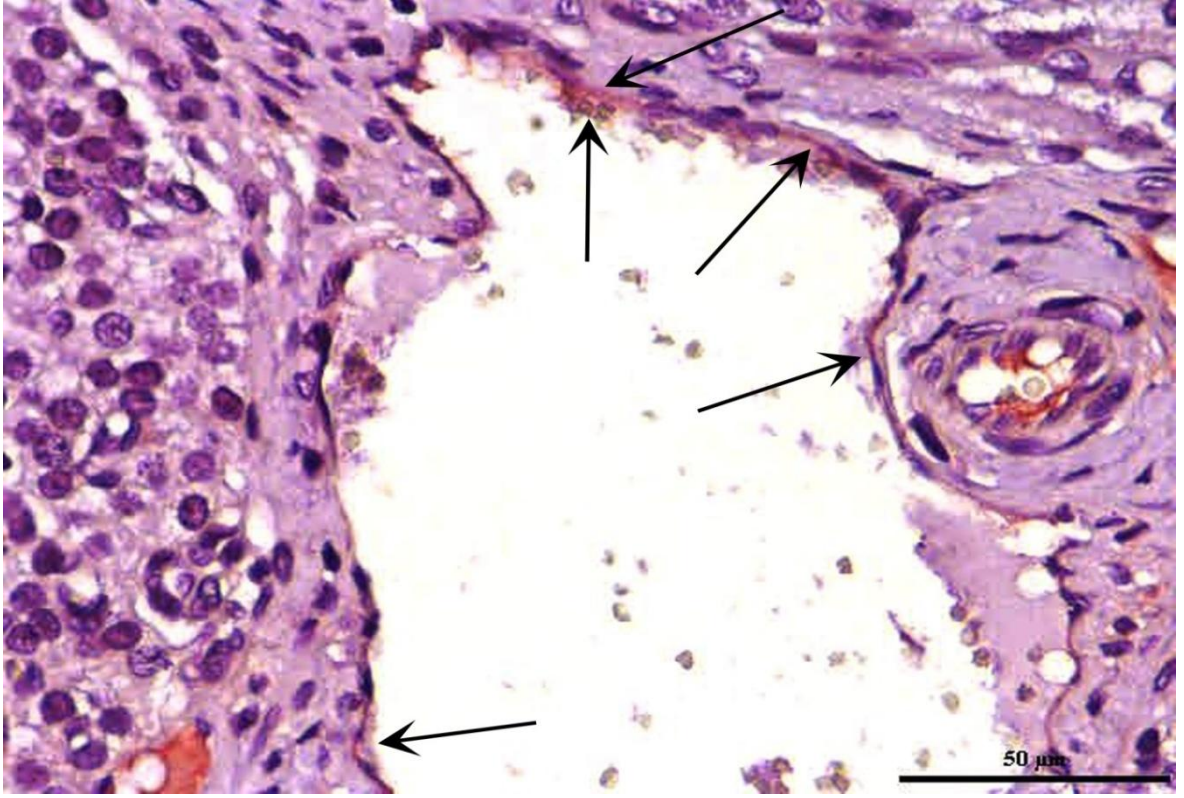
Resim 3.4. A grubuna ait sol ovaryumda CD73'ün'ün venülde ekspresyonu oklarla gösterilmiştir.



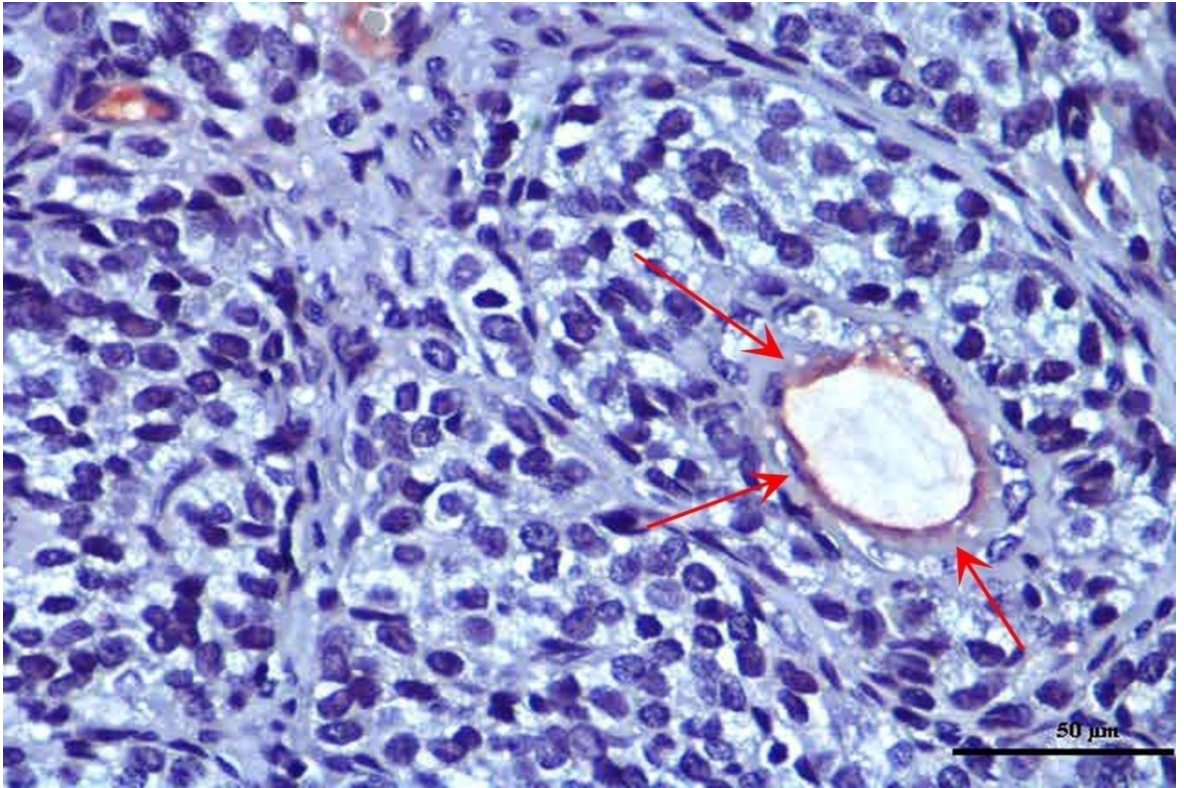
Resim 3.5. A grubuna ait sol ovaryumda CD90'ın venülde ekspresyonu oklarla gösterilmiştir.



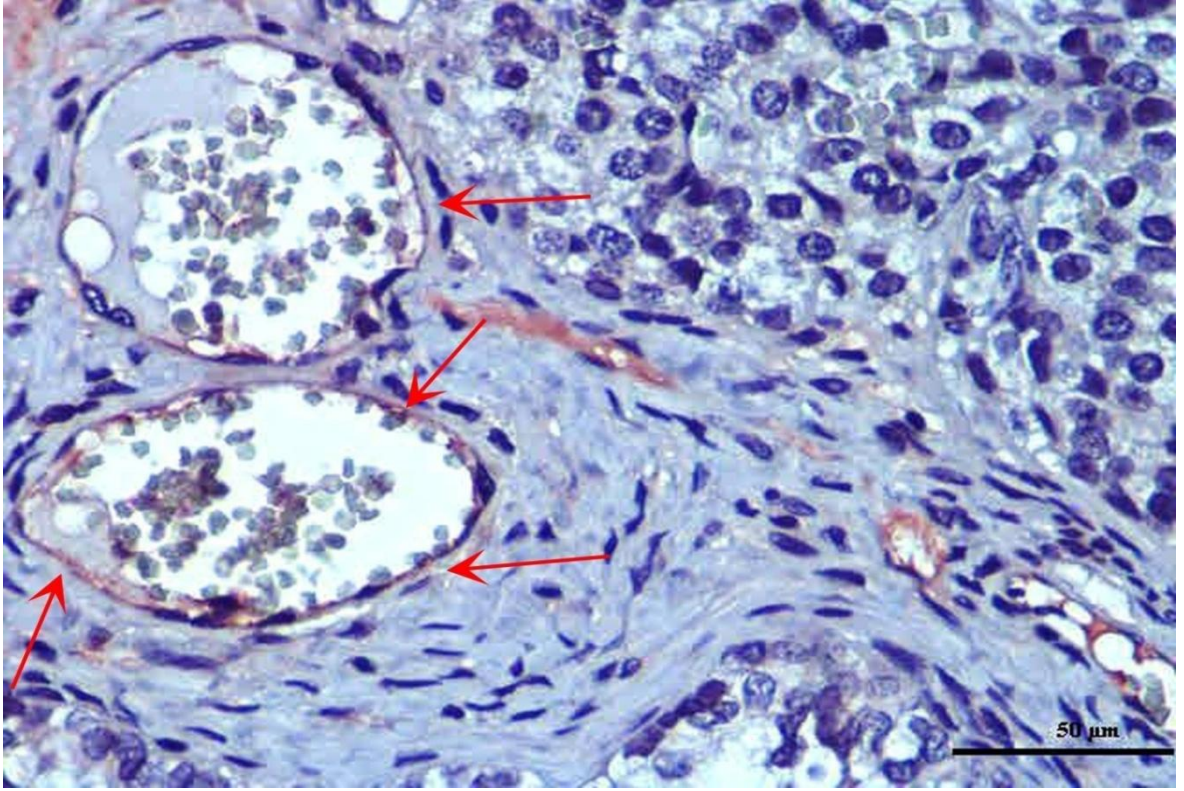
Resim 3.6. A grubu sol ovaryumlarda CD105'in venüllerde ekspresyonu oklarla gösterilmiştir.



