

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**QUERCETİN YÜKLENMİŞ WHARTON JELİ KAYNAKLI
MEZENKİMAL KÖK HÜCRE EKSOZOMLARININ PREMATÜR
OVARYEN YETMEZLİK MODELİNDE OVER
FONKSİYONLARINA ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Zeynep Ece UTKAN KORUN

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Kök Hücre ve Doku Yenilenmesi Programı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ
2025

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**QUERCETİN YÜKLENMİŞ WHARTON JELİ KAYNAKLI
MEZENKİMAL KÖK HÜCRE EKSOZOMLARININ PREMATÜR
OVARYEN YETMEZLİK MODELİNDE OVER
FONKSİYONLARINA ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Zeynep Ece UTKAN KORUN

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Kök Hücre ve Doku Yenilenmesi Programı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Zehra Seda HALBUTOĞULLARI

Etik Kurul Karar Numarası: KOÜ HAYDEK 7/3-2020

KOCAELİ
2025

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez Adı: Quercetin Yüklenmiş Wharton Jeli Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre Eksozomlarının Prematür Ovaryen Yetmezlik Modelinde Over Fonksiyonlarına Etkisinin İncelenmesi

Tez Yazarı: Zeynep Ece UTKAN KORUN

Tez Savunma Tarihi: 05.02.2025

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Zehra Seda HALBUTOĞULLARI

Bu çalışma, sınav kurulumuz tarafından Kök Hücre ve Doku Yenilenmesi Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

SINAV KURULU ÜYELERİ		
ÜNVANI	ADI SOYADI	İMZA
BAŞKAN (ÜYE)	Prof. Dr. Meltem GÖKSEL ŞAHİN (Kocaeli Üniversitesi)	
DANIŞMAN	Dr. Öğr. Üyesi Zehra Seda HALBUTOĞULLARI	
ÜYE	Prof. Dr. Rukset ATTAR (Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi)	
ÜYE	Prof. Dr. Çiler ÇELİK ÖZENCİ (Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi)	
ÜYE	Prof. Dr. Semil Selcen GÖÇMEZ (Kocaeli Üniversitesi)	
ÜYE	Doç. Dr. Gökhan DURUKSU (Kocaeli Üniversitesi)	

Onay

Bu tez Kocaeli Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla onaylanmıştır.

.... /.... /20...

Prof. Dr. Murat KASAP

KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

QUERCETİN YÜKLENMİŞ WHARTON JELİ KAYNAKLI MEZENKİMAL KÖK HÜCRE EKSOZOMLARININ PREMATÜR OVARYEN YETMEZLİK MODELİNDE OVER FONKSİYONLARINA ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Amaç: Prematür ovaryen yetmezlik (POY), 40 yaşından önce over fonksiyonlarının kaybı ile karakterize ciddi bir bozukluktur ve genetik, otoimmün, iatrojenik ve çevresel faktörlerin karmaşık etkileşiminden kaynaklanmaktadır. POY'un etiyolojisinde genetik anomaliler, otoimmün hastalıklar, çevresel faktörler ve tedaviye bağlı iatrojenik nedenler önemli yer tutmaktadır. Klinik olarak amenore, hipoöstrojenizm ve infertilite ile kendini gösteren bu durum, foliküler rezervin tükenmesi ve hormonal dengesizliklerle ilişkilidir. Günümüzde POY tedavisinde etkili bir yöntem bulunmamakta ve mevcut tedaviler genellikle semptomları hafifletmeye yöneliktir. Bu nedenle, over fonksiyonlarını restore etmeyi hedefleyen yeni tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Mezenkimal kök hücrelerden (MKH) türetilen eksozomlar, parakrin etkileri aracılığıyla doku rejenerasyonu ve immünmodülasyon potansiyeline sahiptir. Eksozomların, içerdikleri mikroRNA, protein ve lipit gibi biyomoleküller sayesinde, hücreler arası iletişimde rol oynadığı ve oksidatif stres, apoptoz gibi patolojik süreçlerin düzenlenmesinde etkili olduğu bilinmektedir. Ayrıca, quercetin, güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri ile over dokusunda koruyucu etkiler göstermektedir. Literatürdeki bulgular, quercetin foliküler gelişimi desteklediğini ve granüloza hücre apoptozunu engellediğini göstermektedir.

