



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNSAN SPİNAL FORAMİNAL YAĞ DOKUSUNDAN
MEZENKİMAL KÖK HÜCREİNİN İZOLASYONU VE
KARAKTERİZASYONU**

BİLGEHAN SOLMAZ
DOKTORA TEZİ

NÖROLOJİK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

DANIŞMAN
Prof. Dr. ERKAN KAPTANOĞLU

İSTANBUL-2022



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNSAN SPİNAL FORAMİNAL YAĞ DOKUSUNDAN
MEZENKİMAL KÖK HÜCRESİNİN İZOLASYONU VE
KARAKTERİZASYONU

BİLGEHAN SOLMAZ
DOKTORA TEZİ

NÖROLOJİK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

DANIŞMAN
Prof. Dr. ERKAN KAPTANOĞLU

İSTANBUL-2022

I.TEZ ONAYI



II. BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün saflalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Bilgehan SOLMAZ

III. TEŐEKKÜR

Tez danışmalığımı üstlenen Prof. Dr. Erkan Kaptanoğlu'na, deney sürecinin aşamalarına özenle yardımcı olan Dr. Ali ŞAHİN'e, bilimsel verilerin değerlendirilmesinde desteklerinden ötürü Dr. Taha Keleştemur ve Prof. Dr. Ertuđerul Kılıç'a ayrıca teőekkürlerimi sunarım.

Bilgehan SOLMAZ

İSTANBUL, Nisan 2022

Bu tez çalışması Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı'nın SAG-C-DRP- 120917-0509 no'lu projesi ile desteklenmiştir.

1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Kök hücre tanımı ve çeşitleri	5
4.2. Kök hücre kaynakları	6
4.3. Kök hücre nişi	7
4.4. Kök hücre plastisitesi	9
4.5. Mezenkimal kök hücreler	10
4.6. Yağ dokusu mezenkimal kök hücreleri	11
4.7. Yağ dokusu mezenkimal kök hücrelerinin uygulama alanları	11
4.8. Yağ dokusu	13
4.9. Epidural alan ve epidural yağ dokusu	14
4.10. Stromal vasküler fraksiyon	15
5. GEREÇ ve YÖNTEMLER	16
5.1. Kullanılan Gereçler	16
5.2. Sarf Malzemeler	16
5.3. Epidural ve deri altı mezenkimal kök hücrelerinin izolasyonu	17
5.4. Epidural ve deri altı yağ dokusu kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinin fenotipik karakterizasyonu	18
5.5. İn vitro farklılaşma analizleri	19
5.6. Yağ dokusu farklılaşması	19
5.7. Osteojenik farklılaşma	19
5.8. Nöronal farklılaşma	19
5.9. Western Blot analizi	20
5.10. İstatiksel analiz	20
6. BULGULAR	21

6.1. Deri altı ve epidural yağ dokusu kaynaklı kök hücrelerin morfolojik değerlendirilmesi	21
6.2. Deri altı ve epidural yağ dokusu kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin fenotipik karakterizasyonu	22
6.3. Farklılaşmamış deri altı ve epidural yağ dokusu kaynaklı mezenkimal kök hücreler tarafından nöral ve glial proteinlerin ekspresyonu	23
6.4. Deri altı ve epidural mezenkimal kök hücrelerin yağ dokusuna farklılaşmasının karşılaştırılması	24
6.5. Deri altı ve epidural yağ dokusu kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin osteojenik farklılaşmasının karşılaştırılması	25
6.6. Deri altı ve epidural yağ dokusu kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin nörojenik farklılaşmasının karşılaştırılması	26
6.7. Deri altı ve epidural YDMKH'lerin nöral indüksiyonundan sonra immünositokimya ile karşılaştırmalı morfolojik analizi	27
7. <i>TARTIŞMA ve SONUÇ</i>	28
8. <i>KAYNAKLAR</i>	32
9. <i>EKLER</i>	40
10. <i>ÖZGEÇMİŞ</i>	41

IV. KISALTMALAR

BOS	Beyin omurilik sıvısı
BYD	Beyaz yağ dokusu
CNPase	Cyclic Nukleotide Phospodiesteraz
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
EKH	Embryonik kök hücreleri
FTS	Fosfat Tamponlu Salin
GFAP	Glial Fibriller Asidik Protein
İHK	İç hücre kütleinin
KH	Kök hücre
KYD	Kahverengi yağ dokusu (KYD)
MAP-2	Micritubule associated protein-2
MKH	Mezenkimal kök hücresi
PGH	Primordial germ hücresi
SVF	Stromal Vasküler Fraksiyon
SSA	Sığır Serum Albumini
YDMKH	Yağ dokusu mezenkimal kök hücresi

V. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 4.1. Kök hücre hiyerarşisi

Şekil 4.2. Kök hücre niş mikroortamı

Şekil 4.9. Epidural alan ve epidural yağ dokusu



VI. RESİM LİSTESİ

Resim 6.1. Deri altı ve epidural yağ dokularından izole edilen YDMKH'lerin morfolojisi.

Resim 6.4. Işık mikroskobunda adipojenik farklılaşmanın morfolojik gözlemleri

Resim 6.5. Işık mikroskobunda osteojenik farklılaşmanın morfolojik gözlemleri

Resim 6.6. Işık mikroskobunda nörojenik farklılaşmanın morfolojik gözlemleri

Resim 6.7. Lazer konfokal mikroskopi altında deri altı ve epidural YDMKH'lerin nörojenik farklılaşmasının morfolojik gözlemleri:



VII. TABLO LİSTESİ

Tablo 6.2. Deri altı ve epidural YDMKH'ler için yüzey farklılaşma antijenleri

Tablo 6.3. Western blot analizi



İnsan Spinal Foraminal Yağ Dokusundan Mezenkimal Kök Hücresinin İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Öğrencinin Adı: Bilgehan SOLMAZ

Danışmanı: Prof. Dr. Erkan KAPTANOĞLU

Anabilim Dalı: Sinir Bilimleri

1. ÖZET

Amaç: Spinal foraminal (epidural) yağ dokusu mezenkimal kök hücrelerinin (YDMKH) farklılaşma yeteneğinin tanımlanması ve deri altı YDMKH'leri ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: İnsan deri altı ve epidural yağ dokusu örnekleri, lomber spinal cerrahi sırasında birincil insizyonel bölgeden ve lomber epidural boşluktan toplandı, YDMKH'ler izole edildi.

Bulgular: Her iki YDMKH türünde mezenkimal kök hücre yüzeyi işaretleyicilerini ifade ettiği gösterildi; bununla birlikte epidural YDMKH'ler, deri altı YDMKH'lerden daha düşük CD90 ekspresyonu gösterdi. Ayrıca, epidural YDMKH'lerin osteojenik ve nörojenik farklılaşma kapasitesinin, subkutan MKH'lerinkinden daha belirgin olduğu gösterilmiştir.

Sonuçlar: Spinal epidural YDMKH'lerin karakterizasyonu dural ve merkezi sinir sistemi yaralanmalarının tedavisinde yeni bir tedavi anlayışının gelişmesine katkı yapacak ileri çalışmalara temel teşkil edebilir.

Anahtar Sözcükler: Epidural yağ dokusu, yağ dokusu kaynaklı kök hücre, CD90

Isolation and Characterization of Mesenchymal Stem Cell from Human Spinal Foraminal Adipose Tissue

Student Name: Bilgehan SOLMAZ

Supervisor: Prof. Dr. Erkan KAPTANOĞLU

Institute of Neurological Sciences

2. SUMMARY

Aim: It was aimed to define the differentiation ability of spinal foraminal (epidural) adipose tissue mesenchymal stem cells (ATMSCs) and to compare them with subcutaneous ATMSCs.

Materials and Methods: Human subcutaneous and epidural adipose tissue samples were collected from the primary incisional site and lumbar epidural space during lumbar spinal surgery, ATMSCs were isolated.

Results: Both types of ATMSCs were shown to express mesenchymal stem cell surface markers; however, epidural ATMSCs showed lower CD90 expression than subcutaneous ATMSCs. In addition, it has been shown that the osteogenic and neurogenic differentiation capacity of ATMSCs derived from epidural adipose tissue is more pronounced than that of subcutaneous ATMSCs.

Conclusions: Characterization of stem cells originating from spinal epidural adipose tissue may be the basis for further studies that will contribute to the development of a new treatment approach in the treatment of dural and central nervous system injuries

Keywords: Epidural adipose tissue, adipose tissue derived stem cell, CD90

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Omurga cerrahisinin uzun geçmişine rağmen, primer su sızdırmaz dural kapatma, beyin cerrahisindeki en zorlu konulardan biridir. Mevcut dural kapatma prosedürleri beyin omurilik sıvısı (BOS) sızıntısının önlenmesi için yeterli olmayabilir. Sonuç olarak, BOS sızıntısının tedavisi sıklıkla uzun süreli postoperatif hastanede yatış, subaraknoid drenaj yerleştirilmesi ve cerrahi revizyon gerektirir. Bu süreçler sıklıkla derin ven trombozu, pulmoner emboli, pnömoni, idrar yolu enfeksiyonu, subdural veya serebellar hematomlar gibi başka komplikasyonlara ve ayrıca artan tıbbi masraflara yol açabilir (Cammisa ve ark., 2000). Primer dura onarımına ek olarak çok sayıda cerrahi teknik ve sentetik veya otolog adjuvan materyal çözüm için ortaya çıkmıştır, bu da başka komplikasyonlara veya yan etkilere neden olabilir (Shaffrey ve ark., 1990). Dura sızıntısının tedavisi, nöral dokunun korunması ve dura onarımı için daha önce subkutan otolog serbest yağ dokusu grefti kullanımı önerilmiştir (Black 2002, Mayfield 1980). Bununla birlikte, deri altı yağ dokusu greftleri ile dura onarımı arasındaki temel hücresel ve moleküler mekanizmaların tam olarak araştırılması gerekmektedir. Ayrıca, dural iyileşme mekanizması hakkındaki mevcut bilgiler hala büyük ölçüde belirsizdir (Costantino ve ark.,2000).

Bir yaralanmadan sonra doku onarımı veya doku iyileşmesi mekanizmaları gelişen dinamik tepkilerle oldukça komplekstir. Çünkü doku tipleri, yaralanmanın şiddeti ve immün yanıt bu süreçlerde yakından ilişkilidir. Son çalışmalar, endojen kök hücrelerin doku iyileşmesinde kritik bir rol oynadığını ortaya koymuştur (Wong ve ark., 2012). Ayrıca, yetişkin endojen kök hücreler, iyileşme sürecini desteklemek için hücre dışı matriksten gelen sinyaller yoluyla yağ dokusu gibi farklı kök hücre nişlerinden de toplanabilir (Lu ve ark.,2018). Sonuç olarak, yeni rejeneratif tedavi stratejileri geliştirmek için hem yara bölgesindeki hem de çevre dokulardaki kök hücre kaynaklarının tanımlanması gerekmektedir. Her ne kadar nöral parankimal hasara bir yanıt olarak meninkslerde nöral kök/progenitör hücre aktivitesi gösterilmiş olsa da (Decimo ve ark., 2011), spinal endojen dural veya meningeal kök hücrelerin rolleri büyük ölçüde bilinmemektedir.

Meninksler, beyin ve omuriliğin bağ dokusu kaplamaları olan pia, araknoid ve dura materden oluşur. Kranial duranın aksine, spinal dura, posterior longitudinal ligament, ligamentum flavum ve vertebral lamina ile ilişkili bir dizi pial kalınlaşma ve epidural ligament olan bağ dokusu dizileri ile vertebral kanal içinde sabitlenir (Tardieu ve ark., 2016). Sonuç olarak, spinal dura ve vertebral kanal arasında, kafatasının tabanından sakral hiatusa uzanan epidural boşluk adı verilen gerçek bir potansiyel boşluğa sahiptir. Embriyolojik olarak, fetüste dura mater farklılaşmasının 13. haftada tamamlanmasından hemen sonra epidural boşluk oluşur (Beaujeux ve ark., 1997). Başlangıçta, bu boşluk farklılaşmamış gevşek bir mezenkimal doku ile doldurulur. 32. hafta civarında, farklılaşmış adipositler belirgin hale gelir ve daha sonra erişkinlerde bu boşluğun ana bileşenini epidural yağ dokusu oluşturur. Bu olgun adipositler, çokgen hücre şekli ve ayrıca spinal sinir köklerini saran dural kılıflar arasında meydana gelen benzersiz bir petek desenli şekil sergiler (Reina ve ark.,2009).

Araştırmanın hipotezi:

Bu anatomik ve ultrastrüktürel yakın ilişki nedeniyle, basit bir dolgu materyalinin ötesindeki epidural yağ dokusu, spinal meninkslerin gelişimi ve bakımı için dinamik bir oluşum olarak kabul edilebilir. Ayrıca, dural kılıflar arasındaki bu benzersiz epidural adiposit hücre dizilim modeli, bir kök hücre nişi olarak kritik bir rol oynayabilir. Böylece, epidural ve ayrıca deri altı yağ dokusu kaynaklı kök hücreleri meningeal yaralanma ve merkezi sinir sistemi onarımı için endojen bir araç olabilir.

Çalışmamız insan epidural yağ dokusu kaynaklı kök hücrelerinin fenotipik özellikleri ve farklılaşma kapasitelerinin değerlendirilmesi açısından önem taşımaktadır. Spinal epidural yağ dokusu kaynaklı kök hücrelerinin karakterizasyonu dural ve merkezi sinir sistemi yaralanmalarının tedavisinde yeni bir tedavi anlayışının gelişmesine katkı yapacak ileri çalışmalara temel teşkil edebilir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Kök hücre tanımı ve çeşitleri

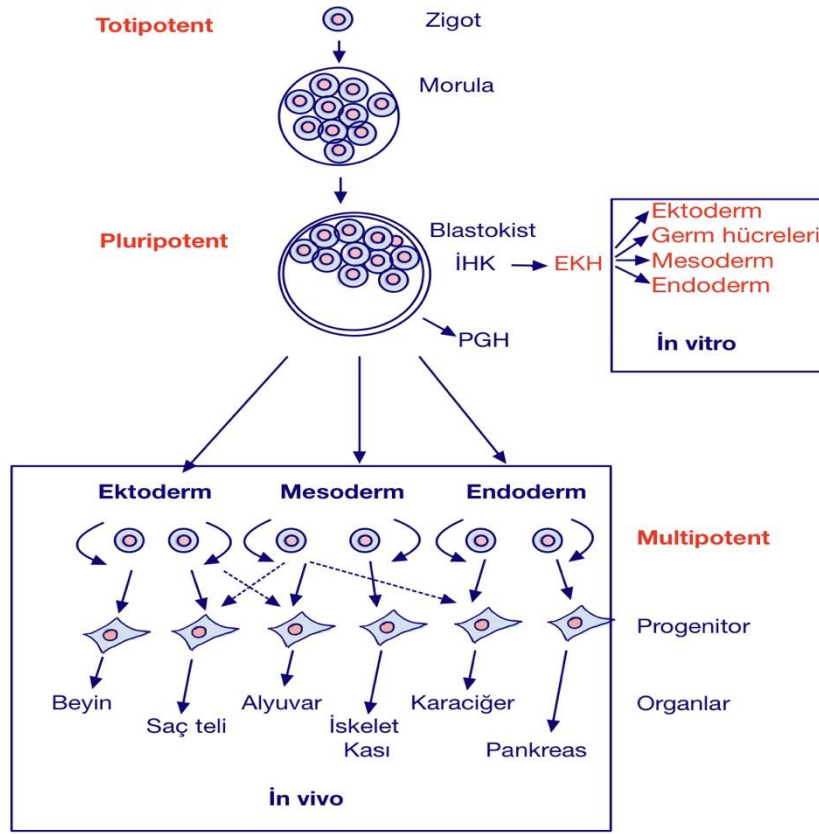
Kök hücre kendi kendini yenileyebilen ve çeşitli hücre tiplerine farklılaşabilen hücrelerdir. Kök hücreler bu farklılaşma özelliklerine göre totipotent, pluripotent, multipotent ve unipotent olarak sınıflandırılabilir.