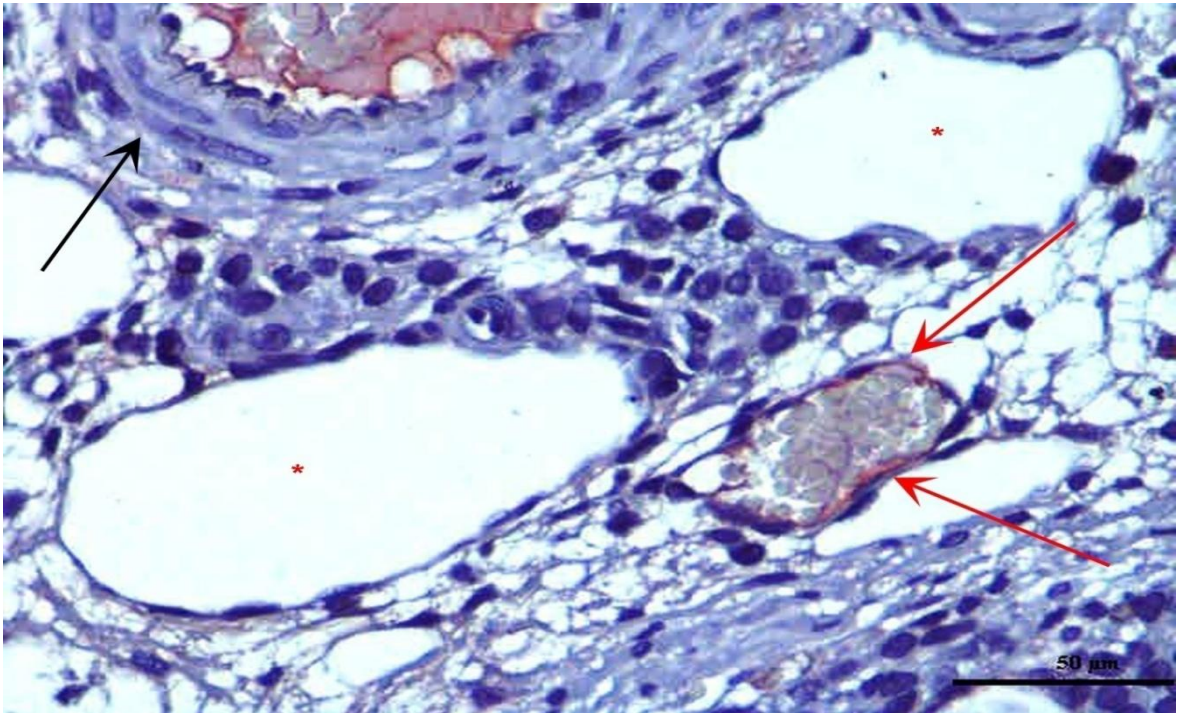
Resim 3.7. B grubu sol ovaryumda CD73 ekspresyonu oklarla gösterilmiştir.



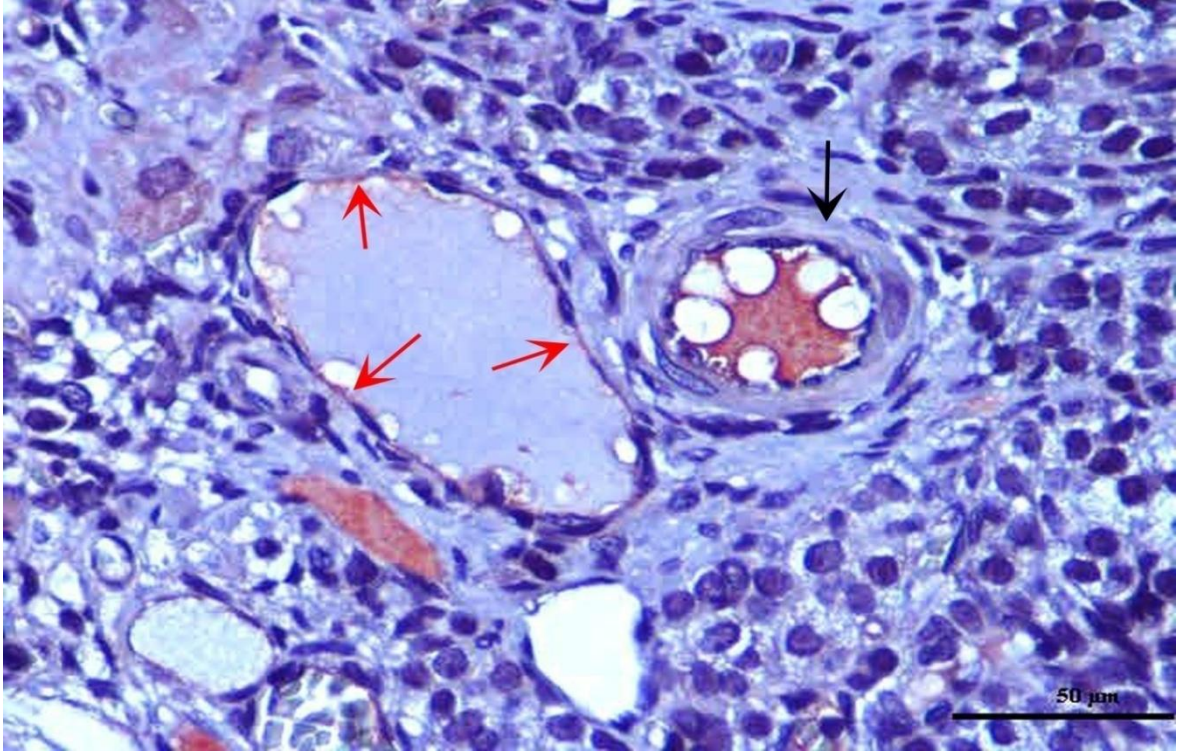
Resim 3.8. B grubu sol ovaryumda CD90 ekspresyonu oklarla gösterilmiştir.