Bu çalışmada, prematür ovaryen yetmezliğin tedavisinde Wharton jelinden elde edilen mezenkimal kök hücre (WJ-MKH) eksozomlarının ve quercetin yüklenmiş WJ-MKH eksozomlarının foliküler gelişim, apoptoz ve oksidatif stres üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışmanın amacı, foliküler mikroçevrenin iyileştirilmesi, apoptozun baskılanması ve oksidatif stresin azaltılması yoluyla POY tedavisine yönelik yeni stratejiler geliştirmektir.

Yöntem: Bu çalışmada, siklofosfamid uygulaması ile prematür ovaryen yetmezlik modeli oluşturulan dişi sıçanlar altı gruba ayrıldı: tedavi uygulanmayan kontrol grubu (Kontrol), prematür ovaryen yetmezlik modeli oluşturulan çalışma grubu (POY), intraovaryen olarak fosfatlanmış salin uygulanan çalışma grubu (PBS), intraovaryen quercetin uygulanan çalışma grubu (QUE), intraovaryen eksozom uygulanan çalışma grubu (EXO) ve intraovaryen quercetin yüklenmiş eksozom uygulanan çalışma grubu (EXO-QUE).

Wharton jeli kaynaklı mezenkimal kök hücrelerden izole edilen eksozomlar, dinamik ışık saçılımı (DLS) ve elektron mikroskopi ile karakterize edildi. Quercetin yükleme işlemi gerçekleştirilerek yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yükleme verimliliği değerlendirildi. Tedavi uygulamaları, intraovaryen enjeksiyon yöntemiyle gerçekleştirildi.

Histolojik incelemeler hematoksilin-eozin (H&E) boyama yöntemiyle yapılırken, foliküler gelişim ve morfoloji detaylı bir şekilde değerlendirildi. Serum folikül stimüle edici hormon (FSH) ve anti-Müllerian hormon (AMH) seviyeleri, enzim bağlı immüno-sorbent testi (ELIZA) ile analiz edildi. Apoptoz ve proliferasyon belirteçleri, immunofloresan boyama yöntemi ile konfokal mikroskop altında değerlendirildi. Gen ekspresyonu analizleri, kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) ile gerçekleştirildi. Ayrıca, oksidatif stres belirteçleri ve steroidogenezele ilişkili genler değerlendirildi. Tüm gruplar için veriler SPSS yazılımı kullanılarak analiz edildi.

Bulgular: EXO-QUE uygulanan grupta, atretik folikül sayısında azalma, tersiyer folikül ve korpus luteum sayısında artış gözlemlendi. İmmün floresan boyamalarda, apoptoz belirteci Caspase-3 ekspresyonunun anlamlı şekilde azaldığı, buna karşın proliferasyon belirteçlerinden PcnA ifadesinin belirgin bir şekilde arttığı saptandı. Tedavi gruplarında serum FSH seviyelerinde azalma, AMH seviyelerinde ise anlamlı bir artış tespit edildi. Gen ekspresyon analizlerinde, oksidatif stresle ilişkili Nrf2, Sod1, Star ve KitL gen ifadelerinin özellikle EXO-QUE grubunda belirgin şekilde arttığı görüldü. Fshr ve Amhr2 gen ifadelerinde tüm tedavi gruplarında artış gözlenirken, Gdf9 ve Bmp15 gen ekspresyonlarında artışın QUE ve EXO-QUE gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi.

Sonuç: QUE ve EXO-QUE, prematür over yetmezliği tedavisinde etkili birer terapötik ajan olarak dikkat çekmiştir. Her iki tedavi yöntemi de foliküler gelişimi destekleme, apoptozu azaltma ve proliferasyonu artırma açısından başarılı sonuçlar ortaya koymuş, ancak EXO-QUE'nun özellikle oksidatif stresin yönetimi ve foliküler mikroçevrenin iyileştirilmesi konularında üstün bir etki sergilediği belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen bulgular, POY tedavisinde yenilikçi yaklaşımların geliştirilmesine önemli katkılar sağlamaktadır. Gelecekte yapılacak çalışmalar, EXO-QUE'nun sistemik ve lokal uygulamalardaki etkinlik farklarını ve uzun vadeli etkilerini ortaya koyarak, klinik uygulamalara yönelik daha fazla bilgi sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Prematür ovaryen yetmezlik, Oksidatif stress, Kök hücreler, Quercetin, Eksozom

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF QUERCETIN-LOADED EXOSOMES DERIVED FROM WHARTON JELLY MESENCHYMAL STEM CELLS ON OVARIAN FUNCTIONS IN A PREMATURE OVARIAN FAILURE MODEL