Totipotent Hücreler; erkek ve kadın haploid üreme hücrelerinin birleşmesi ile oluşan diploid hücre (zigot) tek başına embriyonun tüm hücrelerini ve ekstra embriyonik dokuyu yani plasentayı meydana getirebilir (Sağsöz ve Ketani 2008). Diğer ifade ile bir totipotent hücre, tam ve eksiksiz bir organizma oluşana kadar bölünme potansiyeline sahiptir. Zigot için kabul edilen bu durum, erken embriyonik dönem olarak adlandırılan, ilk 5 güne kadar ki blastomerler için geçerlidir.

Pluripotent hücreler; gelişimin 5. günü sonrası oluşan hücreler vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilme kabiliyetine sahip olsa da tek başına bir canlıyı meydana getiremezler (Brignier ve Gewirtz 2010). Blastosist aşamasındaki embriyoda iç hücre kitlesinden elde edilirler. Embriyonik kök hücre adı verilen bu hücreler plasentayı meydana getiremezler. Proliferasyon kapasiteleri yüksektir. Mezoderm, endoderm ve ektodermden oluşan her 3 germ tabakasına ait 200'den fazla hücreye farklılaşabilirler.

Multipotent hücreler; pluripotent hücreye göre daha sınırlı farklılaşma potansiyelleri vardır. Bu hücreler sınırlı farklılaşma kapasitesine sahip olmalarına rağmen içerisinde yer aldıkları germ tabakasına ait birçok sayıda hücre türüne farklılaşabilmektedirler (Barlow ve ark.,2008). Örneğin mezoderm kaynaklı kemik iliğinde yer alan bu kök hücreler kanda yer alan şekilli hücrelerin hepsine farklılaşabilir. Multipotent hücreler kordon kanı ve yağ dokusunda da bol miktarda bulunmaktadır

Unipotent hücreler; yalnız tek tip hücre tipine dönüşebilme kapasitesine sahip kök hücrelerdir. Üreme kaynaklı yumurta, spermatogonyum, korneal ve endotel kök hücreleri erişkin organizmada, tek seri içerisinde farklılaşmaktadırlar (Young ve Black 2004).



Şekil 4.1. Kök hücre hiyerarşisi (Ragina ve Cibelli 2009): Morula aşamasına kadar olan zigot bir organizma oluşturabildikleri için totipotent olarak tanımlanır. Blastokist aşamasında, yalnızca iç hücre kütesinin (İHK) embriyonik kök hücreleri (EKH) üç germ tabakasını endoderm, mezoderm ve ektodermi ve ayrıca primordial germ hücrelerini (PGH) oluşturma kapasitesini sahiptir. Erişkin dokularda ve organlarda kayıp veya hasarlı hücrelerin yerini almak için multipotent kök ve progenitör hücreler bulunur. Yetişkin kök hücrelerin diğer kök hücre soylarına transdiferansiye olabilir (kesikli çizgiler).

4.2. Kök hücre kaynakları

Kök hücreler, insan embriyolarından veya erişkinlerdeki somatik dokulardan elde edilebilir veya zaten farklılaşmış bir somatik hücrede dış etki yapılarak oluşturulabilir. Embriyonik kök hücreler tipik olarak implantasyon öncesi blastokistten elde edilir. İnsan kaynaklı EKH üretmek için kullanılan teknikler, hücrelerin türetildiği blastokisti bozar. Bu yöntem etik kaygılar nedeniyle, diğer kök hücre kaynaklarına yönelik araştırmaları teşvik etmiştir.

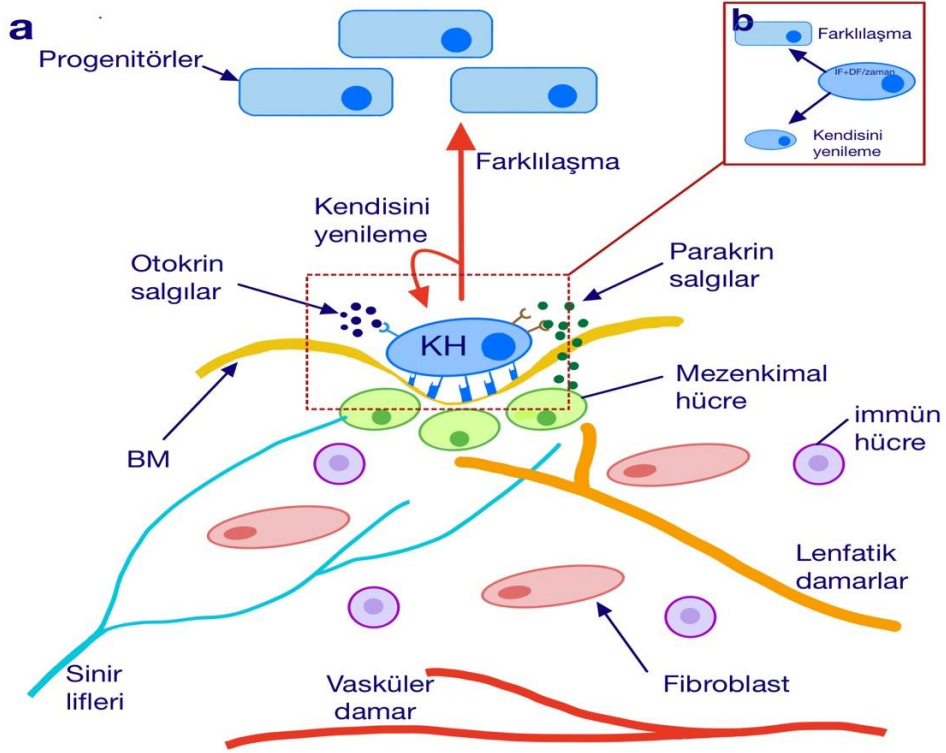
Yetişkin kök hücreleri dokuların hepsinde olmasa da çoğunda mevcut olduğu ve yaşam boyunca kalıcı olduğu ayrıca dokunun korunması ve yaralanmaya yanıt için temel oluşturdukları düşünülmektedir. Bu hücreler özellikle kan, deri ve bağırsak gibi hücre döngüsünün yüksek olduğu dokularda bulunurlar. Hücre devir hızının daha düşük olduğu bazı dokular (kas, beyin ve böbrek) için olası bir kök hücre popülasyonu içinde kanıtlar vardır (Montarras ve ark., 2005; Reynold ve Weiss 1992). Kök hücre potansiyeli ile gelişim aşaması arasındaki yakın ilişki kavramı 2006'da çarpıcı biçimde değişti. Dikkat çekici bir dizi deneyde, pluripotent EKH'lerinde ifade edilen, ancak genellikle olgun hücrelerde olmayan transkripsiyon faktörlerini kodlayan genler alındı ve olgun hücrelere retroviral transfeksiyon yöntemi ile yerleştirildi. (Takahashi ve Yamanaka 2006). Bunu, genlerin artık "ektopik olarak" ifade edileceği, yani genin normal olarak ifade edilmediği bir hücre tipinde ifade edileceği şekilde yaptılar. Az sayıda olgun hücre, EKH benzeyen olgunlaşmamış bir hücre durumuna geri döndü. Süreç daha önce farklılaşmış bir hücre tipinden bir pluripotent durumun uyarılması veya yeniden programlama olarak adlandırıldı. Bu hücrelerde uyarılmış pluripotent kök hücreler adı verildi.

4.3. Kök hücre nişi

Her dokuya özgü yetişkin kök hücre, ölmekte olan hücreleri değiştirerek ve çoğalma ile farklılaşmayı dengeleyerek organının yapısını ve işlevini korumaktan sorumludur. Doku kök hücreleri, destekleyici hücrelere bağlı oldukları, zararlı uyarılardan korundukları ve uyarılma sinyalleri ile düzenlendiği niş adı verilen özel ortamlarda bulunur. Kararlı durum sırasında, epidermistekiler gibi bazı kök hücreler yalnızca tek bir spesifik hücreye farklılaşırken, bağırsak veya hematopoetik sistemdeki gibi diğerleri çoklu soylara farklılaşabilirler. Kök hücre yenilenmesi sürekli (epidermis, bağırsak ve akciğer hava yollarında olduğu gibi), çok yavaş (kas ve ter bezlerinde) veya rejeneratif aktivite patlaması gerçekleşen emzirenlerin meme bezlerinde görüldüğü gibi ileri düzeyde olabilir (Gonzales ve Fuchs 2017; 43).

Kök hücreleri işlevlerinde özerklik gösterebilirler de dokunun sürekli değişen ihtiyaçları ve talepleri hakkında bilgi iletmek için komşu çevreleriyle uyum içinde hareket ederler ve onlara bağımlıdırlar. Bu etkileşimler hassas bir şekilde ayarlanır. Kök hücre aktivitesi fazla olduğunda, doku aşırı büyümesi ve kanser ortaya çıkabilir.

Buna karşılık, kök hücre aktivitesinde azalma, kusurlu doku rejenerasyonu ve bariyer disfonksiyonu ile sonuçlanabilir. Bu nedenle niş, kök hücelere sürekli değişen fiziksel, metabolik, enflamatuar ve yaralanma kaynaklı değişiklikleri iletmeye ve davranışlarını buna göre düzenlemeye hazır olmalıdır. Nişler mezenkimal hücreler bağışıklık hücreleri, periferik nöronlar, vasküler ve lenfatik damarlardan oluşan bir hücre dışı matriks olmak üzere çok sayıda farklı bileşeni bulunan bir yapıdır. Bunlara ek olarak, kök hücreler, ürettikleri uyarıcı veya engelleyici sinyallere doğrudan yanıt vererek komşu nesilden etkilenir. Bu nedenle, dokuda yerleşik kök hücrelerin kaderinin belirlenmesi, çevresel sinyaller ve bunlara uygun şekilde yanıt verme içsel yetenekleri arasındaki kompleks entegrasyona bağlıdır (Şekil 4.3).



Şekil 4.2. Kök hücre niş mikro ortamı (Gola ve Fuchs, 2021). Kök hücre (KH) nişi, dokuya özgü çok sayıda hücresel bileşeni (kan damarları, sinir lifleri, fibroblastlar, immün hücreleri), salgılanan faktörleri ve bazal membranı (BM) içerir (a). Homeostaz durumunda, KH nişi, KH işlevlerini ve akıbetini etkileyen yapısal ve trofik destek, topografik bilgi ve fiziksel ipuçları (çözünür parakrin veya otokrin salgı sinyalleri ve ayrıca mekanik uyarımlar) sağlar. (b) KH davranışı içsel (İF) ve dışsal faktörlerin (DF) zaman içinde entegrasyonu şeklinde özetlenebilir

4.4. Kök hücre plastisitesi

Yetişkin KH'ler, yerel çoğalma ve farklılaşma yoluyla homeostazı ve doku bütünlüğünü korurlar. Bununla birlikte, çevresel değişikliklere ve doku stresörlerine, özellikle de yaralanmaya yanıt olarak, yetişkin KH'ler, KH'lere sağlanan farklılaşma seçeneklerinin daha esnek hale geldiği bir plastisite durumuna girer. Buna kısmen homeostatik kanonik transkripsiyon faktörlerinin kaybı ve kromatin erişilebilirliğinde meydana gelen değişiklikler ve diğer KH soylarına özgü transkripsiyon faktörlerinin birlikte ekspresyonu aracılık eder. Bu değişiklikler, doku hasarını onarmak için daha büyük kapasiteye sahip KH'leri güçlendirir (Wagers ve Weissman 2004). KH plastisitesinin erken kanıtları, hücre kültürünü takiben seri transplantasyon ve/veya aşılamalarından ortaya çıkmıştır. Kendi nişleri tarafından uygulanan kontroller altında olmayan bu nakledilen KH'ler, fizyolojik kısıtlamaları dahilinde normalde yaptıklarından daha geniş bir hücre soy aralığı üretebilirler (Blanpain ve Fuchs 2014).

Homeostatik koşullar altında, her KH bölmesi karşılık gelen yerleşik KH'ler tarafından korunur. Çevresel bozulmalardan, lokalize hücre ablasyonundan veya doku yaralanmasından sonra, KH'ler daha plastik hale gelir (yani, soy seçenekleri genişler ve daha esnek hale gelir) ve nişlerinden dışarı çıkabilir, bu da lokal doku hasarını onarmak için artan kapasiteye izin verir. Ayrıca, farklılaşmış progenitor hücreler benzer şekilde farklılaşmadan geçebilir. Çevresel uyaranlara ve stresörlere maruz kalma, KH üzerinde uzun süreli bir etkiye sahip olabilir. Yetişkin KH'ler ayrıca, güçlerini korumak için bazal membran (BM) ile yakından etkileşime girer. Mekanik uyaranların KH hafızası ve işlevi üzerinde geniş etkileri vardır. KH belleği, genellikle kromatin düzeyinde, uzun süreli hücresel değişikliklere neden olur. Çevresel stresörlere yeniden maruz kaldıklarında, KH'ler daha hızlı stres tepkisi (yeniden epitelizasyon), yüksek inflamatuvar sitokin üretimi (interferon gama ve tümör nekroz faktör alfa) ve değişmiş hücre sonlanma kararları (artan miyelopoez) gibi değişmiş davranışlar sergileyebilir.

Dışsal biyokimyasal faktörlere benzer şekilde, dışarıdan uygulanan fiziksel kuvvetlerden kaynaklanan mekanik ipuçları, KH işlevi, kaderi ve hafızası üzerinde geniş etkilere sahiptir. Yetişkin KH'ler, hücre kaderlerini ve doku organizasyonlarını

sürdürmek için ekstrasellüler biyomatriks ile fiziksel etkileşimler içerisinde olmasını gerektirir (Vining ve Mooney 2017; Shyer ve ark., 2017). Aslında, adipoz veya kemik iliği dokusundan türetilen MKH'nin vitro farklılaşması, kısmen matriks bileşiminin esnekliği tarafından düzenlenir [Huebsch ve ark., 2010; Engler ve ark., 2006) Sert matris kültürleri, MKH'nin yayılmasına, YAP-TAZ transkripsiyonel koaktivatörlerinin nükleer translokasyonuna (Evet ile ilişkili protein ve PDZ-bağlanma alanına sahip transkripsiyonel koaktivatör) ve osteogeneze farklılaşmaya neden olur. Buna karşılık, yumuşak matrisler üzerinde kültürlenmiş MKH'ler, hücre yuvarlaması, YAP/TAZ'ın sitoplazmik lokalizasyonu ve adipogenez ile sonuçlanır. MKH'lerde mekanik hafıza, MKH fibrojenik programını teşvik eden mikroRNA-21 seviyeleri tarafından ayrıca düzenlenir (Li ve ark., 2017). Ayrıca histon asetilasyonu ve kromatin organizasyonunun, matriks maruziyetinin süresine ve bileşimine bağlı olarak geri döndürülebilir veya geri döndürülemez bir süreç olan matriks sertliğine hızla uyum sağlayabileceğini düşündürmektedir (Killaars ve ark., 2019).