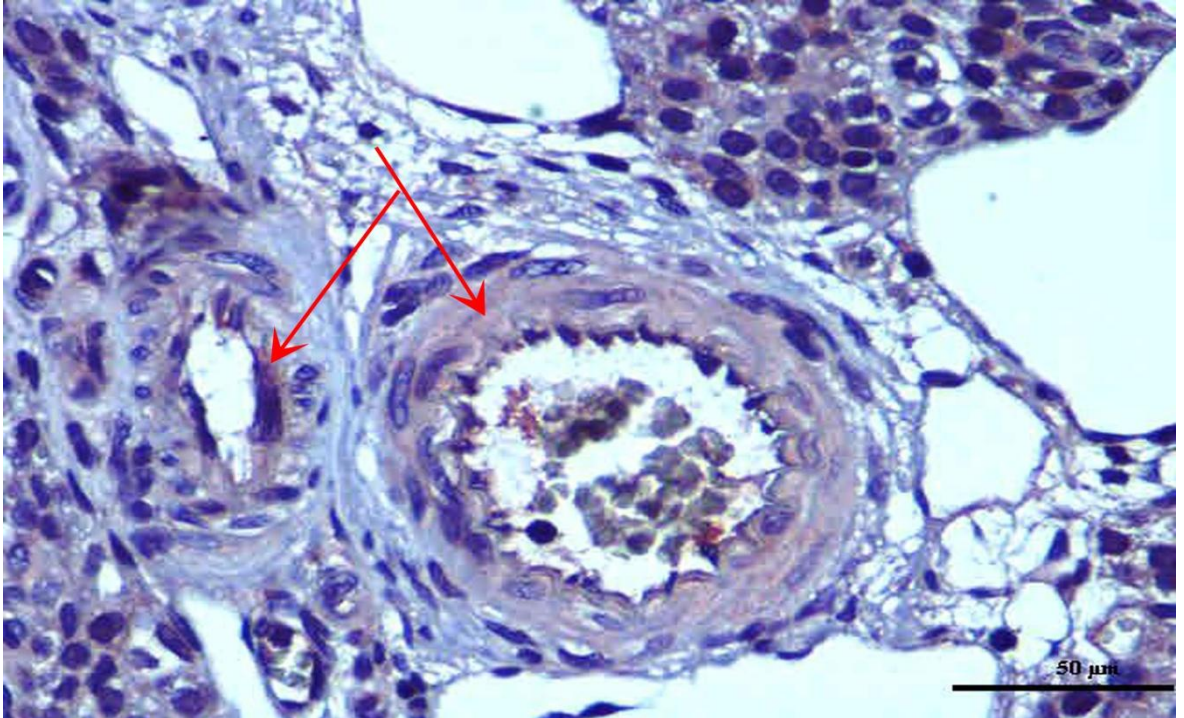
Resim 3.9. B grubu sol ovaryumda 2 adet venülde CD105 ekspresyonu gösterilmiştir.



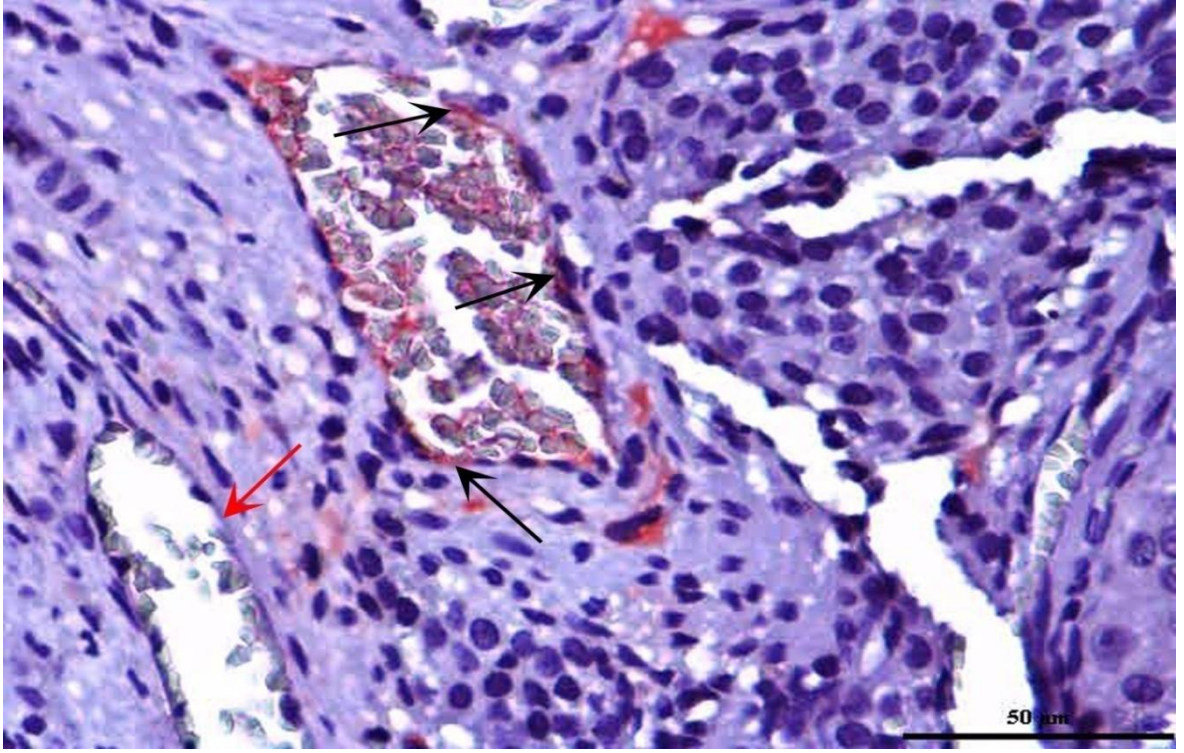
Resim 3.10. B grubu sağ ovaryumda kırmızı oklarla CD73 ekspresyonu gösterilmektedir. Siyah ok arteriolde negatif ekspresyonu göstermektedir. Siyah ok arteriolde negatif ekspresyonu göstermektedir.



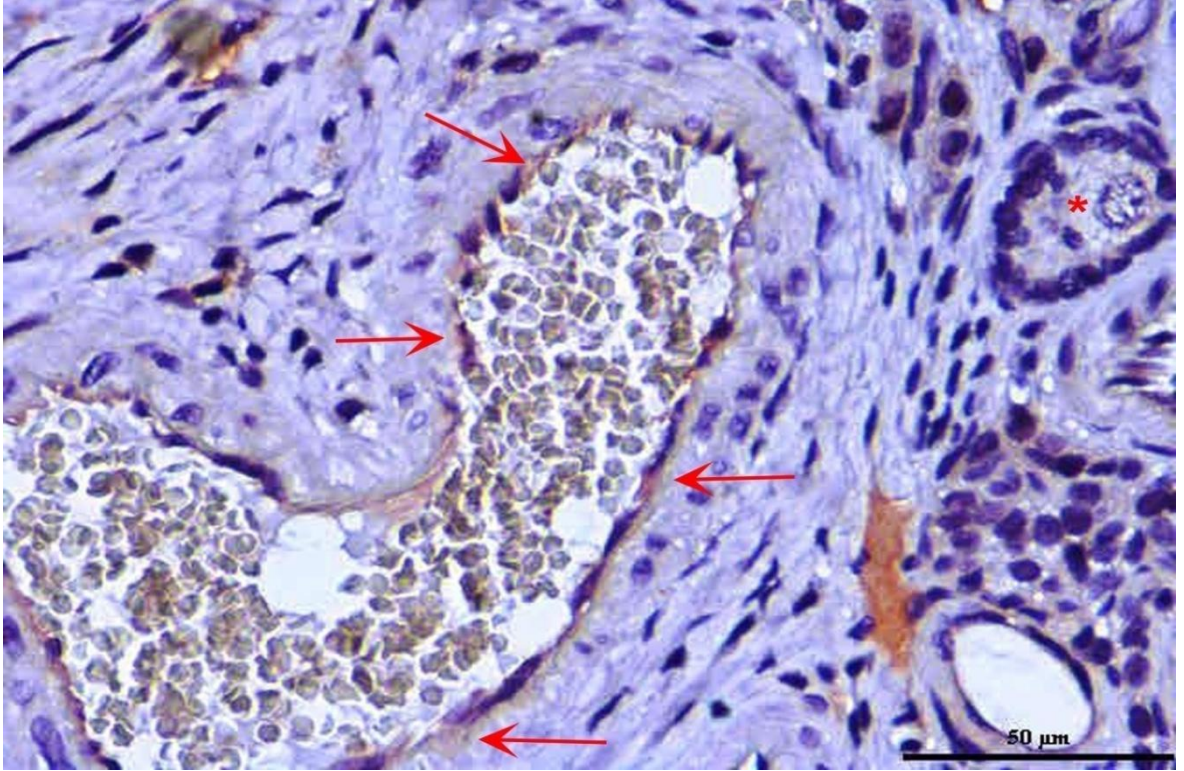
Resim 3.11. B grubu sağ ovaryumda pozitif ekspresyon (kırmızı ok) gösteren bir venül ve hemen yanında negatif ekspresyon (siyah ok) gösteren bir arteriol görülmektedir.