Objective: Premature ovarian insufficiency (POI) is a serious condition characterized by the loss of ovarian function before the age of 40, resulting from the complex interplay of genetic, autoimmune, iatrogenic, and environmental factors. Genetic anomalies, autoimmune diseases, environmental factors, and iatrogenic causes associated with treatment play a significant role in the etiology of POI. Clinically, this condition manifests as amenorrhea, hypogonadism, and infertility and is associated with depletion of the follicular reserve and hormonal imbalances. Currently, there is no effective treatment for POI, and existing therapies are generally aimed at alleviating symptoms. Therefore, new therapeutic approaches that aim to restore ovarian function are needed. Exosomes derived from mesenchymal stem cells (MSCs) possess regenerative and immunomodulatory potential through their paracrine effects. Exosomes are known to play a role in intercellular communication and regulate pathological processes such as oxidative stress and apoptosis due to their bioactive molecules, including microRNAs, proteins, and lipids. Additionally, quercetin, with its potent antioxidant and anti-inflammatory properties, has shown protective effects on ovarian tissue. Studies in the literature indicate that quercetin supports follicular development and prevents granulosa cell apoptosis.

In this study, the effects of mesenchymal stem cell-derived exosomes obtained from Wharton's jelly (WJ-MSCs) and quercetin-loaded WJ-MSC exosomes on follicular development, apoptosis, and oxidative stress in the treatment of premature ovarian insufficiency were investigated. The aim of the study was to develop new strategies for POI treatment by improving the follicular microenvironment, suppressing apoptosis, and reducing oxidative stress.

Method: In this study, a premature ovarian insufficiency model was created using cyclophosphamide in female rats, which were divided into six groups: an untreated control group (Control), a group with POI induced (POI), a group receiving intraovarian phosphate-buffered saline (PBS), a group receiving intraovarian quercetin (QUE), a group receiving intraovarian exosomes (EXO), and a group receiving intraovarian quercetin-loaded exosomes (EXO-QUE).

Exosomes isolated from Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells were characterized using dynamic light scattering (DLS) and electron microscopy. The efficiency of quercetin loading was evaluated using high-performance liquid chromatography (HPLC). Treatments were administered via intraovarian injection.

Histological examinations were performed using hematoxylin-eosin (H&E) staining, and follicular development and morphology were evaluated in detail. Serum follicle-stimulating hormone (FSH) and anti-Müllerian hormone (AMH) levels were analyzed using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Apoptosis and proliferation markers were evaluated using immunofluorescence staining under a confocal microscope. Gene expression analyses were performed using quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR), and oxidative stress markers and steroidogenesis-related genes were also assessed. Data from all groups were analyzed using SPSS software.

Results: In the EXO-QUE group, a decrease in the number of atretic follicles and an increase in the number of tertiary follicles and corpora lutea were observed. Immunofluorescence staining revealed a significant decrease in the expression of the apoptosis marker Caspase-3, while the expression of the proliferation marker PcnA significantly increased. In the treatment groups, serum FSH levels decreased, while AMH levels showed a significant increase. Gene expression analyses demonstrated that the expression of oxidative stress-related genes such as Nrf2, Sod1, Star, and KitL significantly increased, particularly in the EXO-QUE group. Fshr and Amhr2 gene expressions increased in all treatment groups, whereas Gdf9 and Bmp15 gene expressions were statistically significant in the QUE and EXO-QUE groups.

Conclusion: Both QUE and EXO-QUE have emerged as effective therapeutic agents in the treatment of premature ovarian insufficiency. Both treatment methods successfully supported follicular development, reduced apoptosis, and enhanced proliferation. However, EXO-QUE demonstrated superior effects, particularly in managing oxidative stress and improving the follicular microenvironment. The findings of this study contribute significantly to the development of innovative approaches for POI treatment. Future studies could provide more information for clinical applications by exploring the differences in efficacy between systemic and local applications of EXO-QUE and its long-term effects.

Keywords: Premature Ovarian Failure, Oxidative Stress, Stem Cells, Quercetin, Exosomes

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle her zaman yolumu aydınlatan, rehberliği ve desteğiyle bilimsel gelişimime büyük katkılar sağlayan, sabrı ve anlayışıyla bu süreci daha verimli ve anlamlı hale getiren değerli danışman hocam, Sayın Dr.Öğr. Üyesi Zehra Seda HALBUTOĞULLARI'na en derin şükranlarımı sunarım.