4.5. Mezenkimal kök hücreler

MKH'ler, karakteristik iğsi şekilde, tek hücrelerden koloniler türetebilen mezodermal kökenli ancak hematopoietik olmayan progenitör hücrelerin koleksiyonunu temsil eder. MKH'lerin bağışık sisteminden imtiyazlı olduğu kabul edilir ve osteoblastlar, adipositler, kondroblastlar, fibroblastlar ve perisitler dahil olmak üzere çeşitli tipte bağ dokusu hücreleri üretebilir. MKH'lerin rejeneratif etkilerine öncelikle parakrin sinyalleme, özellikle immünomodülatörlerin, antioksidan, antiapoptotik, anjiyojenik ve kemotaktik ajanların salınımı yoluyla aracılık ettiği düşünülmektedir (Merino-Gonzalez ve ark., 2016). MKH'leri ileriye dönük olarak izole etmek için iyi tanımlanmış evrensel yüzey belirteçleri bulunmadığından, spesifik olmayan bir teknik olan polistiren doku kültürü plastiğine doğal olarak yapışma yetenekleriyle tipik olarak izole edilirler. Uluslararası Kök Hücre Araştırma Komitesinin tarafından belirlenmiş MKH özellikleri sırasıyla;

- i. Hücre kültür ortamında kültür kabının plastiğine yapışabilen iğsi fibroblast benzeri özellikte olmaları,

- ii. MKH'lerde ifade edilen yüzey işaretleyicileri CD105, CD73, CD90, CD44 ve ifade edilmeyen (hematopoetik spesifik markerlar) CD45, CD34, CD11b, CD14, CD31, CD79A, HLA-DR'dir
- iii. Adiposit, osteosit ve kondrositlere farklılaşma kapasitesi, göstermelidir (Volarevic ve ark., 2017).

4.6. Yağ dokusu mezenkimal kök hücreleri

Yağ dokusu mezenkimal kök hücreler, kendi kendini yenileme kapasitesine sahip olan ve diğer hücre soyları arasında adipositler, kondrositler, miyositler, osteoblastlar ve nörositlere farklılaşabilen mezenkimal hücrelerdir (Thomson ve ark., 2011). Yağ dokusu mezodermden kaynaklanan adipositler ve vasküler düz kas hücreleri, endotelial hücreler, fibroblastlar, monositler, makrofajlar, lenfositler ve YDMKH'leri içeren stromal hücrelerin bir kısmı tarafından oluşturulan bir dokudur. YDMKH'leri mezodermal ve ektodermal kökenli hücrelere farklılaşabilirler (Brown ve ark.,2017). Yağ dokusunda bulunan vasküler stromanın ayrılmasına dayanan prosedür sayesinde, embriyonik dokuya başvurmadan kök hücrelere erişime izin sağlanmış ve rejeneratif tıpta kullanımını kolaylaştırmıştır (Gimble ve ark., 2009). CD34 pozitif YDMKH'ler hematopoietik olmayan kolonileri ayırt edebilen ve oluşturabilenlerdir, sırayla çeşitli alt popülasyonların tanımlandığı bir bölme oluştururlar: proendotelial (CD146 + / CD31 + / CD34 +); perisitler (CD146 + / CD31- / CD34-), geçici bir alt popülasyon (CD146 + / CD31- / CD34 +); ve adiposit oluşturmak için daha büyük bir potansiyel gösteren stromal hücrelerdir (CD146- / CD31- / CD34 +) (Zimmerlin ve ark., 2013). Spesifik indükleyiciler kullanılarak, bu YDMKH'lerin ihtiyaç duyulan hücresel hatta farklılaşma yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir (Lindroos ve ark., 2011).

4.7. Yağ dokusu mezenkimal kök hücrelerinin uygulama alanları

Literatürde hayvan modeli çok sayıda çalışma mevcuttur. Kemik dokusunu yenilemek için YDMKH'lerin implante edildiği bir osteoporoz modelinde kullanılmıştır ve etkilenen kemik dokusunun rejenerasyonu sağlanmıştır (Cui ve

ark.,2007). Kas dokusu rejenerasyonunun oluşup oluşmadığını değerlendirmek için YDMKH'lerden farklılaşan hücrelerin hasarlı tibialis anterior kasına enjekte edildiği sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışma belgelenmiştir; tedavi edilen grupta 60 gün sonra, kas kesiti ve maksimum kasılma kuvveti, tedavi edilmeyen kontrol grubuna kıyasla artmıştır (Bacou ve ark., 2004). Bu arada, başka bir araştırmacı, YDMKH'lerin nakledildiğinde, bir Duchenne müsküler distrofi modelinde farelerde distrofin üretimini bildirmiştir (Rodriguez ve ark., 2005). Sıçanlarda yapılan bir otoimmün tiroidit modelinde, YDMKH transplantlarının terapötik etkileri incelenmiştir. Hem allojenik hem de singenik YDMKH'lerde, antitiroglobulin otoantikörlerinin miktarında ve ayrıca inflamatuvar yanıtta bir azalma olmuş ve Th1/Th2 arasındaki denge yeniden sağlanmıştır (Choi ve ark., 2014). Hem hayvan modellerinde hem de insanlarda kalp krizinden sonra kalp kası bölgelerinin yeniden doldurulması için girişimlerde bulunulmuştur. Ancak sonuçlar tatmin edici olmamıştır. Görünüşe göre, nakledilen hücrelerin sabitlenebileceği ve çoğalabileceği bir sinsityumun yokluğu bu başarısızlıkların temel nedenlerinden biridir ve bu nedenle, üç boyutlu olarak kendi kendine bir araya gelebilen peptit nanolifleri gibi birkaç biyomatriks tanımlanmıştır. Bu ağlar ve nakledilen hücrelerin alıkonması ve çoğalmasında daha iyi sonuçlar vermiştir (Kochegarov, Lemanski 2016). YDMKH'lerin genetik manipülasyonu, farklı karaciğer veya kalp rahatsızlıklarının araştırılmasını ve tedavisini içeren deneysel modellerde mevcuttur (Hu ve ark., 2010; Bagno ve ark., 2016). YDMKH transplantlarının rekonstrüktif tıpta uygulanmasına bir örnekleride mevcuttur.

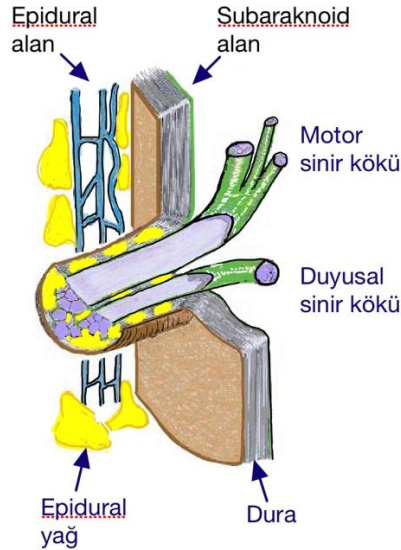
Kök hücreler, çok potansiyellilik ve kendi kendini yenileme gibi bilinen özelliklerine ek olarak, tümör hücrelerine doğru göç eğilimide gösterirler, bu da tedavi için bir avantajdır, ancak aynı zamanda parakrin uyarıların bir sonucu olarak tümör fenotipine doğru farklılaşma olasılığında arttırır. Otolog YDMKH kullanımı ile ilişkili olabilecek malign transformasyon risklerine ilişkin korkulara rağmen, özellikle meme rekonstrüksiyonu önerilen kanser hastalarında çok düşük lokal-bölgesel tümör nüks sıklığı bildirilmiştir (Walked ve ark., 2016; De Decker ve ark., 2016).

4.8. Yağ dokusu

Yağ dokusu doku rengine göre gözle ayırt edilebilen beyaz yağ dokusu (BYD) ve kahverengi yağ dokusu (KYD) olmak üzere iki tipte sınıflandırılmıştır. Enerji depolama, endokrin iletişim ve insülin duyarlılığı için kritik olan beyaz yağ dokusu, insanlar dahil çoğu memelide en büyük yağ dokusu hacmini oluşturur. Buna karşılık, KYD, memelilerde doğum sonrası ve kış uykusu sırasında belirgindir. KYD'nin vücut ısısının korunması için kritik rolü olan titremeyen ısı üretiminde kullanılır. KYD'ın başlangıçta sadece bebek insanlarda olduğu düşünülürken, görüntüleme çalışmaları yetişkinlerin supraklaviküler ve torasik bölgelerinde metabolik olarak aktif KYD'ı ortaya çıkarmıştır (Nedergaard ve ark., 2007). Kahverengi ve beyaz yağ hücreleri şekil, boyut ve organellerinin hücre içi yapısı bakımından farklılık gösterir (Şekil 3). Beyaz yağ hücreleri genellikle küre şeklindedir ve her biri, çekirdek de dahil olmak üzere diğer tüm organelleri hücrenin çevresine iten büyük, tek bir lipid damlacığı içerir. KYD 'da hücreye ve bir bütün olarak dokuya kahverengimsi bir renk veren, demir içeren mitokondrilerle zenginleştirilmiş daha elips şeklinde bir hücre boyunca dağılmış çoklu lipid damlacıkları içerir. Kahverengi adipositlerin termojenik aktivitesi, enerji üreten proton gradyanını kısa devre yapan ve proton akışı sırasında eş zamanlı ısı üretimine izin veren bir proton taşıyıcısı olan, uncoupling protein 1 içeren çok sayıda mitokondrisinin varlığı ile sağlanır (De Sá ve ark., 2017). Son zamanlarda, iki ek yağ dokusu tonu bej ve pembe tanımlanmıştır. Bej yağlar hem kahverengi hem de beyaz yağ hücrelerinin özelliklerini gösterir ve tipik olarak farklı bir preadiposit alt kümesinden deri altı BYD içinde veya mevcut beyaz adipositlerin transdiferansiasyonu yoluyla gelişir (Wu ve ark., 2012; Himms ve ark.,2000). Bununla birlikte, gen ekspresyon analizleri, bej yağ hücrelerinin farklı bir termojenik yağ hücresi tipini temsil ettiğini göstermektedir. Pembe yağ hücreleri, dişi farelerin deri altı BYD'ında gebeliğin 17-18 günlerinde ortaya çıkan ve emzirme boyunca devam eden yağ dokusu olarak tanımlanmıştır. Bu yağ hücrelerinin, süt salgılayan alveoller oluşturmak için epitel benzeri özellikler alan ve dokuya pembe bir renk veren beyaz adipositlerden türediği görülmektedir (Giordano ve ark.,2014). Pembe adipositler, bölümlere ayrılmış lipid damlacıkları, sitoplazmik çıkıntılar ve mitokondri, peroksizomlar ve daha tipik epitelyal hücrelere özgü bir yapı gösteren kaba endoplazmik retikulum dahil olmak üzere bol organeller ile karakterize edilir.

4.9. Epidural alan ve epidural yağ dokusu

Spinal dura mater veya dura, omuriliği, sinir köklerini ve kauda equina'yı saran meninkslerin en dış tabakasıdır. Makroskopik olarak, spinal dura beyaz, kalın ve güçlü bir kolajen zardır. Ancak görünümü ve kalınlığı kişinin yaşı ve omurga düzeyine göre değişiklik gösterebilir (Hong ve ark. 2011). Ultrastrüktürel olarak üç tabakadan oluşur; dışta gevşek fibroelastik, ortada fibröz ve en içte hücresel alt tabakalardır (Vandenabeele ve ark. 1996). Kraniyal duranın aksine, spinal dura, yağ hücreleri açısından zengin ve ayrıca sinir kökleri, lenfatikler, küçük arterler ve venöz pleksusları içeren gevşek bağ dokusu ile dolu gerçek bir potansiyel epidural boşluğa sahiptir (Şekil 4). Epidural alan, kafatasının tabanından sakral hiatusa kadar uzanır. Kafatası sınırı, spinal dura ile foramen magnumun kenarı ve ikinci ve üçüncü servikal vertebra gövdesinin arka yüzeyinin birleşmesiyle oluşur. Kaudal sınır sakrokoksigeal membran tarafından kapatılır. Ventral sınır, posterior longitudinal ligament, vertebral cisimler ve disklerdir. Dorsal sınır vertebral lamina ve ligamentum flavumdur. Vertebral pediküller ve intervertebral foramen epidural boşluğun lateral sınırlarını oluşturur (Sakka ve ark., 2016). Erişkinlerde epidural boşluğun ana bileşeni yağ dokusudur ancak tüm spinal kanalda metamerik topografi ile yani kesintili bir dağılımı mevcuttur.



Şekil 4.9. Epidural alan ve epidural yağ dokusu: Spinal epidural yağ dokusu ve spinal sinir kökünü saran dural katlar arasındaki yağ izlenmektedir (Reina ve ark.,2009).

4.10. Stromal vasküler fraksiyon

Farklılaşmamış mezenkimal kök hücre görünümünde projenitör hücrelerin elde edilmesi ilk kez 2000'li yılların başında gerçekleştirilmiştir (Zuk ve ark., 2002). Yapılan immunositokimyasal ve immunofloresan tekniklere göre kök hücre popülasyonunun perivasküler alanda lokalizedir ve burada perisit ve endotelial hücrelerle birlikte bulunur. Yağ dokusu ameliyat sırasında veya lokal anestezi altında iğne ile veya açık biyopsi ile elde edilebilir. Çıkarılan yağ dokusu Ringer Laktat gibi tuzlu bir solusyon veya %10 sığır serumu içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) gibi bir medyum içerisine alınır. Yağ dokusunun elde edilip taşınması ile ilgili bütün süreçler steril şartlar altında yapılmalıdır (Hutley ve ark., 2001). Stromal vasküler fraksiyon (SVF), elde edilen bu yağ dokusunun enzimatik ya da nonenzimatik yöntemle ayrıştırılması sonucu hücrelerin izole edildiği heterojen bir karışımdır. Bu hücre topluluğunda endotelial hücreler, perisitler, eritrositler, fibroblastlar, lenfositler ve makrofajlar yer almaktadır (Frese ve ark., 2016). Yaygın yöntem kollajenaz, tripsin ve dispaz enzimleri kullanılarak yapılan enzimatik izolasyondur. Yağ doku parçaları enzimler ile inkübe edilir ve sindirimi santrifüje edilir ve böylece yüzen olgun adiposit popülasyonunu topaklanmış SVF ayrılır. Bu heterojen hücre topluluğu içerisinde plastiğe yapışan mezenkimal kök hücre fraksiyonu kültür pasajı sonrası ayrılmış olur ve bu yolla daha homojen bir hücre popülasyonu elde edilir.