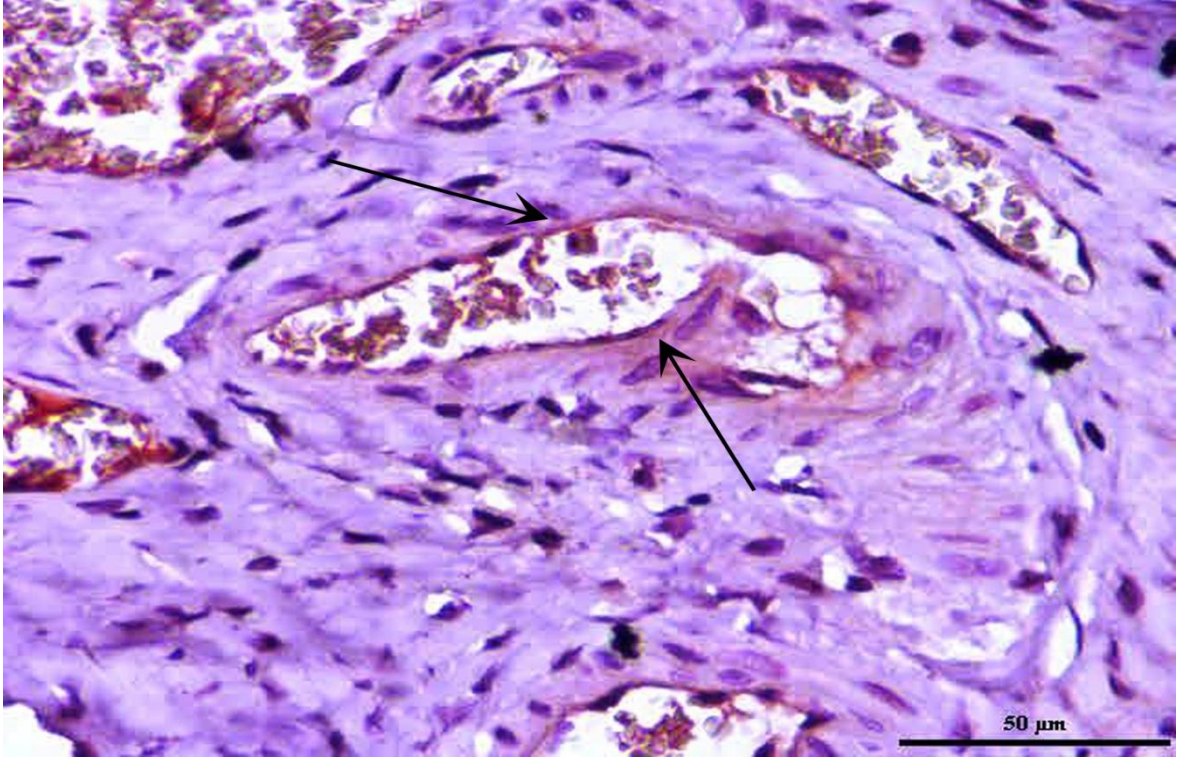
Resim 3.12. B grubu sağ ovaryumlarda 2 adet arteriyolde CD105 ekspresyonu gözlenmektedir.



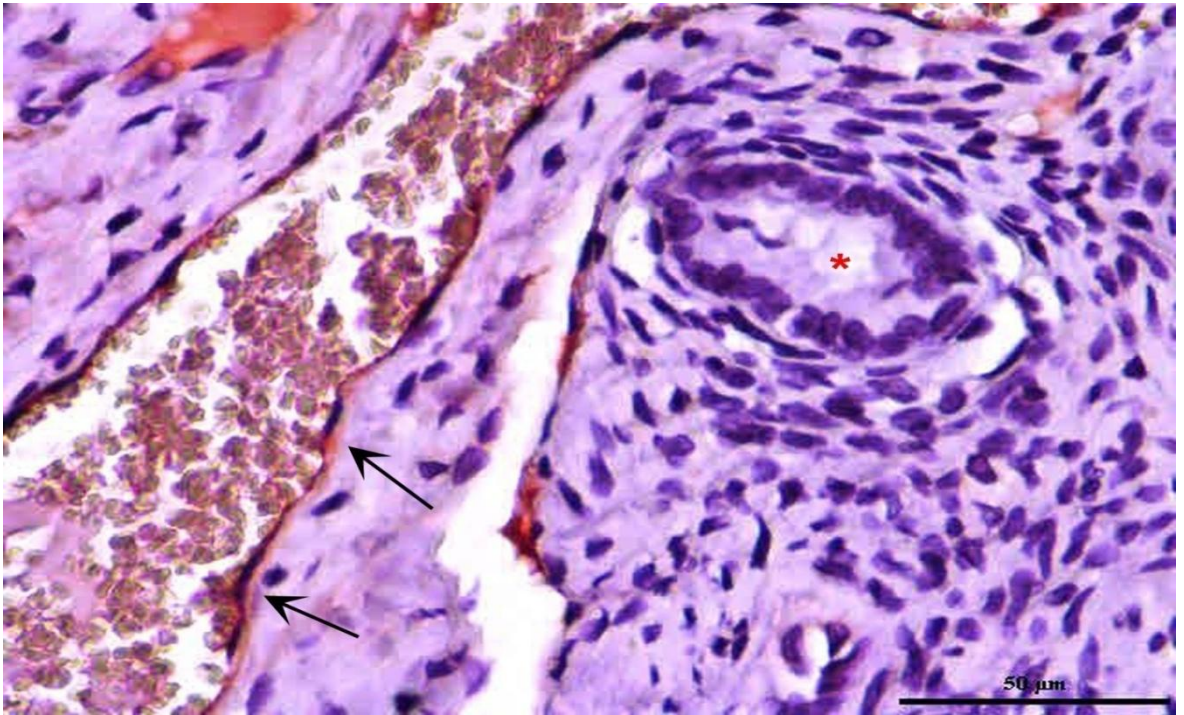
Resim 3.13. C grubu sağ ovaryumlarda venüllerde pozitif (siyah ok) ve negatif (kırmızı ok) CD73 ekspresyonu gözlenmektedir.



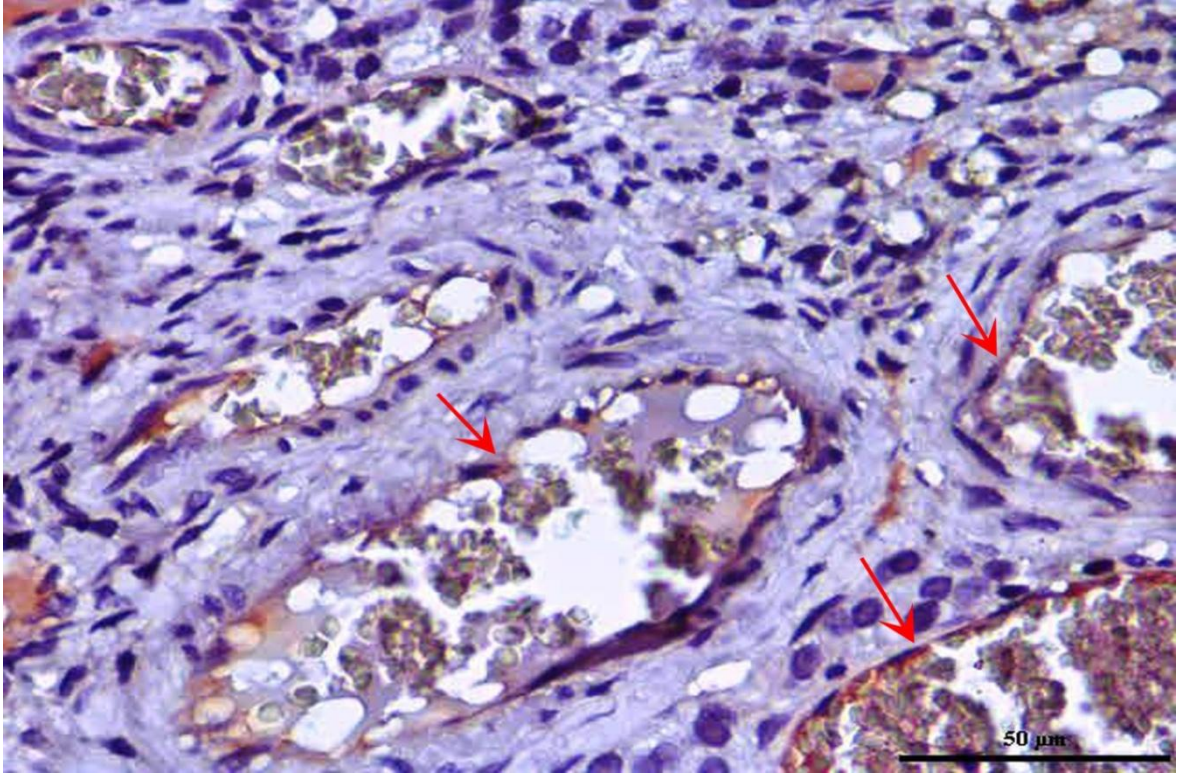
Resim 3.14. C grubu sağ ovaryumlarda venülde pozitif CD90 ekspresyonu gözlenmektedir. *:Primer oositi göstermektedir.