Bölüm başkanımız olarak bilgi ve deneyimleriyle çalışmama yön veren, değerli fikirleriyle sürecime rehberlik eden ve manevi desteğiyle bana her zaman güç katan Sayın Prof. Dr. Yusufhan YAZIR'a gönülden teşekkür ederim.

Çalışmamın deney ve değerlendirme aşamalarında bilgi ve birikimlerini cömertce sunan saygı değer hocalarım Prof. Dr. Ayşe KARSON, Doç. Dr. Serap MERT ve Dr. Selenay Hümeysra FURAT RENÇBER'e

İhtiyaç duyduğum her an yanımda olan ve desteklerini her daim hissettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Semil Selcen GÖÇMEZ, Doç. Dr. Gökhan DURUKSU, Doç. Dr. Gülçin GACAR ve başta Araş.Gör. Ahmet ÖZTÜRK, Uzm.Mol.Bio. Candan ALTUNTAŞ, Uzm.Mol.Bio.Bahar Aydoğdu, Mol.Bio. Hilal ÇAĞLAYAN ve Mol.Bio. Onur ÖZCAN olmak üzere KÖGEM ailesine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu zorlu süreçte, akademik yolculuğum boyunca beni sabırla destekleyen, anlayışları ve sevgi dolu yaklaşımlarıyla her an yanımda olan annem Prof. Dr. Tijen UTKAN ve babam Prof. Dr. Nihat Zafer UTKAN'a teşekkürlerimi sunarım. Özellikle, bana her koşulda destek olan ve inancıyla bu süreci daha güçlü bir şekilde tamamlamama sağlayan sevgili eşim Doç. Dr. Oktay KORUN'a; neşesi, enerjisi ve sevgisiyle hayatımı güzelleştiren biricik kızım Nil'e olan minnettarlığımı ifade etmek isterim.

Tez çalışmam Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2021-2626 nolu proje kapsamında desteklenmiştir. Kocaeli Üniversitesi'ne tezimin gerçekleşmesi için gerekli olan finansal desteği sağladığı için teşekkür ederim.

Son olarak, bu çalışmanın her aşamasında desteklerini esirgemeyen tüm bilim insanlarına, laboratuvar imkanlarını paylaşan ve değerli katkılarıyla bu süreci mümkün kılan araştırmacılara içten teşekkür ederim. Onların yardımları ve destekleri olmasaydı bu çalışmanın tamamlanması mümkün olmazdı.

Bu teşekkürler, yalnızca bir dönemin sonunu değil, bilimsel yolculuğumun devamında her zaman hatırlayacağım bir minnettarlık ifadesidir.

Zeynep Ece UTKAN KORUN
Kocaeli, Ocak 2025



ORİJİNALLIK BİLDİRİMİ

Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum "Quercetin Yüklenmiş Wharton Jeli Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre Eksozomlarının Prematür Ovaryen Yetmezlik Modelinde Over Fonksiyonlarına Etkisinin İncelenmesi" başlıklı tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, şekil, tablo ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimde yer alan deneysel çalışmalar/araştırmalar bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yapılmıştır. Tezimin fikir / hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususlar bir intihal programı (Turnitin vb.) kullanılarak test edilmiş olup, doğruluğunu beyan ederim.

30 / 12 / 2024

Zeynep Ece UTKAN KORUN

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Over.....	1
1.1.1. Overlerin Embriyolojik Gelişimi	1
1.1.2. Overlerin Anatomisi.....	2
1.1.3. Overlerin İşlevsel Özellikleri	3
1.1.3.1. Overlerin Histolojik Yapısı ve Folikül Gelişimi	4
1.1.4. Ovulasyon ve Korpus Luteumun Oluşumu	5
1.2. Prematür Ovaryen Yetmezlik (POY).....	6
1.2.1. Etiyoloji ve Patofizyoloji	6
1.2.2. Tanı ve Komplikasyonlar.....	7
1.2.3. Tedavi Yaklaşımları.....	7
1.2.3.1. Hormon Replasman Tedavisi (HRT).....	7
1.2.3.2. Kök Hücre Tedavileri.....	8
1.3. Mezenkimal Kök Hücreler.....	9
1.3.1. Wharton Jeli Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler	10
1.4. Ekstraselüler Veziküller.....	11
1.4.1. Eksozomlar	12
1.4.1.1. Eksozom İzolasyonu ve Karakterizasyonu.....	13
1.5. Quercetin.....	15
2. AMAÇ	16
3. YÖNTEM	17
3.1. WJ-MKH Hücre Kültürü ve Karakterizasyonu	17
3.2. WJ-MKH Eksozom İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Kantifikasyonu	17
3.2.1. WJ-MKH Eksozom İzolasyonu	17
3.2.2. Bikinkoninik asit (BCA) kiti ile protein miktar tayini	18
3.2.3. Zetasizer Cihazı ile Boyut Analizi	18
3.2.4. Elektron Mikroskopi Analizleri	18