5. GEREÇ ve YÖNTEMLER

5.1. Kullanılan Gereçler

Tam güvenli Laminar Air Flow Kabin (BioAir Safemate 1.2[®])
CO₂'li İnkübatör (SANYO MCO-18AIC[®])
Çalkalamalı su banyosu (Mettler[®])
Vorteks (MS2 Minishaker[®])
Inverted floresan mikroskop (Leica DM-IL LED[®])
Konfokal mikroskop (Zeiss LSM700[®])
Işık mikroskopu (Zeiss Primovert[®])
Santrifüj (Hettich zentrifugen[®])
Hassas terazi (Denver instrument[®])
Buzdolabı (Arçelik[®])
Otomatik pipet (Eppendorf[®])
Şarjlı otomatik pipet (Brand accujet[®])
Akış sitometri (BD, FACS Calibur)
ChemiDoc (Biorad) görüntüleme cihazı

5.2. Sarf Malzemeler

Kollajenaz Tip 1 (Biochrome[™])
DMEM Medium (Gibco[™])
DPBS, no calcium, no magnesium (1X) (Invitrogen[™])
Penisilin / Streptomisin (Invitrogen[™])
L-Glutamin (Invitrogen[™])
Trypsin EDTA (Invitrogen[™])
Trypan mavisi (Sigma[™])
Alizarin Red S (Merck-Millipore[™])
Oil Red O (Sigma[™])
Formaldehid (Merck[™])
75 mm'lik cell culture flask (Greiner-Bio one[™])
25 mm'lik cell culture flask (Greiner-Bio one[™])
10 ml'lik serolojik pipet (Greiner-Bio one[™])
5 ml'lik serolojik pipet (Greiner-Bio one[™])

CNPase Anktikor (ABclonal)
GFAP Anktikor (ABclonal)
MAP2 Anktikor (ABclonal)
Nestin Anktikor (ABclonal)
Donkey anti- Mouse IgG Secondary Antikor (Invitrogen™)
Donkey anti- Rabbit IgG Secondary Antikor (Invitrogen™)
Human Recombinant bFGF
Human BDNF Recombinant Protein
L-Ascorbic acid 2- phosphate (Sigma™)
Indomethacin (Sigma™)
Dexamethasone (Sigma™)
Isobutylmethylxanthine (Sigma™)
PSC Neurarl Induction Medium Kit (Gibco™)
 β -Glycerophosphate disodium salt (Sigma™)

Bu çalışma Marmara Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu (Protokol kodu: 09.2017.019) tarafından Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak onaylanmıştır. Hastalardan, planlanan lomber spinal cerrahi operasyonundan önce bilgilendirilmiş onam formlarını doldurmaları istenmiştir. Çalışma katılımcıları, herhangi bir otoimmün veya sistemik hastalığı olmayan, yaşları 35 ile 50 arasında değişen 3 hastadan oluşturulmuştur. Aynı kişiden lomber spinal operasyon sırasında lomber deri altı ve epidural bölgeden cerrahi olarak yağ dokusu örnekleri alınmıştır. Cilt altından ve epidural mesafeden alınan adipoz dokuları, serum fizyolojik içeren steril cam tüp içinde kök hücre izolasyonu için ameliyathaneden Marmara Üniversitesi Genetik ve Metabolik Araştırma ve Uygulama Merkezi (GEMHAM) laboratuvarına transfer edildi. Adipoz doku alındıktan sonra bütün deneysel işlemler GEMHAM laboratuvarında gerçekleştirildi.

5.3. Epidural ve deri altı mezenkimal kök hücrelerinin izolasyonu

Elde edilen yaklaşık 3-5 gram yağ doku örnekleri fazla kan, küçük damarlar ve bağ dokularını çıkarmak için iki kez fosfat tamponlu salin (FTS) ile yıkandı. Ardından temizlenen yağ dokuları çok küçük parçalara bölünerek iki veya üç adet 50 mL'lik

falkon tüplere konuldu. Daha önce literatürde tanımlandığı gibi, her bir falkon tüpüne %0.075 tip II kollajenaz ilave edildi, ardından 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi (Gagliardi ve Bunnell 2011). Parçalama işlemi eşit hacimde FTS eklenerek durduruldu ve numuneler daha sonra oda sıcaklığında 600 gravitede 15 dakika santrifüj edildi. Olgun adipositler, kalıntılar ve sıvı kısım atıldı ardından SVF çöktü. SVF, PTS içinde yeniden süspansiyon edildi ve daha sonra 20 °C'de 10 dakika boyunca 400 gravitede santrifüje edildi ve daha sonra kültür şişelerine aktarıldı. Her bir şişeye yaklaşık 50 x 10³/cm² karışık SVF hücresi aktarıldı. Daha sonra, %10 sığır serumu ile desteklenen DMEM ortamı, her kültür şişesine eklendi ve %5 CO₂ ve nemlendirilmiş hava ile 37 °C'de inkübatöre yerleştirildi. 48 saatlik inkübasyondan sonra hücreler, kültür ortamını ve yapışmayan hücreleri çıkarmak için yıkandı. Ayrıca kültür ortamı her 72 saatte bir taze ortam ile yenilendi. Kültür kabında doluluk oranı %85-90'e ulaşıncaya yağ dokusundan türetilen mezenkimal kök hücreler enzimatik yöntem (%0.25 tripsin + %0.04 EDTA) kullanılarak kültür kabı tabanından ayrıldı. Hücrelerin olduğu medyum santrifüje edilerek hücresel pellet elde edildi. Ardından, hücre sayısı, hücre canlılığı ve saflık Tripan mavisi (Invitrogen Carlsbad, CA, ABD) kullanılarak hemositometre ile değerlendirildi. Canlı hücreler boyanmazken ölü hücrelerin boyandığı görüldü. Sonraki pasajlar için ekim yapıldı.

5.4. Epidural ve deri altı yağ dokusu kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinin fenotipik karakterizasyonu

Yağ dokusu kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinin yüzey belirteçleri, daha önce tanımlanan akış sitometrisi kriterleri kullanılarak analiz edildi (Bourin ve ark., 2013). Hücreler, akış sitometrisi analizi yoluyla hücre yüzeyi işaretleri kullanılarak karakterize edildi. Kültür içerisinde yapışık hale bulunan hücreler, FTS içinde çözünmüş %3 sığır serum albümini (SSA) ile muamele edildi. Üçüncü pasajdan alınan 1 x 10⁵ hücrelere u2922-PE ve PE-Cy5 konjuge primer antikorları antikorlara eklendi. Antikorlara yapışması için karanlık ortamda YDMKH'ler 30 dakika 4 °C'de bekletildi. Negatif kontrol olarak CD34-PE ve CD45-PE-Cy5 ve pozitif kontrol ve izotipik kontrol olarak CD90-FITC ve CD105-FITC kullanıldı. Bekleme sonunda hücrelerin üzerine 500 µl isodiluent eklenerek, 5 dakika 1000 rpm'de santrifüj edildi ardından

tüplere 500 µl isodiluent eklendikten sonra BD FACS Calibur akış sitometri cihazında (Becton, Dickinson and Company, ABD) analizleri yapıldı.

5.5. İn vitro farklılaşma analizleri

Yağ dokusuna, osteojenik ve nöronal farklılaşma deneyleri, daha önce açıklanan yöntemlere göre küçük modifikasyonlarla (Gagliardi ve Bunnell 2011) yapıldı.

5.6. Yağ dokusu farklılaşması

YDMKH'ler, DMEM'in 50 ug/mL indometasin, 10⁻⁷ M deksametazon ve 50 ug/mL askorbat-sodyum 2-fosfat ile desteklenmesiyle oluşturulan adipojenik farklılaşma ortamında inkübe edildi (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD). Kültür ortamı her 72 saatte bir yenilendi. 14 gün sonra, farklılaşmış hücreler 1 saat %10 formalin ile sabitlendi ve %60 izopropanol ile yıkandı ve 10 dakika boyunca Oil red O ile boyandı. Boyanan hücreler, %100 izopropanol içinde çözündürüldü. Daha sonra ışık mikroskobu altında morfolojik olarak tespit edildi.

5.7. Osteojenik farklılaşma

YDMKH'ler osteojenik farklılaşma ortamında 10 mM β-gliserol fosfat, 50 µg/mL askorbat sodyum 2-fosfat ve 10⁻⁷ M deksametazon, %1 antibiyotik (Sigma-Aldrich) ile desteklenmiş DMEM içerisinde inkübe edildi. Hücrelerin farklılaşmasından sonra, 10 dakika boyunca etanol kullanılarak sabitlendi ve Alizarin red S ile boyandı. Daha sonra ışık mikroskobu altında morfolojik olarak tespit edildi.

5.8. Nöronal farklılaşma

Nöronal farklılaşmayı indüklemek için hücreler, farklılaşma ortamında 5 gün boyunca kültürlendi (DMEM ortamı 0,5 m Misobutylmetilksantin, 10 ng/mL beyin kaynaklı nörotrofik faktör, 10 ng/mL epidermal büyüme faktörü, 10 ng/mL bazik fibroblast büyüme faktörü, %20 nöral kök hücre proliferasyon takviyesi ile

desteklendi). Nöronal farklılaşma, Nestin, glial fibriler asidik protein (GFAP) ve 2',3'-Cyclic-nükleotid 3'-fosfodiesteraz (CNPase) gibi morfolojik değişiklikler ve nöral marker ekspresyonu ile değerlendirildi. Nöral indüksiyondan sonra hücreler, oda sıcaklığında 15 dakika boyunca %4 paraformaldehit ile sabitlendi, 30 dakika süreyle blokaj solüsyonunda inkübe edildi (%5 (w/v) SSA, FTS içinde %0,6 (h/v) Triton X-100) ve ardından her bir birincil antikor anti-Nestin (A11861, ABclonal), anti-GFAP (A10873, ABclonal) ve anti-CNPase (A1018, ABclonal) ile oda sıcaklığında 3 saat süreyle inkübe edildi. Daha sonra hücreler, yıkama tamponu ile durulandı ve uygun florokrom konjuge sekonder antikorlarla 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Mikroskopi analizi, lazer konfokal mikroskopi (Zeiss LSM 700, Oberkochen, Almanya) ile yapıldı.

5.9. Western Blot analizi

Her iki hücre türünden toplam protein, hücre liziz tamponu (Cell Signaling Technology, Inc., Danvers, MA, ABD) kullanılarak ekstre edildi. Süpernatantların protein konsantrasyonları, bisinkoninik asit tahlili ile belirlendi. İlk olarak, 30 µg protein numunesi %10-12 SDS-PAGE jelleri ile moleküler ağırlıklarına göre ayrıldı. Sonrasında jelden nitroselüloz membranlara protein aktarımı yapıldı. Membranlar, Nestin, GFAP ve CNPase'e karşı birincil antikorlarla inkübe edildi. Horseradish peroksidazla konjuge ikincil antikorların ve bir kemilüminesans kitinin (Cell Signaling Technology, Inc.) kullanılmasının ardından, blotlar ChemiDoc (Biorad) görüntüleme cihazı ile ölçüldü ve gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz (Gapdh) ile normalleştirildi.

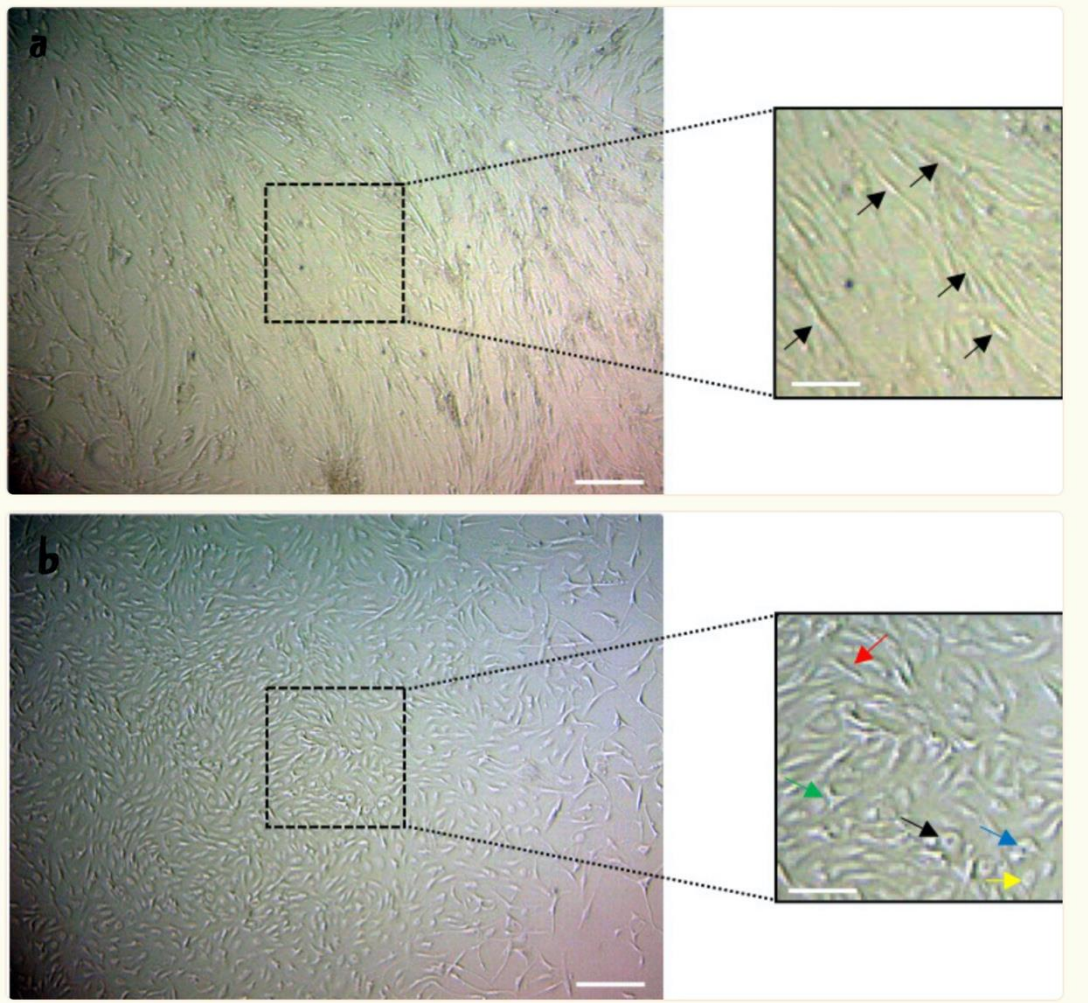
5.10. İstatiksel analiz

İstatistiksel analiz Prism 4 (GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) yazılımı kullanılarak yapıldı. Farklılıkların istatistiksel anlamlılığının belirlenmesi için, eşleştirilmemiş t testi, ardından 2- tail testi yapıldı ve $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. Deri altı ve epidural yağ dokusu kaynaklı kök hücrelerin morfolojik değerlendirilmesi

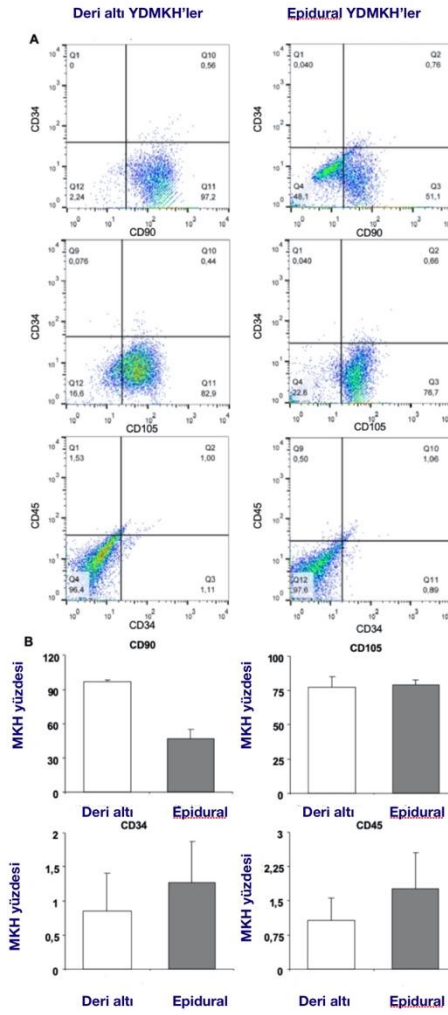
Deri altı yağ dokusundan alınan hücrelerin, resim 6.1a'da görüldüğü gibi, ilk pasajda ince ve uzun hücre süreçleri ile iğ şekli gibi mezenkimal kök hücre morfolojisine sahip olduğu gözlemlendi. Epidural yağ dokusundan alınan hücrelerin, resim 6.1b'de görüldüğü gibi, ilk pasajda üçgen, çokgen, küçük oval ve iğ şekli gibi heterojen morfolojiye sahip olduğu gözlemlendi.