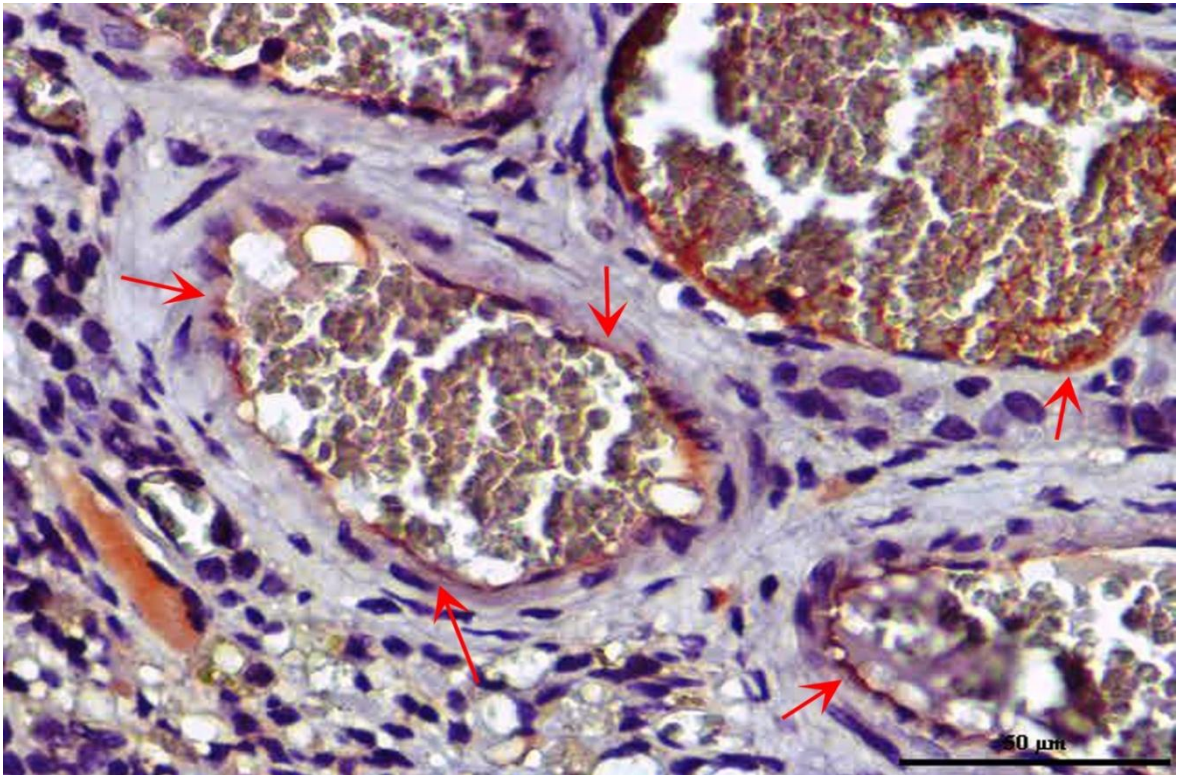
Resim 3.15. C grubu sağ ovaryumlarda kırmızı oklar venül endotelinde pozitif CD105 ekspresyonunu, siyah oklar ise arteriyolde ise pozitif CD105 ekspresyonunu göstermektedir.



Resim 3.16. C grubu sol ovaryumlarda CD73 ekspresyonu gösterilmiştir. *:primer follikül.



Resim 3.17. C grubu sol ovaryumda CD90 ekspresyonu kırmızı oklarla gösterilmiştir.



Resim 3.18. C grubu sol ovaryumda CD105 ekspresyonu kırmızı oklarla gösterilmiştir.

4.TARTIŞMA

Kemik iliği ve yağ doku mezenkimal kök hücreler için 2 uygun kaynak sağlar. Birçok çalışma yetişkin kök hücre terapisinde kemik iliği kökenli kök hücrelere yönelmiştir. Araştırmacılar yağ dokunun stromal kompartmanı içinde kök hücre popülasyonu olduğu kabul edilen hücre grubunu karakterize etmişlerdir. Adipoz doku kökenli kök hücreler (Adipose Derived Stem Cells-ADSCs) hastalardan kolayca, basit ve minimal zarar veren bir metodla toplanabilmekte ve kolayca kültüre edilebilmektedir. ADSC hızlı bir şekilde üretilebilmekte ve mezenkimal pluripotent özelliğini pasajlardan sonra koruyabilmektedir. Bone marrow derived stem cells (BM-MSK) ve ADSC'nin karakterizasyonu hücreye spesifik proteinlerin ve CD markerlerinin ekspresyonuna dayanır (Taha ve ark 2010).

Bir hücre grubunun MKH olarak kabul edilebilmesi için CD73, CD90 ve CD 105'i ekspresse etmesi gerektiği belirtilmiştir (Taha ve ark 2010 , Carvalho ve ark 2009).

Adipoz dokuda daha önce yapılan çalışmada CD73, CD90 ve CD105'in immünohistokimyasal olarak pozitif ekspresyonu gösterilmiştir (Duman ve ark 2013). MKH'lerinin belirlenmesinde ve ayırımında eşsiz ve tek bir marker bulunmamaktadır fakat CD73, CD90 ve CD105'in bulunduğu marker kombinasyonu daha inandırıcı sonuçlar ortaya koymaktadır (Akbulut ve ark 2012). Bu literatür bilgi üzerinden yola çıkarak yaptığımız çalışmada, immünohistokimyasal olarak ovaryum damarsal yapılarında CD73, CD90 ve CD105'in ekspresyonu gösterildi ve bu ekspresyonlarla mezenkimal kök hücrelerin varlığının göstergesi olduğu düşünülmüştür.

Kanser hücre popülasyonları büyüme, canlılığı devam ettirme, metastaz, kemoterapi ve radyasyon terapisine karşı dayanıklılığında farklı kapasiteler sergilemektedirler (Burgos-Ojeda ve ark 2012). Kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinin tümör bölgelerine çok sayıda toplandığı, ovaryan kanser hücre hatlarının kemoterapiye direncini, invazyonunu ve metastazını sağladığı belirtilmiştir. MKH'nin yumurtalık kanseri tümör gelişimine katkıda bulunduğu ve MKH'nin bu olayı, BMP2 üretimini değiştirerek ovaryan kanser hücrelerinin in vivo ve in vitro proliferasyonunu arttırarak sağladığı ifade edilmektedir (Lis R ve ark 2012).

Over kanseri en ölümcül jinekolojik kanserdir ve özellikle yaşlı kadınlarda görülür. Yaş ve yumurtalık kanseri arasındaki ilişkiye katkıda bulunan faktörler tam olarak

bilinmemektedir (Eilati ve ark 2012). Bizim çalışmamızda da yaş ilerlemesiyle ratlarda MKH markerlerinin ekspresyonu artmıştır ve Lis ve ark'nın belirttiği gibi ovaryan kanser hücre hatlarını destekleyebileceği ve proliferasyonunu arttırabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Başka bir çalışmada da domuz kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücre hatlarının in vitro pasajlarda malign transformasyona uğradığı belirtilmiştir (Miura ve ark 2006). Houghton JAV ve ark da yaptıkları çalışmada epitelyal kanserlerin kemik iliği kökenli kök hücrelerden kök alabileceğini belirtmişlerdir. Bu literatür bilgi bize çalışmamızda yaş ilerlemesi ile birlikte artan mezenkimal kök hücre ekspresyonunun, yaşla birlikte artan ovaryum kanser riskiyle bir ilişkisi olabileceğini düşündürülebilir.