3.3.	WJ-MKH Kaynaklı Eksozomlara Quercetin Yüklenmesi ve HPLC ile Yükleme Verimliliğinin Ölçülmesi	19
3.4.	Hayvan Modeli ve Deney Gruplarının Oluşturulması	19
3.5.	Over Kesitlerinde Hematoksilen-Eozin Boyama (H&E) ve Folikül Sayımı	21
3.6.	İmmünfloresan Boyama-Konfokal Mikroskopi ve Skorelama.....	22
3.7.	ELIZA ile Serumdan Hormon Analizleri	22
3.8.	Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR ile Gen Ekspresyonu Analizleri.....	22
3.9.	İstatistiksel Analiz.....	24
3.10.	Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar	24
3.10.1.	Kimyasal Malzemeler	24
3.10.2.	Antikorlar	24
3.10.3.	Alet, Teçhizat ve Cihazlar.....	25
4.	BULGULAR	26
4.1.	WJ-MKH Hücre Kültürü ve Karakterizasyonu	26
4.2.	WJ-MKH Eksozom İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Miktar Tayini.....	27
4.3.	Eksozomlara Quercetin Yükleme Verimliliğinin HPLC ile Ölçümü, Boyut ve Şekil Analizleri.....	27
4.4.	Prematür Ovaryen Yetmezlik Modeli Oluşturma	29
4.4.1.	Hematoksilen-Eosin Boyama (H&E).....	29
4.5.	Over Kesitlerinde Folikül Sayımı	30
4.6.	İmmünfloresan Boyama-Konfokal Mikroskopi ve Skorelama.....	31
4.7.	Kantitatif Real-Time PCR (qRT-PCR) Metodu ile Gen İfadesi Tayini	36
5.	TARTIŞMA	38
6.	SONUÇLAR ve ÖNERİLER	42
7.	KAYNAKLAR.....	45
8.	ÖZGEÇMİŞ.....	51

SİMGELER ve KISALTMALAR

AMH: Antimüllerian hormon

AMHR: Antimüllerian hormon reseptör

ASRM: Amerikan Üreme Tıbbı Derneği

BAX: Bcl-2-associated X protein

BCL-2: B hücreli lenfoma-2

BMP15: Bone morphogenetic protein 15

E2: Östradiol

FSH: Folikül uyarıcı hormon

GDF9: Growth differentiation factor 9

HRT: Hormon replasman tedavisi

ISCT: Uluslararası Hücresel Tedavi Derneği

IVF: In vitro fertilizasyon

LH: Luteinizan hormon

MKH: Mezenkimal kök hücre

NK: Natural killer / Doğal öldürücüler

NRF2: Nuclear factor erythroid 2-related factor 2

OS: Oksidatif stres

PBS: Fosfat ile tamponlanmış salin

POY: Prematür ovaryen yetmezlik

ROS: Reaktif oksijen türevleri

SOX2: Sex determining region Y-Box 2

SOD: superoksit dismutaz

TEM: Geçirimli elektron mikroskobu

WJ: Wharton Jeli

WJ-MKH: Wharton jelinden elde edilen mezenkimal kök hücreleri

WJ-MKH-Exo: Wharton jelinden elde edilen mezenkimal kök hücrelerden türetilen eksozomlar