Resim 6.1. Deri altı ve epidural yağ dokularından izole edilen YDMKH'lerin morfolojisi. Deri altı dokudan izole edilen hücreler iğ şeklinde (siyah oklar) daha düzgün fibroblast benzeri şekle büründü (a). Epidural dokudan izole edilen hücreler, farklı yönelmeler ve şekillerde olduğu izlendi; iğ şeklinde (kırmızı ok) üçgen (mavi ok), çokgen (yeşil ok), küçük oval (sarı ok) ve dairesel (siyah ok) (b).

6.2. Deri altı ve epidural yağ dokusu kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin fenotipik karakterizasyonu

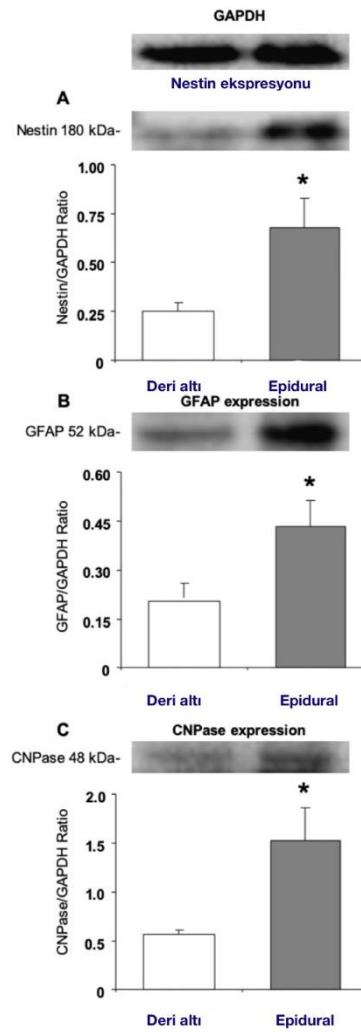
Akış sitometrisi analizi, deri altı ve epidural YDMKH'lerin sırasıyla 0.85 ± 0.56 ve 1.07 ± 0.49 ve 1.27 ± 0.60 ve 1.76 ± 0.78 ortalama yüzdelerle, önemli ölçüde düşük bir CD34 ve CD45 yüzdesi ifade ettiğini ortaya koydu (Tablo 1 A,B). Kök hücrelerin tipik yüzey belirteçleri olan CD90 ve CD105, her iki MKH tipinde de ifade edildi; bununla birlikte, epidural YDMKH'ler, deri altı YDMKH'lerden önemli ölçüde daha düşük CD90 ekspresyonu sergilemiştir; ortalama yüzdeleri sırasıyla 47.07 ± 8.25 ve 96.71 ± 1.95 'tir.



Tablo 6.2. Deri altı ve epidural YDMKH'ler için yüzey farklılaşma antijenleri: Akış sitometrisi analiz sonuçları (A), hem deri altı hem de epidural YDMKH'lerin önemli ölçüde düşük bir CD34 ve CD45 yüzdesi ifade ettiğini gösterdi (B). Kök hücrelerin tipik yüzey belirteçleri CD90 ve CD105, her iki MKH tipinde (2B) ifade edildi; bununla birlikte, epidural YDMKH'ler, deri altı YDMKH'lerden önemli ölçüde daha düşük CD90 ekspresyonu sergilemiştir

6.3. Farklılaşmamış deri altı ve epidural yağ dokusu kaynaklı mezenkimal kök hücreler tarafından nöral ve glial proteinlerin ekspresyonu

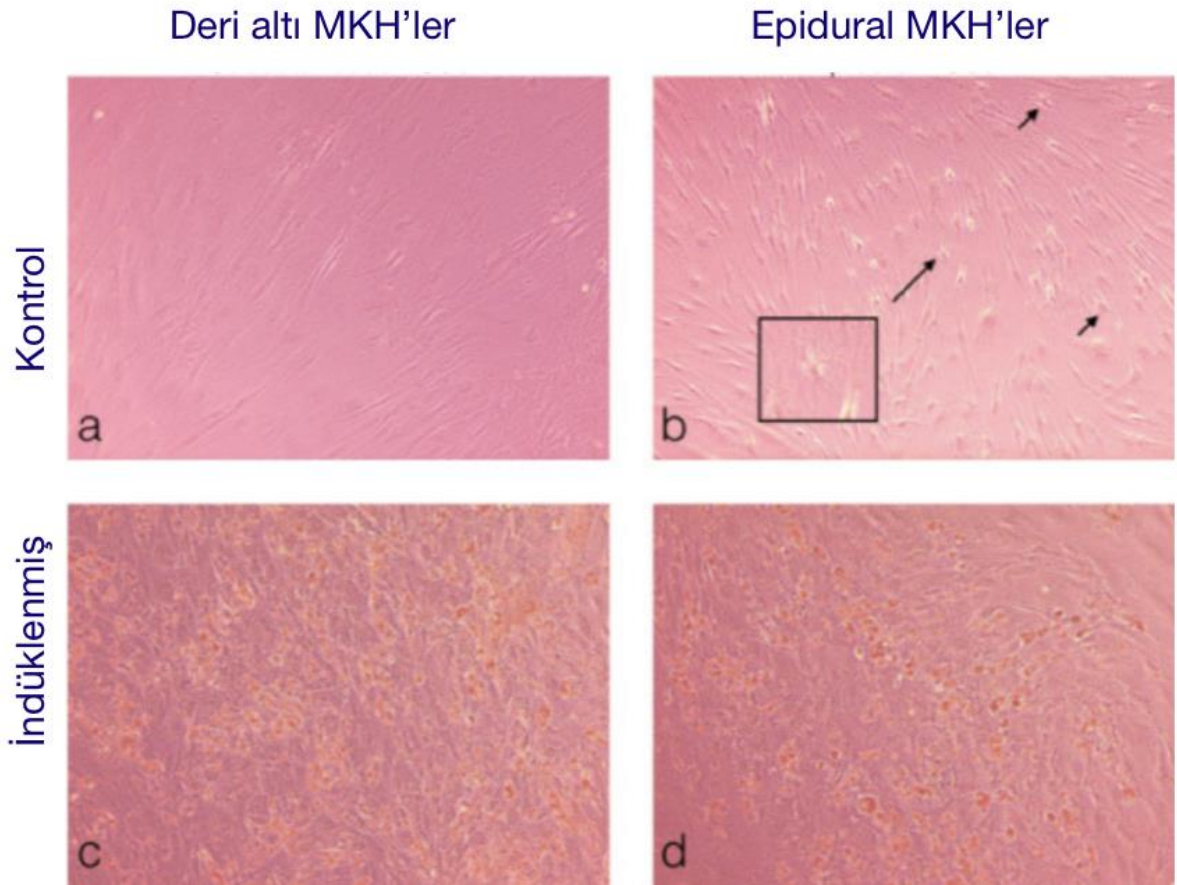
Nestin (nöral kök hücrelerde tarif edilen bir ara filament proteini), GFAP (astrozitler ve endodimal hücreler dahil olmak üzere santral sinir sisteminin çok sayıda hücre tipi tarafından ifade edilen bir ara filament proteini) ve CNPase'nin (miyelin ilişkili enzim) protein ekspresyonları western blot ile araştırıldı. Her iki farklılaşmamış grup, Nestin, GFAP ve CNPase proteininin ekspresyonlarını gösterdi. Tablo 6.3'de görüldüğü gibi Nestin, GFAP ve CNPase için deri altı ve epidural MKH'ler arasında anlamlı bir fark vardı ($P < 0.05$).



Tablo 6.3. Western blot analizi: Nöral indüksiyondan önce, deri altı ve epidural YDMKH'ler nöral hücre proteinleri sırasıyla (A, B, C) Nestin, GFAP ve CNPase ifadeleri izlenmektedir. Nestin (* $P < 0,05$), GFAP (* $P < 0,05$) ve CNPase (* $P < 0,05$) genlerinin ekspresyonu, epidural YDMKH'lerde istatistiksel olarak anlamlıdır.

6.4. Deri altı ve epidural mezenkimal kök hücrelerin yağ dokusuna farklılaşmasının karşılaştırılması

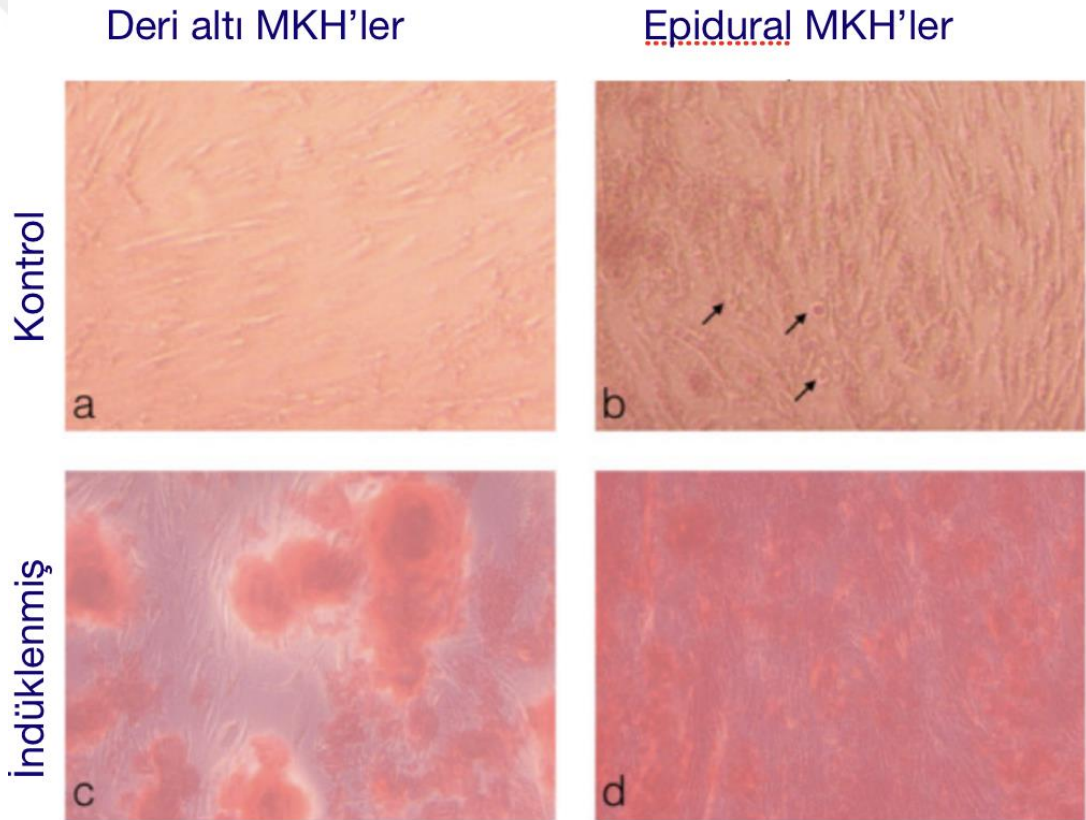
Deri altı ve epidural YDMKH'ler, adipojenik farklılaşmayı incelemek için standart bir adipojenik indüksiyon kültürüne indüklendi ve ardından resim 6.4.a ve b'de görüldüğü gibi kontrol hücreleri ile karşılaştırıldı. Oil red O boyama sonuçları, deri altı ve epidural YDMKH'lerde sitoplazmalarında küçük lipid damlacıklarını gösterdi (Resim 6.2.c ve 6.2.d). Kontrol örneklerinde Oil red O-pozitif hücreler gözlenmedi. Ayrıca, Şekil 6.4.b'de gösterildiği gibi, epidural YDMKH'lerin indüklenmemiş kontrollerinde farklılaşmış hücreler izlendi.



Resim 6.4. Işık mikroskopunda adipojenik farklılaşmanın morfolojik gözlemleri: Normal büyüme ortamında 14 gün boyunca kültürlenen deri altı ve epidural YDMKH'ler (a,b). Adipojenik ortamda 14 gün boyunca kültürlenmiş deri altı ve epidural YDMKH'lerde kırmızı boyanan lipid damlacıklarının oluşumunu gösterildi. Epidural YDMKH'lerin kontrolünde farklılaşmış yıldız şeklindeki hücreler izlendi (siyah oklar), kutu daha fazla büyütülmüş bir görünümü gösterir (b).