Tümör dokusunun stromasının oluşumu, skar oluşumu ve yara iyileşmesine benzetilmektedir. Malign hücreler bağ dokusunun yeniden oluşumunu sağlayarak kanser büyümesini destekleyecek yeterli stromanın üretilmesine sebep olurlar. Tümörlerdeki bağ doku stromal hücrelerin siklus ve proliferasyonunu sağlayan sinyallerin, tümör dokusu içine MKH'lerinin proliferasyonuna ve burada greft oluşturmaya aracılık edebileceği belirtilmiştir (Studený ve ark 2004). Bu da MKH'lerin tümör bölgesine göç etme teorisi olarak açıklanmıştır.

Zhang ve ark çalışmalarında insan plasentasından flow sitometri yöntemi ile CD29, CD44, CD73, CD90, CD166 ve CD105'in pozitif ekspresyon gösterdiğini ifade etmişlerdir. İnsan plasentasından bu hücreleri izole etmişler ve insan rekombinant endostatin (anjyogenez inhibitörü) genini kodlayan hp-MSK üretmişlerdir. Transdüksiyon etkinliği flow sitometri ve transgen aktivitesi ise Western blot ve Eliza ile ölçülmüştür. Endostatinin bu hücreler tarafından üretildiğini belirtmektedirler. MKH'yi tümörü hedefleme özelliğinden dolayı, yumurtalık kanser tedavisi için gen dağıtım araçları olarak kullanmışlardır. Endostatin genini ekspresse eden hp-MSK hücrelerinin in vitro ve ayrıca farelere yapılan enjeksiyonla (in vivo) tümör bölgesine gittiğini, endostatin salgıladığını ve sistemik toksik efektlerin görülmeden tümör çapını küçülttüğünü belirtmişlerdir(Zhang ve ark 2012). Bu çalışmada daha önce anlattığımız çalışmalara zıt olarak mezenkimal kök hücrelerinin tümörü küçültmek için kullanıldığını belirtmektedir.

Endoglin (CD105) tümör neoanjyogenezinde rol alan bir marker ve TGF Beta ailesine mensup bir reseptördür. Endotelial markerler (CD31, CD34, Faktör8) mikrodamar yoğunluğunun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Endotelial markerler

sağlam dokuların endotellerinde de ekspresse olmaktadır. Endoglin ise tümör anjiyogenezine katılan aktive olmuş endotele öncelikli olarak bağlanmaktadır. Fakat normal dokuların endotelinde ekspresyonu zayıf veya negatiftir. Sonuçta CD 105'in öncelikli olarak neoanjiyogenezde ekspresse olduğu ileri sürülmektedir. Çalışmalarında endoglinin kolorektal karsinomada tümör anjiyogenezi için diğer endoteliyal markerlere göre daha spesifik ve duyarlı bir marker olduğunu belirtmektedirler (Saad ve ark 2004). Fakat yapılan çalışmalarda, farklı anatomik bölgelerden elde edilen adipoz dokularda, CD105 ekspresyonu sağlam damarlarda da gösterilmiştir (Duman ve ark 2013, Akbulut ve ark 2012). Bizim çalışmamızdaki CD105 ekspresyonu da, herhangi bir patoloji taşımayan ratlarda gerçekleştiği için, sağlam damarlarda ekspresse olduğunu ifade eden literatür bilgiyi desteklemektedir.

Göbek kordonundan elde edilen MKH'lerinde görülen CD105 ekspresyonunun, MKH'lerinin farklılaşmaya başlaması ile azaldığı belirtilmiştir. CD105 ekspresyonunun MKH'lerinin farklılaşması süreçlerini izlemek için anahtar bir marker olabileceği belirtilmiştir. Göbek kordonundaki bu CD105 ekspresyonunun, tümör dokusu endotel hücrelerinde görülen CD105 ekspresyonundan farklı olarak MKH'lerinin farklılaşmadan önceki sürecine ait olabileceği belirtilmiştir (Akbulut ve ark 2012). Bizim çalışmamızda da 1 aylık ratlarda ve 8 aylık ratlarda CD105 ekspresyonu artmıştır. 1 aylık ratlarda CD105 ekspresyonunun artması belirttiğimiz gibi buradaki mezenkimal kök hücrelerin farklılaşmasından önceki sürece ait olabileceği düşünülebilir.

Memeli organ sistemlerinde mevcut yetişkin veya organ kök hücrelerinin, bireyin hayatı boyunca organlarının bakım ve onarımını sağladığı, bu anahtar işlevin yerine getirilebilmesi ve organ, doku ve hücrel homeostazın sürekliliği için, yüksek derecede düzenlenmiş hassas moleküler sinyal koordinasyonunun devamının sağlanması gerektiği rapor edilmiştir. Bu koordinasyon yaşla bozulmakta ve dolayısıyla, yaşlı organizmada yetişkin kök hücrelerin, genç kök hücrelerde olduğu gibi stres, yaralanma veya yıpranmada hasarlı dokuyu canlandıramadığı belirtilmektedir. Yaşlanma sürecinde; organlarda bulunan kök hücrelerde ve farklılaşan nişlerinde çeşitli interaktif sinyalizasyon ağlarının değiştiği ancak ne kaslarda bulunan kök hücre havuzunda (satellite hücreler) ne de hematopoietik kök hücre havuzunda yaşla birlikte azalma olmadığını fakat fonksiyonel özelliklerinde bozulma olduğunu ifade etmişlerdir (Silva ve ark 2008). Bizim çalışmamızda mezenkimal kök hücrelerin yaşla birlikte ekspresyonu artmıştır ve ovaryum kanser kök hücre hatlarını destekleyebileceği düşünülebilir.

Kondrositlerle yapılan bir in vitro çalışmada yaşla birlikte mezenkimal progenitör hücrelerin sayısının azaldığı belirtilmektedir. Kondrositlerin proliferasyonunun sınırlı olduğu çünkü, fakir bir kan dolaşımı ve az sayıda kök hücre olduğu belirtilmektedir. Bu yüzden eklem kıkırdağının yaşla ilgili hastalıklarda büyük risk taşıdığı ve yaş ile alakalı mezenkimal kök hücre farklılaşmasının hala tartışmalı olduğu bildirilmektedir (Chang ve ark 2011). Bizim alışmamızda, bizim sonuçlarımızın farklı olmasının sebepleri olarak kullandığımız ovaryum dokusunun kanlanma bakımından zengin bir organ olması ve in vivo çalışma tekniği kullanılması düşünülebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda 1 aylık, 3 aylık ve 8 aylık ratlarda, immünohistokimyasal olarak mezenkimal kök hücre ekspresyonu değerlendirilmiştir. 1 aylık ratların sağ ovaryumundaki CD105 ekspresyonu artışı, mezenkimal kök hücrelerin farklılaşmadan önceki sürecine ait olabileceği şeklinde yorumlanan literatür bilgiyi, 8 aylık sıçanlarda artan mezenkimal kök hücre ekspresyonu ise, mezenkimal kök hücrelerin ovaryum kanser kök hücrelerine dönüşebileceğini veya bu kanser kök hücrelerinin gelişimine destek verebileceğini içeren literatür bilgiyi destekler gözükmektedir. Fakat bu konudaki bilgiler hala tartışmalıdır ve mezenkimal kök hücrelerin rejeneratif tıpta kullanımı ve kanser oluşumu ile arasında kesin bir ayırım yapılamamaktadır.