hUCMSC: İnsan kaynaklı umbilikal korddan köken alan mezenkimal kök hücre



ŞEKİLLER

- Şekil 1. 1.** Farklı gelişim evrelerindeki foliküllerin kesitsel çizimler. Encyclopædia britannica (1993)'den alınmıştır.2
- Şekil 1. 2.** Uterus, overler ve tüpler. Anterior görünüm. Hombach-Klonisch, Klonisch ve Peeler, 2019'dan alınmıştır.4
- Şekil 3. 1.** WJ-MKH kültüründen elde edilen eksozomların Quercetin ile işlenmesi ve POY modeli farelere enjeksiyonu (şematik gösterim).....20
- Şekil 3. 2.** Overlere erişim için gerçekleştirilen cerrahi prosedürün uygulama aşaması.....21
- Şekil 4. 1.** (A) WJ-MKH flow sitometri karakterizasyonu. (B) Adipojenik farklılaşma, Oil-Red O boyama faz-kontrast mikroskop görüntüsü (C) Osteojenik farklılaşma faz-kontrast mikroskop görüntüsü Alizarin red S Ölçüm 200µm.....27
- Şekil 4. 2.** WJ-MKH kaynaklı eksozomların karakterizasyonu. CD63, CD9 ve CD81 eksozom belirteçlerinin akım sitometri analizi.27
- Şekil 4. 3.** Quercetin yükleme öncesi (a1,a2,a3) ve sonrası (b1,b2,b3) eksozomların elektron mikroskopik görüntüleri ve quercetin yükleme öncesi (c) ve sonrası (d) zetasizer ölçümleri.29
- Şekil 4. 4.** Kontrol grubuna ait sıçanlarda vaginal smear fotomikrografları. a. Proöstrus, b. Östrus, c. Metöstrus, d. Diöstrus. H&E, 400X magnifikasyon.....30
- Şekil 4. 5.** Kontrol ve tedavi gruplarına ait H&E mikrografları.. A.Kontrol, B.POY, C.PBS, D. EXO, E. QUE, F. EXO-QUE grupları ışık mikroskop görüntüleri (4x = 200µm). G. Kesitlerde sayılan primordiyal, primer, sekonder, tersiyer, korpus luteum ve atretik foliküllerin sayıları.....31
- Şekil 4. 6.** Caspaz-3 immunfloresan boyama konfokal mikroskop görüntüleri32
- Şekil 4. 7.** PCNA immunfloresan boyama konfokal mikroskop görüntüleri34
- Şekil 4. 8.** Caspase-3 ve PCNA için konfokal mikroskop görüntülerinde floresan yoğunluğunun ImageJ programı ile skorlanmasıyla elde edilen bar grafikleri.....35
- Şekil 4. 9.** FSH ve AMH hormonları için serumdan (ng/ml) Eliza analizi. (*p değeri ≤0,05, **p değeri <0,01, ***p değeri <0,001.) *POY grubuna göre EXO,QUE ve EXO-QUE gruplarının, ▲PBS grubuna göre, # Kontrol grubuna göre POY ve PBS grubunun istatistiksel değerlendirmesi.)35
- Şekil 4. 10.** Oosit olgunlaşması ve çoğalma ilişkili gen ifadelerinin qRT-PCR analizi (x ekseni deney gruplarını, y ekseni referans gene (aktin beta) göre kat değişimlerini göstermektedir) 37

Şekil 4. 11. ROS ilişkili olan gen ifadelerinin ifadelerinin qRT-PCR analizi (x eksenini deney gruplarını, y eksenini referans gene (aktin beta) göre kat değişimlerini göstermektedir)38



TABLÖLAR

Table 3 1. qRT-PCR ile gen ifadesi bakılan genler, gen kimlik numaraları ve primer dizileri	23
---	----