6.5. Deri altı ve epidural yağ dokus kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin osteojenik farklılaşmasının karşılaştırılması

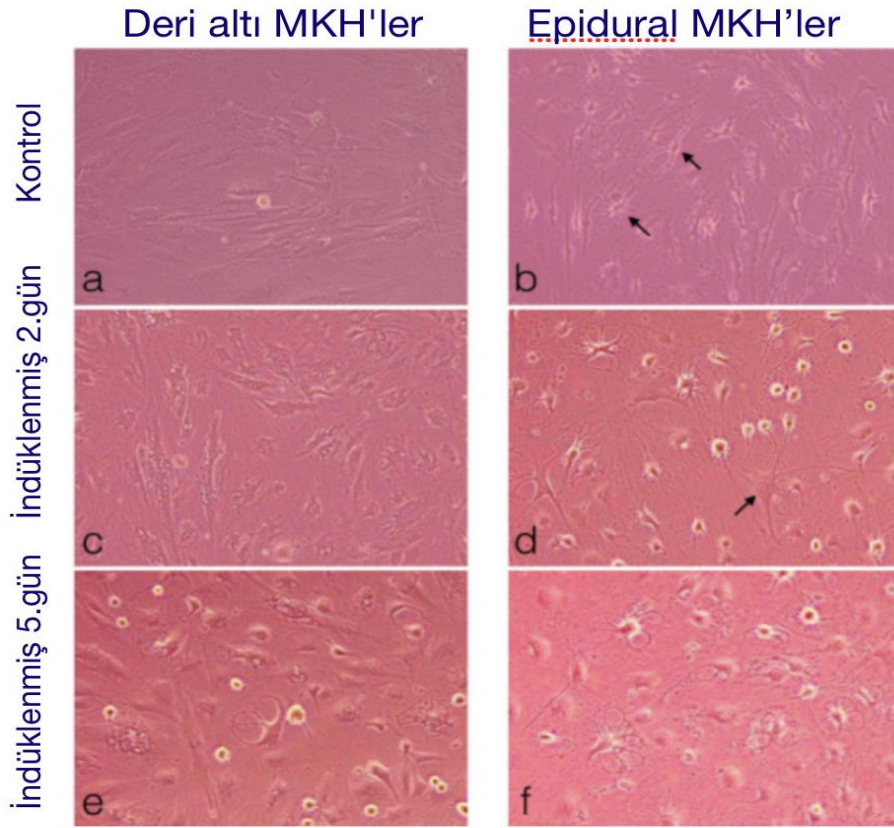
Deri altı ve epidural YDMKH'ler standart bir osteojenik indüksiyon kültürüne indüklendiler kontrol hücreleri ile karşılaştırıldılar. Alizarin kırmızısı S boyama sonuçları, epidural YDMKH'lerde deri altı YDMKH'lere kıyasla daha yüksek olan bir kalsiyum kristalleri birikimini gösterdi (Resim 6.5.d). Kontrol kültürlerinde hiçbir Alizarin kırmızısı pozitif hücre gözlenmedi. Ayrıca, resim 6.5.b'de gösterildiği gibi, epidural YDMKH'lerin indüklenmemiş kontrollerinde farklılaşmış hücreler gözlendi,



Şekil 6.5. Işık mikroskopunda osteojenik farklılaşmanın morfolojik gözlemleri: 21 gün boyunca normal büyüme ortamında kültürlenmiş deri altı ve epidural YDMKH'ler (a,b). 21 gün boyunca osteojenik ortamda kültürlenmiş deri altı epidural YDMKH'ler. Alizarin kırmızısı boyaması, indüklenen her iki grupta da kalsiyum kristallerinin çökelediğini gösterdi (c,d). Oklar, epidural kontrolünde dairesel farklılaşmış hücreleri gösterir.

6.6. Deri altı ve epidural yağ dokusu kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin nörojenik farklılaşmasının karşılaştırılması

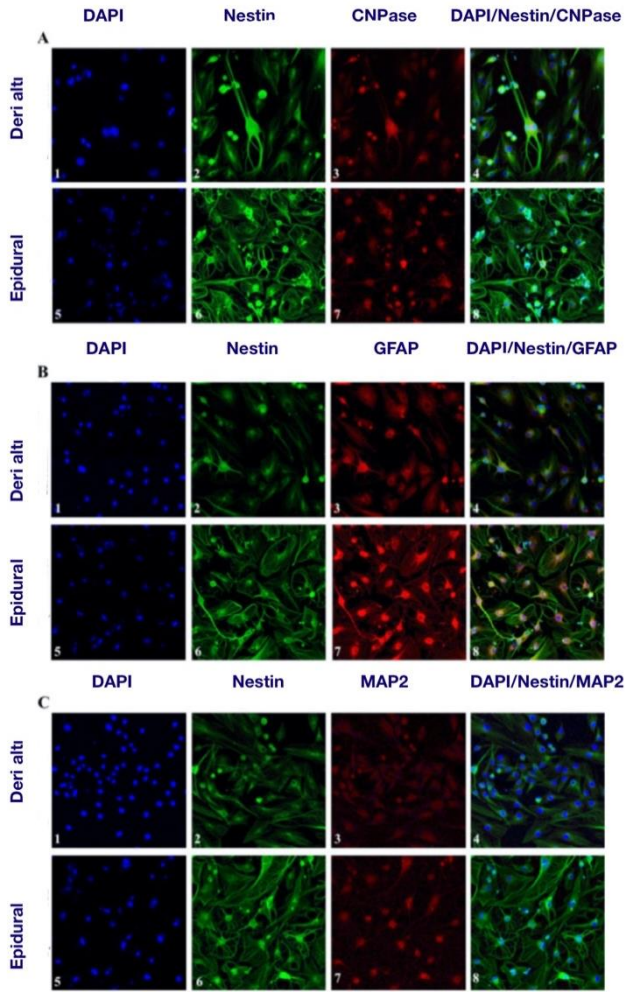
Deri altı ve epidural YDMKH'ler, nörojenik farklılaşmayı incelemek için standart bir nörojenik indüksiyon kültürüne indüklendi ve kontrol hücreleri ile (Resim 6.6.a ve b) karşılaştırıldı. Nöral indüksiyonun 2. gününde, epidural YDMKH'ler deri altı YDMKH'lere kıyasla nöronal veya glial benzeri hücelere farklılaşmıştır (Resim 6.6.c, ve d). 5 gün sonra, her iki hücre grubu da sitoplazmanın büzülmesi, akson oluşumu ve dendrit benzeri sitoplazmik çıkıntılar dahil olmak üzere hücresel morfolojilerinde değişiklikler gösterdiler (Resim 6.6.e ve f). Ancak bu morfolojik farklılaşma epidural YDMKH'lerde daha belirgindi. Ayrıca, resim 6b'de gösterildiği gibi, epidural YDMKH'lerin indüklenmemiş kontrollerinde nöroglia benzeri hücreler gözlemlendi.



Resim 6.6. Işık mikroskopunda nörojenik farklılaşmanın morfolojik gözlemleri: Normal büyüme ortamında kültürlenen 5. gününde deri altı ve epidural YDMKH'ler (oklar nöroglia benzeri hücreleri gösterir). Nörojenik ortamda kültürlenmiş epidural YDMKH'lerde 2. günde nöron benzeri bir hücre izlendi (d). Deri altı ve epidural YDMKH'ler nörojenik ortamda nöron veya glial benzeri hücrelerin farklılaştığı izlenmektedir (e, f).

6.7. Deri altı ve epidural YDMKH'lerin nöral indüksiyonundan sonra immünohistokimya ile karşılaştırmalı morfolojik analizi

Deri altı ve epidural MKH'lerden türetilen nöral farklılaşmış hücrelerde Nestin, CNPase, GFAP ve MAP-2 belirteçlerinin ekspresyonunu araştırmak için immünohistokimya boyaması yapıldı (Resim 6.7). Her iki hücre grubunda da nöral indüksiyonun 5. gününde belirteçler gösterildi. Bununla birlikte, tüm numunelerde deri altı ve epidural MKH'ler arasında nörojenik farklılaşmış hücrelerde dikkate değer bir morfolojik fark vardı.



Resim 6.7. Lazer konfokal mikroskopisi altında deri altı ve epidural MKH'lerin nörojenik farklılaşmasının morfolojik gözlemleri: A, B ve C panellerinde görüldüğü gibi DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol) işaretli hücre çekirdeklerinin (mavi) floresan mikrografları izlenmektedir. Tüm panellerde Nestin işaretleyici ifadesi yeşil renk görüldü. A3 ve A7 panellerinde CNPase işaretçisinin kırmızı renkteki ifadesi izlendi. B3 ve B7 panellerinde GFAP işaretçisinin kırmızı ifadesi izlenmektedir. Panel C3 ve C7'de MAP2 işaretçisinin kırmızı ifadesi izlenmektedir.

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yağ dokusu esas olarak yağ depolayan hücrelerden (adipositler) ve yapısal bir lif ağı içindeki diğer hücre tiplerinden (yani endotelial hücreler, fibroblastlar, nöronal hücreler ve lökositler) oluşan bağ dokusudur (Berry ve ark., 2013; Martinez ve ark., 2014). Yağ dokusu, yağ depo alanları olarak da adlandırılan belirli anatomik yerleşimlerde bulunur. İnsanda bu depolar esas olarak vücudun üst ve alt kısımlarında deri altı yerleşimli ve karın içi veya viseral yağ birikintileri olarak sınıflandırılır (Tchkonina ve ark., 2013). Makroskopik görünümü itibari ile bunlara beyaz yağ dokusu adı verilir. Diğer özel yağ birikintisine, yüksek mitokondri yoğunluğu nedeniyle koyu bir pigmente sahip olan kahverengi yağ dokusudur. Mevcut çalışmamızda, lomber-epidural ve lomber-spinal subkutan yağ dokularından alınan her iki numune de bu geleneksel sınıflandırmaya göre BYD'dir (Reina ve ark., 2009). BYD'lerin birincil işlevi enerji dengesindeki değişikliklere yanıt olarak yağ asidi moleküllerini depolamak ve serbest bırakmaktır. Ayrıca, BYD'lerin immün, endokrin, mekanik ve termal fonksiyonlar dahil olmak üzere farklı rolleride vardır (Kruglikov ve Scherer 2016). Bu büyük BYD depo alanlarına ek olarak, genellikle küçük boyutlu ve vücudun her yerine geniş bir şekilde dağılmış doku ile ilişkili BYD birikintileri vardır. Bu depolar bitişik anatomik yapılarla yakından ilişkilidir. Dura mater ve epidural yağ dokusu ile anatomik ve ultrastrüktürel yakın ilişkileri göz önüne alındığında, doku ile ilişkili ayrı bir yağ birikimi olduğu varsayılabilir. Son çalışmalar, doku ilişkili BYD birikimlerinin, özellikle kök hücreden zengin dokuda (yani kemik iliği, deri ve meme bezi) doku büyümesinin modülasyonu ve doku onarımı veya rejenerasyon süreci gibi çeşitli işlevlere sahip olduğunu göstermiştir (Zwick ve ark.2018).

Epidural yağ dokusu hakkındaki bilgiler, sadece vertebral kolonun hareketine karşı dura mater ve sinir kökleri gibi çevre dokular için biyomekanik destek ile ilgilidir (Reina ve ark., 2009). Bununla birlikte, farklı işlevlerinin tanımlanmasındaki ilerlemeler nedeniyle, spinal patolojilerle ilişkili yeni terapötik yaklaşımların ortaya çıkması muhtemeldir. Sonuç olarak, doku ile ilişkili BYD yataklarının işlevlerini anlamamanın ilk adımı, onların gelişimsel kökenlerini anlamaktır. Bununla birlikte, yağ dokusu, daha önce belirtildiği gibi olgun adipositler dışında, SVF olarak bilinen heterojen bir hücre karışımına sahiptir. Bu nedenle, her bir yağ

deposunun gelişimsel kökeni için tek bir kaynak olduğunu söylemek zordur (Sanchez ve ark., 2014). Ek olarak, SVF bol miktarda multipotent kök hücre popülasyonu içerir (Raposio ve ark., 2007; Zuk ve ark., 2002). Yağ dokusundan elde edilen mezenkimal kök hücrelerin CD90, CD105, CD73, CD44 ve CD166 gibi YDMKH yüzey belirteçlerini ve ayrıca CD45, CD34 ve HLA-DR hematopoietik yüzey belirteçlerinin negatif ekspresyonunu ifade etmesi beklenir. Ancak bu belirteçler, YDMKH'lerin tüm özelliklerini tutarlı bir şekilde ifade etmez ve profil ifadesi, kültür zamanı ve ortamına göre değişebilir (Baer ve Geiger, 2012).

Mevcut sonuçlara göre, YDMKH'ler, CD90 ve 105 için pozitif ve CD34 ve CD45 için negatif olan tek tip karakteristik işaretler göstermiştir. Bununla birlikte, çalışmamızın sonuçları, CD90 ekspresyonunun epidural MKH'lerde (%47.07) subkutan MKH'lere (%96,7) kıyasla daha düşük bir yüzde olduğunu ortaya koydu. Thy-1 olarak da bilinen CD90, MKH'lerde eksprese edilen 25-37 kDaltonluk bir glikosilfosfatidilinositol bağlantılı glikoproteindir (Williams ve Gagnon, 1982). CD90 ekspresyonunun işlevi ile ilgili çeşitli hücre tiplerinde yara iyileşmesinden nörit büyüme modülasyonuna kadar artan sayıda çalışmaya rağmen, kök hücre biyolojisindeki işlevi belirsizliğini koruyor. Ayrıca osteogeneze dönüşebilen moleküler yolaklar tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte, CD90 ekspresyonundaki bir azalma, daha etkili bir osteojenik farklılaşmaya yol açar (Chen ve ark., 1999; Moraes ve ark., 2016; Wiesmann ve ark., 2006). Bizim çalışmamızda, CD 90 ekspresyonunun azalması, deri altı YDMKH'lere kıyasla epidural YDMKH'lerde osteojenik indüksiyondan sonra osteojenik matriksin daha belirgin oluşumunu açıklayabilir.

Farklılaşmamış YDMKH'lerin bir başka karakteristik özelliği, fibroblast benzeri hücreler olarak adlandırılan tipik olarak bipolar veya çok kutuplu uzun şekilleridir (Frese ve ark., 2016). Çalışma sonuçları, izole epidural YDMKH'lerin, deri altı YDMKH'lerin aksine, fibroblast benzeri morfoloji dışında heterojen şekiller sergilediğini ortaya koydu (Resim 1). Hücre şekli, iç faktörler yani biyokimyasal ve genetik faktörler ile sıkıştırma, gerilim gibi dış kuvvetler tarafından dengelenen aktif özellikler ile ilişkilidir (Cardozo ve ark., 2012). Bu anlamda, dura etrafına ve ayrıca dural kılıfların içine yayılmış olan olgun epidural adipositler, hücre

yüzeğine uygulanan fiziksel kuvvetlerin dengesi ile doğrudan ilişkili olan düzenli bir altıgen şekle sahip olabilir. Bu dış kuvvetler, dural kesedeki beyin omurilik sıvısı basınç dalgalanmasına ve spinal epidural boşluk basıncına bağlanabilir. İlginç bir şekilde, son araştırmalar, bu dış fiziksel faktörlerin, kök hücrelerin şeklini ve farklılaşma kaderini etkilediğini göstermiştir. Örneğin, artan yerçekimi, YDMKH'lerin şeklinin değişmesine neden olduğu ve hücrelerin osteoblastlara farklılaştığı gösterilmiştir (Andreazzoli ve ark., 2017). Sonuç olarak, epidural boşluk içindeki mekanik kuvvetler olgun epidural adipositlerde izlenen düzenli altıgen şeklin ve epidural YDMKH'lerin fiziksel şekil değişikliklerinde nedeni olabilir. Bunun ötesinde, nöroglia hücrelerine benzer farklılaşmış hücreler, epidural YDMKH'lerin hem adipojenik hem de nörojenik kontrol kültürlerinde herhangi bir nöral indüksiyon olmaksızın gözlemlendi. Bugüne kadar, sadece tek bir çalışma, YDMKH'lerde herhangi bir büyüme faktörü olmadan nöral benzeri hücrelerin kendiliğinden oluşumunun meydana gelebileceğini bildirmiştir (Kang ve ark., 2004). Bu nedenle, farklılaşmamış kültür ortamında epidural ve deri altı YDMKH'ler arasındaki nöral farklılaşma belirteçlerinin ekspresyon seviyesi karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak yüksek seviyelerde nöral kök hücre belirteci, Nestin, GFAP ve CNPase epidural YDMKH'lerde gözlemlendi belirgin olarak gözlemlendi. Kök hücre morfolojilerinin ve gen veya protein ifadelerinin kaynak dokularına bağlı olarak farklı olabileceği iyi bilinmektedir. Ayrıca, farklılaşmamış YDMKH'ler doğal olgunlaşmamış nöral proteinleri ifade edebilir, ancak nöronal farklılaşmadan sonra bu ifadeler azalacaktır (Ashjian ve ark., 2003; Jang ve ark., 2010). Ancak, bu çalışmada, nöral indüksiyondan sonra, epidural YDMKH'lerde, deri altı YDMKH'lere kıyasla nörojenik farklılaşmanın daha belirgin olduğu ve daha erken başladığı gözlemlendi. Bununla uyumlu olarak, in vitro nörojenik farklılaştırılmış epidural YDMKH'lerin Nestin, GFAP, CNPase ve MAP-2 için immünoaktiviteleri görselleştirildi. İlginç bir şekilde, epidural YDMKH'lerin tüm örneklerinde hemen hemen her mikroskopik alanda yıldız şeklinde farklılaşmış kök hücreler gözlemlendi. Bu bulgular, epidural yağ dokusunun santral sistemi için bir kök hücre nişi olabileceğini düşündürdü. Sonuçta hem epidural hem de deri altı yağ dokularından izole edilen bu kök hücreler, kaynak doku ile uyumlu karakteristik morfolojilere ve özel işlevlere sahip olgun hücre tiplerine dönüşebilmelidir. Bu anlamda epidural ve deri altı YDMKH'lerin adipojenik farklılaşma potansiyelleri