6.KAYNAKLAR

- Akbulut H, Cüce G, Aktan TM, Duman S. Expression of mesenchymal stem cell markers of human adipose tissue surrounding the vas deferens. *Biomedical Research*, 2012; 23(2):166-169.
- Akgün I, Ünlü MC. Kıkırdak Hastalıklarında Mezenkimal Kök Hücre Uygulamaları. *Türkiye Klinikleri Ortopedi Travmatoloji Özel Dergisi*, 2011;4(1):95-101
- Aragona M, Maisano R, Panetta S, Giudice A, Morelli M, La Torre I, La Torre F. Telomere length maintenance in aging and carcinogenesis. *Int J Oncol*, 2000;17(5): 981-989.
- Attar E. Kök hücreler ve kordon kanı toplanmasında güncel durum. *TJD Uzmanlık Sonrası Eğitim Dergisi*, 2004; 6: 58-64.
- Ben Cheri A, Gotlieb L, Wong PY, Casper RF. Ovarian response to recombinant human follicle-stimulating hormone in luteinizing hormone-depleted women: examination of two cell, two gonadotropin theory. *Fertil Steril*, 1996;65:711-17.
- Block E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in woman ; variations at different ages. *Acta Anat (Basel)*,1952; 14: 108-23.
- Bongsa A, Fong CY, Ng SC, Ratman S. Isolation and culture of inner mass cell from human blastocysts. *Hum. Reprod*,1994; 9:2110-2117.
- Bongso A, Lee EH. *Stem Cells: Their Definition, Classification and Sources, Stem Cells From Bench to Bedside*,1th Edition, Singapore, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd, 2005;1-13.
- Burgos-Ojeda D, Rueda BR, Buckanovich RJ. Ovarian cancer stem cell markers: prognostic and therapeutic implications. *Cancer Lett*, 2012;322(1):1-7.
- Can A. (2009) *Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar*. 1.Baskı, Ankara, TÜBA, 2009:113s.
- Carvalho MA, Alves ALG, Golim MA, Moroz A, Hussni CA, Oliveira PGG, Deffune E. Isolation and immunophenotypic characterization of mesenchymal stem cells derived from equine species adipose tissue. *Vet Immunol Immunopathol*,2009;132(2-4)6-303.
- Chapman R, Frankel MS, Garfinkel MS. Stem cell research and applications: Monitoring the frontiers of biomedical research. *Am. Assoc. Adv. Sci. Inst. Civil. Soc*, 1999;34: 405–416.
- Chang HX, Yang L, Li Z, Chen G, Dai G. Age-related biological characterization of mesenchymal progenitor cells in human articular cartilage. *Orthopedics*. 2011;8;34:e382-8.
- Cuneo S, Rangel R, Ruvalcaba L, Chanona J, Batiza V, Bermudez A, Gallardo E, Muniz M. Stem cells from umbilical cord blood as a source for future genetic and therapeutic uses from IVF donation programs in patients. *International Congress Series*, 2004; 1271: 167–170.

- Çoban ZD, Güran Ş. Kök Hücrede Gen Transferi İle İstenen Bir Genin Aktivasyonu veya Susturulması Uygulamalarının Rejeneratif Tıpta Kullanımı. Cumhuriyet Tıp Derg, 2013; 35: 138-142.
- Çorakçı A, Filiz S, Çalıskan E, Dalcık C, Özeren S, Dalcık H. The effects of ovulation induction on ovarian epithelium dysplasia scores and Ki67 expression: an experimental study on rats. Int J Gynecol Cancer, 2005;15: 866–871.
- Da Cruz L, Chen FK, Ahmado A. RPE transplantation and its role in retinal disease. Prog Retin Eye Res, 2010;26:598-635.
- Deda H, Nörolojik Hastalıklarda Kök Hücre Tedavileri. Sinir Sistemi Cerrahisi Derg, 2008;1(3):142-152.
- 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. J Bone Miner Res, 1999;14(7): 22-1115.
- Digirolamo CM, Stokes D, Colter D, Phinney DG, Class R, Prockop DJ, Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture: a simple colony-forming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate. Br J Haematol, 1999; 107(2): 275-81.
- Downing GJ, Battey J. Technical assessment of the first 20 years of research using mouse embryonic stem cell lines. Stem Cells, 2004; 22: 1168–1180.
- Duman S, Aktan TM, Cuce G, Cihantimur B, Tokaç M, Akbulut H. Effects of Lipokit® centrifugation on morphology and resident cells of adipose tissue. Int. J. Morphol, 2013;31(1):64-69
- Eilati E, Pan L, Bahr JM, Hales DB. Age dependent increase in prostaglandin pathway coincides with onset of ovarian cancer in laying hens. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2012 Dec;87(6):177-84.
- Erdoğan D, Hatipoğlu MT, Görgün M, Ilgaz C. Özel Histoloji.2.Baskı, Hatipoğlu yayıncılık, 2007:177-186.
- Eşrefoğlu M. Genel ve Özel Histoloji,1.Baskı, Malatya, Pelikan yayıncılık, 2004:281-291.
- Fibbe WE, Mesenchymal stem cells, A potential source for skeletal repair. Ann Rheum Dis. 2002 ; 61(2): 29-31.
- Fischer LJ, McIlhenny S, Tulenko T, Golesorkhi N, Zhang P, Larson R, Lombardi J, Shapiro I, DiMuzio PJ. Endothelial differentiation of adipose-derived stem cells: effects of endothelial cell growth supplement and shear force. J Surg Res. 2009 Mar;152(1):157-66. doi: 10.1016/j.jss.2008.06.029.
- Friedrich TD, Regenass U, Stevens LC. Mouse genital ridges in organ culture: the effects of temperature on maturation and experimental induction of teratocarcinogenesis. Differentiation, 1983; 24:60-64.
- Gartner LP, Hiatt JL. Histology. 4. Baskı, Egypt, Williams & Wilkins, 2001:257-265.
- Grove JE, Bruscia E, Krause DS. Plasticity of bone marrow-derived stem cells. Stem Cell, 2004;22: 487–500.
- Hoffman LM, Carpenter MK. Human embryonic stem cell stability. Stem Cell Rev, 2005;1(2): 139-144.

- Houghton J, Stoicov C, Nomura S, Rogers AB, Carlson J, Li H, Cai X, Fox JG, Goldenring JR, Wang TC. Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. *Science*, 2004 Nov 26;306(5701): 71-1568.
- Fu X, He Y, Xie C, Liu W. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation improves ovarian function and structure in rats with chemotherapy-induced ovarian damage. *Cytotherapy*, 2008;10(4):353-63. doi: 10.1080/14653240802035926.
- Jaenisch R. Stem cells, pluripotency and nuclear reprogramming. *Journal of Thrombosis Haemostasis*, 2009;7 (1):21-3.
- Kerr CL, Gearhart JD, Elliott AM, Donovan PJ. Embryonic germ cells: when germ cells become stem cells. *Semin. Reprod. Med*, 2006; 24(5): 304-313.
- Kierszenbaum A L. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi (Türkçe Çeviri)*.1.Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2006:565-584,618.
- Kode JA, Mukherjee S, Joglekar MV, Hardikar AA. Mesenchymal stem cells: immunobiology and role in immunomodulation and tissue regeneration. *Cytotherapy*. 2009;11(4):377-91. doi: 10.1080/14653240903080367.
- Lis R, Touboul C, Raynaud CM, Malek JA, Suhre K, Mirshahi M, Rafii A. Mesenchymal cell interaction with ovarian cancer cells triggers pro-metastatic properties. *PLoS One*, 2012;7(5):e38340. doi: 10.1371/journal.pone.0038340.
- Martin GR, Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *PNAS USA*, 1981;78:7634-7638.
- Martin GR, Evans MJ. Differentiation of clonal lines of teratocarcinoma cells: Formation of embryoid bodies in vitro, *PNAS USA*, 1975;72: 1441-5.
- Masson S, Harrison DJ, Plevris JN, Newsome PN. Potential of hematopoietic stem cell therapy in hepatology: A critical review. *Stem Cell*, 2004;22: 897–907.
- Miura M, Miura Y, Padilla-Nash HM, Molinolo AA, Fu B, Patel V, Seo BM, Sonoyama W, Zheng JJ, Baker CC, Chen W, Ried T, Shi S. Accumulated chromosomal instability in murine bone marrow mesenchymal stem cells leads to malignant transformation. *Stem Cells*, 2006;24(4):1095-103.
- Moore KL, Persaud TVN. *Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi (Türkçe Çeviri)*. 6. Baskı, Ankara, Nobel Tıp Kitabevleri, 2002:17-45.
- Motta PM, Makabe S, Nottola SA. The ultrastructure of human reproduction I. The natural history of the female germ cell :origin, migration and differentiation inside the developing ovary, *Hum Reprod Update*,1997; 3: 281- 95.