1. GİRİŞ

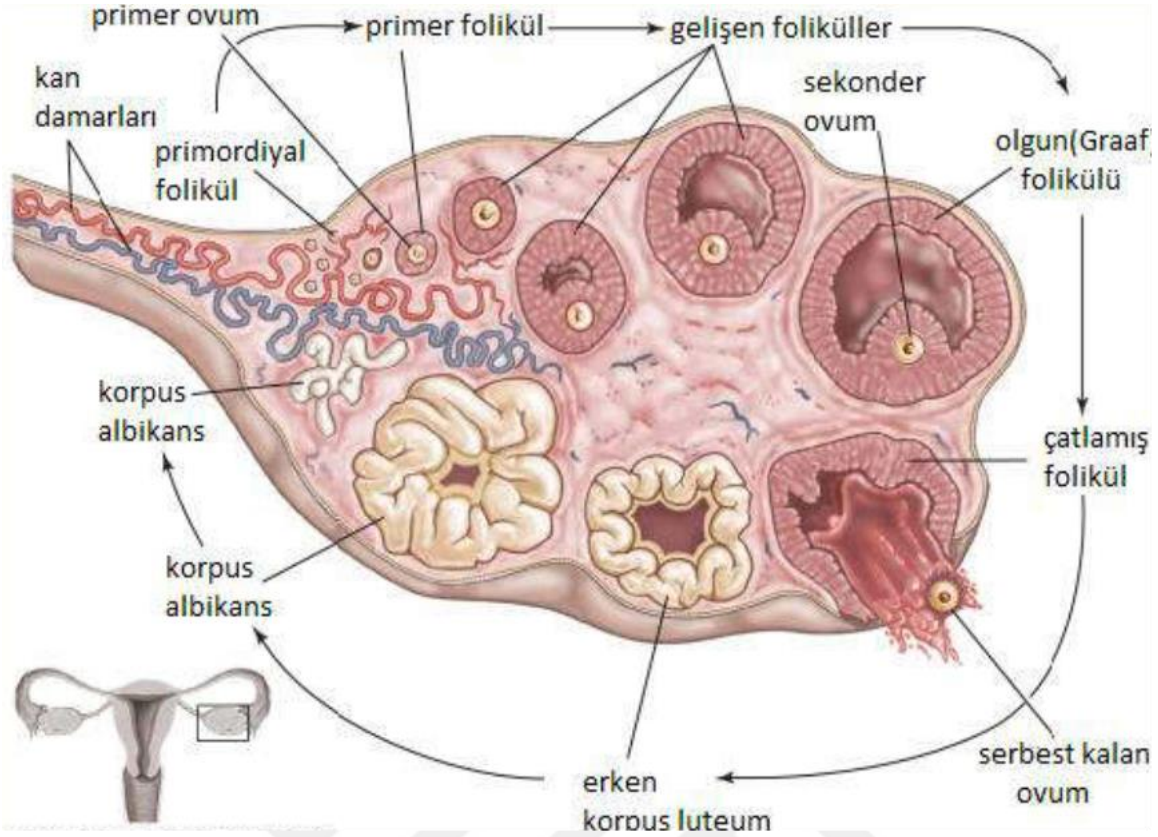
1.1. Over

1.1.1. Overlerin Embriyolojik Gelişimi

Embriyonik dönemde over, mezoderm kökenli çöломik epitelin mezonefroz yüzeyindeki kalınlaşmasından gelişir. Bu yapı, gonad taslağı olarak adlandırılır. Vitellus kesesinden gelen ve yetişkin gametlerin embriyonik öncüleri olan primordial germ hücreleri (PGH) göç ederek gonad taslağını kolonize eder. Bu hücreler epiblasttan köken alır ve ekstraembriyonik dokuların etkisiyle germ hücre hattına farklılaşır (Sadler, 2018). Germ hücreleri, overin oluşumu ve devamlılığı için kritik öneme sahiptir; yokluklarında gonad dejenerasyona uğrayarak kordon benzeri yapılara dönüşür (Merchant-Larios, 1981).

PGH'ler, embriyonik yaşamın yedinci haftasına kadar çöлом epiteli ile etkileşim halinde büyürken, ilk mitotik bölünmelerini gerçekleştirir. Gonadlara ulaşan bu hücreler oogonyumlara dönüşür ve kısa sürede sayıları artar. 8. haftada yaklaşık 600.000 olan germ hücre sayısı, 20. haftada 6-7 milyon gibi bir zirveye ulaşır. Ancak, bu süreç boyunca atrezi oranları artar; doğumda 600.000-800.000 germ hücresi kalırken, bu sayı puberteye kadar 300.000'e düşer. Bu foliküllerden sadece 300-400 tanesi, menopoza kadar ovulasyon sürecine katılacak, menopozdan sonra ise overlerde yalnızca 1000 civarında folikül kalacaktır (Oktem ve Oktay, 2008).

Mitotik bölünmelerden sonra oogonyumlar, mayoz bölünme sürecine girerek profaz evresinde diploten aşamasında duraklar ve puberteye kadar mayoz bölünmenin diğer aşamalarına geçiş yapmaz. Bu süreçte oositler, pregranüloza hücreleri tarafından çevrelenerek primordial folikülleri oluşturur ve over rezervini meydana getirir. Puberte dönemine gelindiğinde ise overlerde ovulatuvar döngüler başlar ve primer oositlerden biri ya da birkaçı ovulasyon için seçilir (Şekil 1.1.). Bu süreçte oosit ikinci mayotik bölünmeye ilerler ve metafazda durur. İkinci mayotik bölünme döllenme sırasında tamamlanır (İrez ve ark., 2019; Oktem ve Oktay, 2008).



Şekil 1. 1. Farklı gelişim evrelerindeki foliküllerin kesitsel çizimler. Encyclopædia britannica (1993)'den alınmıştır.