arasında morfolojik bir fark yoktu. Bununla birlikte, kök hücre şeklinin heterojenliği ve nörojenik farklılaşma yeteneği, epidural YDMKH'lerin gelişimsel kökenini gösterebilir. Aslında, son çalışmalar, YDMKH'lerin genel olarak kabul edilen kaynağı olan mezoderm dışında farklı gelişimsel kökenler olabileceğini önermiştir (Feng ve ark. 2011; Majka ve ark., 2010, Slukvin ve ark., 2011). Spesifik olarak, soy izleme çalışmaları, az sayıda YDMKH'nin, sefalik bölgedeki bazı belirli alanlarda nöral krestten kaynaklandığını ortaya koymuştur (Billon ve ark., 2007; Lemos ve ark., 2012). Bu farklı küçük kök hücre popülasyonları hem nöral krest progenitörleri hem de preadipositler için belirteçler sergilemişlerdir (Sowa ve ark., 2013). Bu hücrelerin tam işlevleri belirsizliğini koruyor olsa da ilginç bir şekilde, karakteristik fibroblast benzeri şekilden farklı olan bipolar ve multipolar hücre morfolojileri sergilediler (Sowa ve ark., 2013). Nöral krestin memelilerde spinal meninkslerin gelişimsel bir kökeni olduğu gerçeği ışığında, nöral krestten türetilen kök hücrelerin insan epidural yağ dokusunun oluşumuna da katkıda bulunabileceği düşünülebilir.

Sonuç olarak bu çalışma ile epidural YDMKH'lerin osteojenik ve nörojenik farklılaşma kapasitesinin deri altı YDMKH'lerden daha belirgin olduğunu gösterdik. Bununla birlikte, osteojenik ve nörojenik farklılaşma mekanizmalarının tam olarak aydınlatılmasına yönelik daha ileri çalışmaların planlanması gerekmektedir.

8. KAYNAKLAR

Andreazzoli M Angeloni D Broccoli V Demontis GC Microgravity, Stem Cells, and Embryonic Development: Challenges and Opportunities for 3D Tissue Generation. *Frontiers in Astronomy and Space Sciences*. 2017;4UNSP 210

Ashjian PH Elbarbary AS Edmonds B DeUgarte D Zhu M et al. Plastic and Reconstructive Surgery. 2003;111:1922–1931.

Baer PC, Geiger H. Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells: tissue localization, characterization, and heterogeneity. *Stem Cells Int*. 2012;2012:812693.

Bagno LL, Carvalho D, Mesquita F, et al. Sustained IGF-1 secretion by adipose-derived stem cells improves infarcted heart function. *Cell Transplant*. 2016;25(9):1609–1622.

Bacou F, Boubaker el Andaloussi R, Daussin P-A, et al. Transplantation of adipose tissue-derived stromal cells increases mass and functional capacity of damaged skeletal muscle. *Cell Transplant*. 2004;13:103–111.

Barlow, s., Brooke, g., Chatterjee, k., Price, g., Pelekanos, r., Rossetti, t., Doody, m., Venter, d., Pan, s., Gilshenan, k., Atkinson k., 2008, Comparison of human placenta- and bone marrow-derived multipotent mesenchymal stem cells, *Stem Cells Dev.*, 17 (6), 1095-10107.

Black P Cerebrospinal fluid leaks following spinal surgery: use of fat grafts for prevention and repair. Technical note. *Journal of Neurosurgery*. 2002;96:250–252

Blanpain C., Fuchs E.: Stem cell plasticity. Plasticity of epithelial stem cells in tissue regeneration. *Science* 2014; 344: pp. 1242281. 11.

Beaujeux R WolframGabel R Kehrli P Fabre M Dietemann JL Posterior lumbar epidural fat as a functional structure? Histologic specificities. *Spine*. 1997;22:1264–1268.

Berry DC Stenesen D Zeve D Graff JM The developmental origins of adipose tissue. *Development*. 2013;140:3939–3949.

Billon N Iannarelli P Monteiro MC Glavieux-Pardanaud C Richardson WD The generation of adipocytes by the neural crest. *Development*. 2007;134:2283–2292.

Bourin P Bunnell BA Casteilla L Dominici M Katz AJ Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT) *Cytotherapy*. 2013;15:641–648.

Brignier, A. C., Gewirtz, A. M., 2010, Embryonic and adult stem cell therapy, *J Allergy Clin Immunol.*, 125 (2 Suppl 2), 336-344.

Brown JC, Shang H, Li Y, et al. Isolation of adipose-derived stromal vascular fraction cells using a novel point-of-care device: cell characterization and review of the literature. *Tissue Eng Part C Methods*. 2017;23(3):125–135.

Cammisa FP Girardi FP Sangani PK Parvataneni HK Cadag S Incidental durotomy in spine surgery. *Spine*. 2000;25:2663–2667

Cardozo AJ Gomez DE Argibay PF Neurogenic differentiation of human adipose-derived stem cells: Relevance of different signaling molecules, transcription factors, and key marker genes. *Gene*. 2012;511:427–436.

Ceylan D, Tatarlı N, Abdullaev T, Şeker A, Yıldız SD, Keleş E, Konya D, Bayri Y, Kiliç T, Çavdar S. The denticulate ligament: anatomical properties, functional and clinical significance. *Acta Neurochir (Wien)*. 2012 Jul;154(7):1229-34.

Cui L, Liu B, Liu G, et al. Repair of cranial bone defects with adipose derived stem cells and coral scaffold in a canine model. *Biomaterials*. 2007;28:5477–5486.

Costantino PD Wolpoe ME Govindaraj S Chaplin JM Sen C Human dural replacement with acellular dermis: Clinical results and a review of the literature. *Head and Neck-Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck*. 2000;22:765–771.

Chen XD Qian HY Neff L Satomura K Horowitz MC Thy-1 antigen expression by cells in the osteoblast lineage. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1999;14:362–375.

Choi EW, Shin IS, Park SY, et al. Characteristics of mouse adipose tissue-derived stem cells and therapeutic comparisons between syngeneic and allogeneic adipose tissue-derived stem cell transplantation in experimental autoimmune thyroiditis. *Cell Transplant*. 2014;23(7):873–887.

Decimo I, Bifari F, Rodriguez FJ, Malpeli G, Dolci S. Doublecortin-Positive Cells Nestin- Stem Cells. 2011;29:2062–2076.

De Sá PM, Richard AJ, Hang H, Stephens JM. Transcriptional regulation of adipogenesis. In: *Comprehensive Physiology*. Vol 7. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2017:635–674.

De Decker M, De Schrijver L, Thiessen F, et al. Breast cancer and fat grafting: efficacy, safety and complications—a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016;207:100–108.

Engler A.J., Sen S., Sweeney H.L., Discher D.E.: Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell* 2006; 126: pp. 677-689.

Frese, L., Dijkman, P. E. ve Hoerstrup, S. P., 2016, Adipose tissue-derived stem cells in regenerative medicine, *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 43 (4), 268-274.

Feng JF, Mantesso A, De Bari C, Nishiyama A, Sharpe PT. Dual origin of mesenchymal stem cells contributing to organ growth and repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108:6503–6508.

Gagliardi C, Bunnell BA. Isolation and culture of rhesus adipose-derived stem cells. *Methods in Molecular Biology*. 2011;702:3–16.

Gnanasegaran N, Govindasamy V, Musa S, Kasim NH. Different isolation methods alter the gene expression profiling of adipose derived stem cells. *International Journal of Medical Sciences*. 2014;11:391–403.

Giordano A, Smorlesi A, Frontini A, Barbatelli G, Cinti S. Mechanisms in endocrinology: White, brown and pink adipocytes: the extraordinary plasticity of the adipose organ. *Eur. J. Endocrinol*. 2014;170(5):R159–R17.

Gonzales K.A.U., and Fuchs E.: Skin and its regenerative powers: an alliance between stem cells and their niche. *Dev Cell* 2017; 43: pp. 387-401

Gola A, Fuchs E. Environmental control of lineage plasticity and stem cell memory. *Current Opinion in Cell Biology*. 2021 Apr;69:88-95.

Gimble J, Katz A, Bunnell B. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine.[06/11/2017];*Circ Res*. 2009 100:1249–1260.

Hutley, L. J., Newell, F. S., Suchting, S. J. ve Prins, J. B., 2001, Adipose tissue, *Primary Mesenchymal Cells*, 5, 173-187

Hong J Y, Suh S W, Park S Y et al. Analysis of dural sac thickness in human spine-cadaver study with confocal infrared laser microscope. *Spine J*. 2011;11(12):1121–1127

Hu JJ, Sun C, Lan L, et al. Therapeutic effect of transplanting beta (2) m(-)/Thy1(+) bone marrow-derived hepatocyte stem cells transduced with lentiviral-mediated HGF gene into CCl(4)-injured rats. *J Gene Med*. 2010;12(3):244–254.

Himms-Hagen J, Melnyk A, Zingaretti MC, Ceresi E, Barbatelli G, Cinti S. Multilocular fat cells in WAT of CL-316243-treated rats derive directly from white adipocytes. *Am. J. Physiol. Physiol*. 2000;279(3):C670–C68.

Huebsch N., et. al.: Harnessing traction-mediated manipulation of the cell/matrix interface to control stem-cell fate. *Nat Mater* 2010; 9: pp. 518-526.

Jang S, Cho HH, Cho YB, Park JS, Jeong HS. Functional neural differentiation of human adipose tissue-derived stem cells using bFGF and forskolin. *BMC Cell Biol*. 2010 Apr 16;11:25. doi: 10.1186/1471-2121-11-25. PMID: 20398362; PMCID: PMC2867791.

Kruglikov IL Scherer PE Targets? *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2016;27:1–10.

Kochegarov A, Lemanski LF. New trends in heart regeneration: a review. *J Stem Cells Regen Med*. 2016;12(2):61–68.

Kang SK Putnam LA Ylostalo J Popescu IR Dufour J Neurogenesis of Rhesus adipose stromal cells. *Journal of Cell Science*. 2004;117:4289–4299.

Killaars A.R., et. al.: Extended exposure to stiff microenvironments leads to persistent chromatin remodeling in human mesenchymal stem cells. *Adv Sci (Weinh)* 2019; 6: pp. 1801483.

Lemos DR Paylor B Chang C Sampaio A Underhill TM Functionally Convergent White Adipogenic Progenitors of Different Lineages Participate in a Diffused System Supporting Tissue Regeneration. *Stem Cells*. 2012;30:1152–1162.

Li C.X., et. al.: MicroRNA-21 preserves the fibrotic mechanical memory of mesenchymal stem cells. *Nat Mater* 2017; 16: pp. 379-389.

Lu, L., Finegold, M. J., & Johnson, R. L. (2018). Hippo pathway coactivators Yap and Taz are required to coordinate mammalian liver regeneration. *Experimental & molecular medicine*, 50(1), e423. Stem cell niches for skin regeneration. *International Journal of Biomaterials*. 2012.

Lindroos B, Suuronen R, Miettinen S. The potential of adipose stem cells in regenerative medicine. *Stem Cell Rev*. 2011;7(2):269–291.

Mayfield FH Autologous fat transplants for the protection and repair of the spinal dura. *Clinical Neurosurgery*. 1980;27:349–361.

Martinez-Santibanez G Cho KW Lumeng CN Imaging White Adipose Tissue with Confocal Microscopy. *Methods of Adipose Tissue Biology, Pt A*. 2014;537:17–30.

Merino-Gonzalez C., Zuniga F.A., Escudero C., et al: Mesenchymal stem cell–derived extracellular vesicles promote angiogenesis: potential clinical application. *Front Physiol* 2016; 7: pp. 24).

Moraes DA Sibov TT Pavon LF Alvim PQ Bonadio RS A reduction in CD90 (THY-1) expression results in increased differentiation of mesenchymal stromal cells. *Journal of Stem Cell Research & Therapy*. 2016;7:97–10.

Montarras D, Morgan J, Collins C, et al. Direct isolation of satellite cells for skeletal muscle regeneration. *Science* 2005; 309:2064.

Majka SM Fox KE Psilas JC Helm KM Childs CR De novo generation of white adipocytes from the myeloid lineage via mesenchymal intermediates is age, adipose

depot, and gender specific. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107:14781–14786.

Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am. J. Physiol. Metab.* 2007;293(2):E444–E452).

Reina MA Franco CD Lopez A De Andres JA van Zundert A. Clinical implications of epidural fat in the spinal canal. A scanning electron microscopic study. *Acta Anaesthesiologica Belgica*. 2009;60:7–17.

Raposio E Guida C Baldelli I Benvenuto F Curto M Characterization and induction of human pre-adipocytes. *Toxicology in Vitro*. 2007;21:330–334.

Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* 1992; 255:1707.

Ragina, N. P. ve Cibelli, J. B., 2009, Parthenogenetic Embryonic Stem Cells in Nonhuman Primates, In: *Trends in Stem Cell Biology and Technology*, Eds: Springer, p. 39-55.

Rodriguez AM, Pisani D, Dechesne CA, et al. Transplantation of a multipotent cell population from human adipose tissue induces dystrophin expression in immunocompetent mdx mouse. *J Exp Med*. 2005;201(9):1397–1405.

Sakka L1,2,3, Gabrillargues J4, Coll G1,2. *Anatomy of the Spinal Meninges*. *Oper Neurosurg (Hagerstown)*. 2016 Jun 1;12(2):168-188.

Sağsöz, H., Ketani, M. A., 2008, Kök hücreler, *Dicle Üniv Vet. Fak. Derg.*, 1 (2): 29 – 33.

Slukvin II Vodyanik M. Endothelial origin of mesenchymal stem cells. *Cell Cycle*. 2011;10:1370–1373.

Shaffrey CI Spotnitz WD Shaffrey ME Jane JA Neurosurgical applications of fibrin glue: augmentation of dural closure in 134 patients. *Neurosurgery*. 1990;26:207–210.