- Murphy JM, Dixon K, Beck S, Fabian D, Feldman A, Barry F, Reduced chondrogenic and adipogenic activity of mesenchymal stem cells from patients with advanced osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 2002 ;3:13- 704.
- Nishiyama N, Miyoshi S, Hida N, Uyama T, Okamoto K, Ikegami Y, Miyado K, Segawa K, Terai M, Sakamoto M, Ogawa S, Umezawa A. The significant cardiomyogenic potential of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in vitro. *Stem Cells*. 2007;25(8):2017-24.
- O'Donoghue K, Fisk NM, Fetal stem cells, *Best Pract Res Obstet Gynaecol*, 2004;18 (6) : 853-875
- Odorico JS, Kaufman DS, Thomson JA. Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines, *Stem Cells*, 2001;19: 193-204.
- Okarma TB. Human primordial stem cells. *Hastings Cent. Rep*, 1999; 29(2): 30.
- Ovale WK, Nahirney PC. *Netter Temel Histoloji*. 1. Baskı, Ankara, Güneş Tıp Yayınları, 2009:399-426.
- Panno J. *Stem Cell Research Medikal Applications and Ethical Controversy*. 1th Edition, Newyork, Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, 2005:1-18.
- Pera MF, Cooper S, Mills J, Parrington JM. Isolation and characterization of a multipotent clone of human embryonal carcinoma cells. *Differentiation*, 1989;42:10-23.
- Rosemary Foster, Ronald J. Buckanovich, Bo R. Ruedaa. Ovarian cancer stem cells: Working towards the root of stemness, *Cancer Lett*. 2012;pii: S0304-3835(12)00628-3.
- Ross M.H, Pawlina W. *Histology A Text And Atlas with Corralated Cell and Molecular Biology*. 5Th edition, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 772- 834.
- Saad RS, Liu YL, Nathan G, Celebrezze J, Medich D, Silverman JF. *Mod Pathol*, 2004 Feb;17(2):197-203
- Sadler TW. *Medikal Embriyoloji (Türkçe Çeviri)*. 9. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2005:9-12.
- Saigal S, Bhargava A. Stem Cell - Is There Any Role in Tumorigenic Activity. *Türk Patoloji Dergisi*, 2011;27(2):93-97
- Schwab KE, Chan RWS, Gargett CE. Putative stem cell activity of human endometrial epithelial and stromal cells during the menstrual cycle. *Fertil Steril*, 2005;84: 1124–1130.
- Silva, H. and Conboy, I.M. Aging and stem cell renewal *StemBook*, ed. The Stem Cell Research Community. *StemBook*, 2008;doi/10.3824/stembook.1.11.1, <http://www.stembook.org>.
- Studený M, Marini FC, Dembinski JL, Zompetta C, Cabreira-Hansen M, Bekele BN, Champlin RE, Andreeff M. Mesenchymal Stem Cells: Potential Precursors for Tumor Stroma and Targeted-Delivery Vehicles for Anticancer Agents, *J Natl Cancer Inst*, 2004;96(21):1593-603







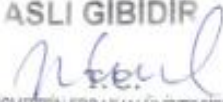
- Şahin F, Saydam G, Omay SB. Kök Hücre Plastisitesi ve Klinik Pratikte Kök Hücre Tedavisi. İzmir Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,Uzmanlık tezi, 2005;48-56.
- Şenel F. Kök Hücreler. Bilim ve Teknik, 2002;31:1-15
- Taha MF, Hedayati V. Isolation, identification and multipotential differentiation of mouse adipose tissue-derived stem cells. Tissue Cell,2010;42(4):6-211
- Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S.Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors.Cell,2007; 131:1-12.
- Takehara Y, Yabuuchi A, Ezoe K, Kuroda T, Yamadera R, Sano C, Murata N, Aida T, Nakama K, Aono F, Aoyama N, Kato K, Kato O. Lab Invest. The restorative effects of adipose-derived mesenchymal stem cells on damaged ovarian function. Lab Invest, 2013;93(2):181-93.
- Tam WL, Ang YS, Lim B.The molecular basis of ageing in stem cells. Mech. Ageing Dev, 2007;128(1): 137-148.
- 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.
- Thomson JA, Kalishman J, Golos TG, Durning M, Harris CP, Hearn JP. Pluripotent cell lines derived from common marmoset (*Callithrix jacchus*) blastocysts. Biol. Reprod, 1996; 55:254-259
- Terzi KF, Güran Ş.Kök Hücre Biyolojisi ve Hematolojik Malignitelerde Kök Hücre Rolü. Cumhuriyet Tıp Derg, 2012; 34: 235-241.
- Trounson AO, Gardner DK, Baker G, Barnes FL, Bongso A, Bourne H, Calderon I, Cohen J, Dawson K. Et al. Handbook of in vitro Fertilization. 2nd.ed, Boca Raton, London, New York, Washington D.C., CRC Press, 2000:127-144
- Ulloa-Montoya F, Verfaillie CM, Hu WS. Culture systems for pluripotent stem cells. Journal of Bioscience and Bioengineering,2005;100: 12-27.
- Ural AU. Kök Hücreler. TOTBİD dergisi, 2006;5:140-144.
- Vats A, Bielby RC, Tolley NS, Nerem R, Polak JM. Stem cells. Lancet, 2005; 366: 592–602.
- Vescovi A, Gritti A, Cossu G, Galli R. Neural stem cells: plasticity and their transdifferentiation potential. Cells Tissues Organs, 2002; 171(1): 64-76.
- Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution, Cell, 2000;100: 157-168.
- Yerebakan C, Uğurlucan M, Kaminski A, Westphal B, Liebold A, Steinhoff G. Otolog kök hücre tedavisi ve cerrahi miyokardiyal revaskülarizasyon. Anadolu Kardiyol Derg, 2009; 9: 457-64

Zheng L, Zhang D, Chen X, Yang L, Wei Y, Zhao X. Antitumor Activities of Human Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells Expressing Endostatin on Ovarian Cancer. *PLoS One*, 2012;7(7):e39119

Zimmerlin L, Park TS, Zambidis ET, Donnenberg VS, Donnenberg AD. Mesenchymal stem cell secretome and regenerative therapy after cancer. *Biochimie*. 2013 Jun 5. pii: S0300-9084(13)00157-0. doi: 10.1016/j.biochi.2013.05.010.

7. EKLER

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURUL KARARLARI

Karar Sayısı: 2012-092	Karar Tarihi: 05.12.2012		
<p>Necmettin Erbakan Üniversitesi Histoloji ve Embryoloji A.B.D.'den Prof. Dr. Serpil Kalkan, Gökçe Günyüz ve Öğr.Gör.Dr.Gökhan CÖCE tarafından sunulan "Yaşlanmaya bağlı ovaryumlarda mezenkimal kök hücre ekspresyonu" başlıklı Tez projesi 6 üyenin katılımı ile değerlendirildi.</p> <p>Proje toplam 4 grupta; Grup 1, 2 ve 3 deki hayvanların 2011-134 karar sayılı ve "Primordiyal folikülden antral foliküle bazı sitokinlerin ekspresyonu ve değerlendirilmesi" isimli proje temin edileceği, Grup 4 için sadece 8 aylık 7 adet dişi sıçan kullanılacağı; sıçanların Anestezi altında Servikal Dislokasyon ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.</p> <p>Projenin deney hayvanlarına ilişkin yöntemlerinin Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deneysel Hayvanları Etik Kurul Yönergesinin 6ncı maddesinde belirtilen "Etik Kurallara Uygunluk Esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.</p> <p>Necmettin Erbakan Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deneysel Hayvanları Etik Kurul Yönergesinde "Başvuru Sahibinin Sorumlulukları" başlığı altında yer alan kurallar ve madde 6'da belirtilen "Hayvan Deneyleri ile İlgili Etik İlkeler" saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında "Etik Kurul Yönergesi İlkelerine Uyulduğuna", çalışmanın deneysel kısmını yapacak çalışmacının "Deneysel Hayvanları Kullanım Sertifikasına" sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etliği açısından "Uygun" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.</p>			
 Prof.Dr. K. Tara NURULLAHOĞLU ATALIK Başkan	 Prof.Dr. Lezmi TAVUŞ Üye	 Prof.Dr. A. Saliha ŞAHİN Üye	 Doç. Dr. Mehmet GÜL Üye
 Dr. M. Metin ŞENER Üye	 Mustafa ŞİRİN Üye	ASLI GIBİDİR  NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ Kombasan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi	

8. ÖZGEÇMİŞ

1988 yılı Ankara doğumludur. İlköğretimini 2002 yılında Demirlibahçe İlköğretim okulunda tamamladıktan sonra lise eğitimini A.Kocatepe Mimar Kemal Lisesi'nde tamamladı. 2007 yılında Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2011 yılında mezun olduktan sonra aynı yıl Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesinde Histoloji-Embriyoloji (Tıp) Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.