Shyer A.E., et. al.: Emergent cellular self-organization and mechanosensation initiate follicle pattern in the avian skin. *Science* 2017; 357: pp. 811-815.

Sowa Y Imura T Numajiri T Takeda K Mabuchi Y Adipose Stromal Cells Contain Phenotypically Distinct Adipogenic Progenitors Derived from Neural Crest. *PLoS One*. 2013;8.

Sanchez-Gurmaches J Guertin DA Adipocyte lineages: Tracing back the origins of fat. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease*. 2014;05:340–351.

Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126:663.].

Tardieu GG, Fisahn C, Loukas M, et al. The Epidural Ligaments (of Hofmann): A Comprehensive Review of the Literature. *Cureus*. 2016;8(9):e779. Published 2016 Sep 13. doi:10.7759/cureus.779.

Thomson JA, Itskovitz-eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 2011;5391(282):1145–1147[3].

Tchkonia T Thomou T Zhu Y Karagiannides I Pothoulakis C Mechanisms and Metabolic Implications of Regional Differences among Fat Depots. *Cell Metabolism*. 2013;17:644–656.

Vandenabeele F, Creemers J, Lambrichts I. Ultrastructure of the human spinal arach-noid ma-ter and dura mater. *J Anat*. 1996;189(pt 2):417-430

Vining K.H., Mooney D.J.: Mechanical forces direct stem cell behaviour in development and regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017; 18: pp. 728-742.

Vatansever, H. S., 2009, Embriyonik kök hücreler, *Sağlıkta Birikim Dergisi*, 1 (5), 25-44.

Wagers A.J., and Weissman I.L.: Plasticity of adult stem cells. *Cell* 2004; 116: pp. 639-648

Waked K, Colle J, Doornaert M, et al. Systematic review: the oncological safety of adipose fat transfer after breast cancer surgery. *Breast*. 2017;31:128–136.

Williams AF Gagnon J Neuronal cell Thy-1 glycoprotein: homology with immunoglobulin. *Science*. 1982;216:696–703.

Wiesmann A, Bühring HJ, Mentrup C, Wiesmann HP. Decreased CD90 expression in human mesenchymal stem cells by applying mechanical stimulation. *Head Face Med.* 2006;2:8.

Wu J, Boström P, Sparks LM, Ye L, Choi JH, Giang A-H, Khandekar M, Virtanen KA, Nuutila P, Schaart G, Huang K, Tu H, van Marken Lichtenbelt WD, Hoeks J, Enerbäck S, Schrauwen P, Spiegelman BM. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell.* 2012;150(2):366–376.

Wong, V. W., Levi, B., Rajadas, J., Longaker, M. T., & Gurtner, G. C. (2012). Stem cell niches for skin regeneration. *International journal of biomaterials*, 2012, 926059.

Young, H. E., Black, A. C., 2004, Adult stem cells, *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 276 (1), 75-102.

Zimmerlin L, Donnenberg VS, Rubin JP, et al. Mesenchymal markers on human adipose stem/progenitor cells. *Cytometry A.* 2013;83(1):134–140.

Zwick RK Guerrero-Juarez CF Horsley V Plikus MV Anatomical, Physiological, and Functional Diversity of Adipose Tissue. *Cell Metabolism.* 2018;27:68–83.

Zuk, P. A., Zhu, M., Ashjian, P., De Ugarte, D. A., Huang, J. I., Mizuno, H., Alfonso, Z. C., Fraser, J. K., Benhaim, P. ve Hedrick, M. H., 2002, Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells, *Molecular biology of the cell*, 13 (12), 4279-429

9. EKLER

10. ÖZGEÇMİŞ

Yayınlar

Solmaz B, Şahin A, Keleştemur T, Kiliç E, Kaptanoğlu E.(2020) Evidence that osteogenic and neurogenic differentiation capability of epidural adipose tissue-derived stem cells was more pronounced than isubcutaneous cells. Turk J Med Sci. doi: 10.3906/sag-2001-76.

Solmaz, Bilgehan. "Does Adipose Tissue as an Endocrine Organ Play A Role in Pathologies of The Spinal Dura Mater?." NEUROENDOCRINOLOGY. Vol. 111. No. SUPPL 1. ALLSCHWILERSTRASSE 10, CH-4009 BASEL, SWITZERLAND: KARGER, 2021.

Çavdar S, Solmaz B, Taniş Ö, Guler OU, Dalçık H, Aydoğmuş E, Altunkaya L, Kara E, Aslyüksek H. (2021) Anatomic variations of the human falx cerebelli and its association with occipital venous sinuses.British Journal of Neurosurgery.doi: 10.1080/02688697.2020.1793907.

Hadi Sasani, Bilgehan Solmaz, Mehdi Sasani, Metin Vural, Ali Fahir Ozer (2019). Diagnostic Importance of Axial Loaded Magnetic Resonance Imaging in Patients with Suspected Lumbar Spinal Canal Stenosis. World Neurosurgery, doi.org/10.1016/j.wneu.2019.02.091

Yilmaz MO, Rakici IT, Karaoglu AC, Solmaz B. (2020) Peripheral Facial Nerve Palsy After Ventriculoperitoneal Shunt Surgery: An Anatomical Perspective.Turk Neurosurg. Doi: 10.5137/1019-5149.JTN.27063-19.4

Bilgehan Solmaz, Mustafa Görkem Özyurt, Demir Berk Ata, Fulya Akçimen, Mohammed Shabsog, Kemal Sıtkı Türker, Hakkı Dalçık, Oktay Algin, Ayşe Nazlı Başak, Merve Özgür, Safiye Çavdar, (2018). Assessment of the corticospinal fiber integrity in mirror movement disorder, Journal of Clinical Neuroscience, https://doi.org/10.1016/j.jocn.

Özlem Kirazlı, Bilgehan Solmaz, Safiye Çavdar. (2016) The contributions to the human dorsal column tracts from the spinal cord laminae. , Journal of Integrative Neuroscience, DOI: 10.1142/S0219635216500217

Bilgehan Solmaz, Necati Tatarlı, Feray Günver, Türker Emre (2016). A thoracic vertebral brown tumor presenting with paraparesis in a patient with end-stage renal disease, *British Journal of Neurosurgery*, Doi:10.1080/02688697.2016.119978

B. Solmaz, N Tatarlı, D Ceylan, E Keleş, S Çavdar - *Acta Neurochirurgica* (2015). Intradural communication between dorsal rootlets of spinal nerves: their clinical significance. *ACTA NEUROCHIRURGICA*, 157(6), 1069-1076., Doi: 10.1007/s00701-015-2425-5

Tatarlı, Necati, Ceylan, Davut; Şeker, Aşkin Solmaz, Bilgehan; Çavdar, Safiye; Kiliç, Türker (2015). The Supraorbital Keyhole Approach. *Journal of Craniofacial Surgery*, 26(5) 1663-1667. Doi: 10.1097/SCS.0000000000001650

Tuncay Kaner, Mehdi Sasani, Tunc Oktenoglu, Bilgehan Solmaz, Ali Cetin Sarloglu, and Ali Fahir Ozer (2010). Clinical Analysis of 21 Cases of Spinal Cord Ependymoma : Positive Clinical Results of Gross Total Resection. *Journal of Korean Neurosurgical Society*, 47 (2), 102, Doi: 10.3340/jkns.2010.47.2.102

Solmaz, B., Tatarlı, N., Ceylan, D. et al. A sine-wave-shaped skin incision for inserting deep brain stimulators. (2014) *ACTA NEUROCHIRURGICA*, Doi: 10.1007/s00701-014-2123-8.

M Sasani, B Solmaz, T Oktenoglu, AF Ozer - *Child's Nervous System* (2014). An unusual location for a choroid plexus papilloma the pineal region. *Child's Nervous System*, Doi:10.1007 s00381-014-2361-3.

Bilgehan Solmaz, Ahmet Levent Aydin, Cengiz Gomeksiz, Yaprak Ataker, Mehdi Sasani, Tunc Oktenoglu, and Ali Fahir Ozer (2012). Skipping Posterior Dynamic Transpedicular Stabilization for Distant Segment Degenerative Disease, *Advances in Orthopedics*, Doi 10.1155/2012/49681

Sasani, M., Fahir Ozer, A., Oktenoglu, T., Kaner, T., Solmaz, B., Canbulat, N., & Ercelen, O. (2011). Thoracoscopic surgery for thoracic disc herniation. *Journal of Neurosurgical Sciences*, Science Citation Index Expanded, ISSN 0390-5616.

O Barlas, S Karadereler, S Bahar, N Yesilot, Y Krespi, B Solmaz, O Bayindir (2009). Image-guided Keyhole Evacuation of Spontaneous Supratentorial Intracerebral Hemorrhage, Minimally Invasive Neurosurgery. doi.org/10.1055/s-0028-1104610

Bilgehan Solmaz, Ahmet Levent Aydin, Cengiz Gomleksiz et al.(2012). Current Alternatives for Treatment of Degenerative Spinal Disc Disease, Journal of Spine & Neurosurgery. Doi:10.4172/2325-9701.1000e104

Barlas O, Kulaksızoğlu IB, Gürvit H, Göker B, Berkol T, Solmaz B, Batmaz S. Surgical Treatment in Intractable Obsessive-Compulsive Disorder: Anterior Capsulotomy. (2008) J Nervous Sys Surgery. Jun. 30 Available from: <https://www.sscdergisi.org/index.php/sscd/article/view/63>

Sasani, M. Solmaz, B (2012). Endoscopic Approach to Treat Thoracal Spine Deformity , Turkish Neurosurgery. ISSN: 1019-514

Bilgehan SOLMAZ, Necati TATARLI, Özkan ATEŞ (2015). Diagnostic methods in Chiari type 1 malformation, Türk Nöroşirürji Dergisi. ISSN, 1019-5157

Necati Tatarlı, Yusuf Emrah Gergin, Selçuk Özdoğan, Bilgehan Solmaz, Mehmet Tiryaki, Dilek Yavuzer, Tufan Hiçdönmez (2016). Supra- and Infratentorial Cystic Metastases of Breast Cancer: Case Report, Acta Oncologica Turcica, Doi: 10.5505/aot.2016.87004

Necati Tatarlı, Özgür Şenol, Selçuk Özdoğan, Mehmet Tiryaki, Yusuf Emrah Gergin, Dilek Yavuzer, Bilgehan Solmaz, Tufan Hiçdönmez. Calcified Cerebellar Ganglioglioma in an Adult Patient: Case Report. Acta Oncol Tur.. 2016; 49(2): 139-142

Atci, I. B., Yilmaz, H., Yaman, M., Baran, O., Turk, O., Solmaz, B., Kocaman, U., Ozdemir, N. G., Demirel, N., & Kocak, A. (2017). Incidence, hospital costs and in-hospital mortality rates of surgically treated patients with traumatic cranial epidural hematoma. Romanian Neurosurgery, 31(4), 510–516

Tatarlı, N. , Ceylan, D. , Ceylan, N. , Solmaz, B. , Barışık, N. Ö. , Hiçdönmez, T. "Akut nörolojik defisit ile başvuran granülositik sarkom: olgu sunumu". Sakarya Tıp Dergisi 5 (2015): 113-117

Baran, o., Demirel, n., Solmaz, b., Karakaş, e., Karaoğlu, a. c., et al. (2017). spinal tumors. Journal of Turkish Spinal Surgery, 28(4), 245-249.

Özdoğan, S., Baran, O., Demirel, N., Solmaz, B., Düzkalır, H. G., & Koçak, A. (2017). TARLOV CYST. Journal of Turkish Spinal Surgery, 52, 13-7.

Solmaz, B. "Localization of the bregma and its clinical relevance" . Anatomy 12 (2018): 135-139 <<https://dergipark.org.tr/en/pub/anatomy/issue/44861/515020>

Solmaz, B. (2018). Nonfonksiyonel Hipofiz Adenomlarının Cerrahi Endikasyonları ve Yönetimi . Klinik Tıp Aile Hekimliği , 10 (1) , 19-22 . Retrieved from <https://dergipark.org.tr/en/pub/ktah/issue/47188/488509>

Solmaz, B. , Günaldı, Ö. "Gonadotrop Hipofiz Adenomları" . Klinik Tıp Aile Hekimliği 10 (2018): 17-18 <<https://dergipark.org.tr/en/pub/ktah/issue/47188/488498>

Kitap bölümleri

SOLMAZ BİLGEHAN, ATEŞ ÖZKAN (2015). Erken Başlangıçlı Skolyozda Strateji, Spinal Deformiteler. Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları. Editörler: Sedat Dalbayrak, Onur Yaman, Erkan Kaptanoğlu, Serkan Şimşek, Özkan Ateş, Ali Dalgıç. ISBN: 978-605-4149-16-2

MEHDİ SASANI, SOLMAZ BİLGEHAN, GÜVEN MUSTAFA (2015). Chronic İnstability and Fusion Surgery in Lumbar Degenerative Disc Disease, Lumbar Degenerative Disc Disease and Dynamic Stabilization ISBN: 9786055004071

SOLMAZ BİLGEHAN, BOZKUŞ MUHTAR HAKAN (2015). Historical development fusion, rigid and dynamic instrumentation, Lumbar Degenerative Disc Disease and Dynamic Stabilization. İntertıp yayınları. Editörler: Ali Fahir ÖZER, Murat ÇOŞAR. ISBN: 9786055004071

SOLMAZ BİLGEHAN, AYDIN AHMET LEVENT (2015). İnterspinous Spacers, Lumbar Degenerative Disc Disease and Dynamic Stabilization. İntertıp yayınları. Editörler: Ali Fahir ÖZER, Murat ÇOŞAR. ISBN: 978605500407

SOLMAZ BİLGEHAN,SENCER ALTAY (2014). Normal Basıncılı Hidrosefali, Nöroşirürjide Şant Cerrahisi. Selen yayınları. Editörler: Ömür Günaldı, Erhan Emel. ISBN:978-605-64466-4-1

SOLMAZ BİLGEHAN,ÖZER ALİ FAHİR (2012). Endoskopik Diskektominin Tarihçesi. Temel nöroendoskopi. Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları. Editörler: Gönül, Engin, Kutlay, A. Murat, Seçer, H. İbrahim, Düz, Bülent. ISBN: 9786054149070

SOLMAZ BİLGEHAN,BOZKUŞ MUHTAR HAKAN (2015) Füzyon, Rijid ve Dinamik Enstrumantasyonun Tarihsel Gelişimi, Lomber Dejeneratif Disk Hastalığı ve Dinamik Stabilizasyon. Amerikan Hastanesi Yayınları. Editörler: Ali Fahir Özer, ISBN: 9789756523292

SOLMAZ BİLGEHAN (2011). İnterspinöz Ayırıcılar. Lomber Dejeneratif Disk Hastalığı ve Dinamik Stabilizasyon, Amerikan Hastanesi Yayınları. Editörler: Ali Fahir Özer,ISBN 9789756523292

SOLMAZ BİLGEHAN (2016). Nörobiyokimyasal Mekanizmalar, Nöroşirürji Yeterlik Sınavına Hazırlık.U S Akademi yayınları. Editörler: Uzm. Dr. Hüseyin BİÇEROĞLU Prof. Dr. Murat HANCI, ISBN: 978-605-9358-05-7 978-605-9358-04-0978-605-9358-03-3