1.1.2. Overlerin Anatomisi

Overler, pelvik kavitede uterusun her iki yanında, pelvik yan duvarlara yakın konumlanmış intraperitoneal organlardır. Ortalama 3-5 gram ağırlığında olan overler, fossa ovarica adı verilen çukurlarda yer alır. Bu çukurların sınırları arkada üreter, yukarıda arteria iliaca externa, aşağıda ise ligamentum latum'un tabanı tarafından belirlenir. Fossa ovarica'nın tabanında peritoneumun altında arteria ve vena obturatoria ile nervus obturatorius uzanır (Şekil 1.2.) (Williams ve ark., 1995).

Overlerin yüzeyi, bağ dokusundan oluşan tunika albuginea ile kaplıdır. Puberte öncesinde pürüzsüz bir yüzeye sahip olan overler, ovulasyon süreçleri ile birlikte daha girintili ve çıkıntılı bir yapıya dönüşür. Her bir overin iki yüzeyi, iki kenarı ve iki ucu bulunur. İç yüzey mediale, dış yüzey laterale bakar. Kenarlardan biri, mesovarium aracılığıyla ligamentum latum'a bağlanan margo mesovaricus'tur. Diğer kenar ise serbest uç olan margo liber olarak adlandırılır. Overlerin uçlarından biri uterusu, ligamentum ovarii proprium ile bağlıdır. Diğer uç ise ligamentum suspensorium ovarii aracılığıyla pelvik

duvara tutunur. Bu ligament, overlerin damarlarını, lenfatiklerini ve sinirlerini içermesi nedeniyle hayati bir öneme sahiptir (Moore ve Dalley, 2018).

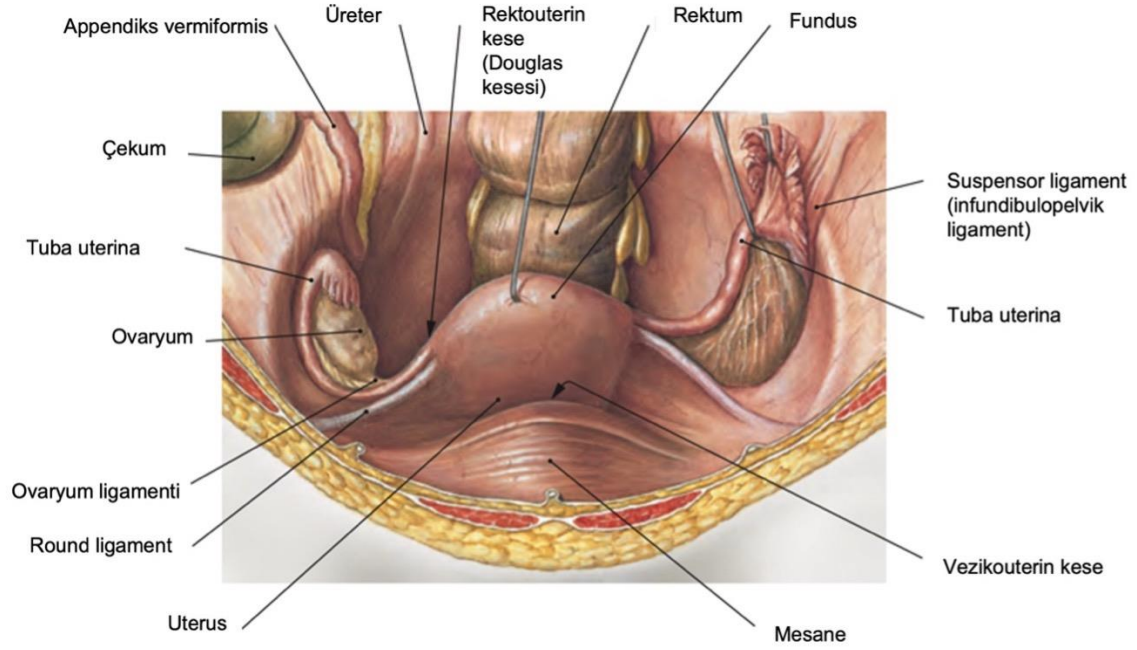
Embriyolojik dönemde overler batın içinde böbrek hizasında yer alırken, gelişim sürecinde pelvisin lateral duvarına doğru göç ederek nihai anatomik pozisyonlarına ulaşır. Overler peritonla kaplı olmadığından ovulasyon sırasında atılan oosit periton boşluğuna düşer; ancak genellikle tuba uterina fimbriaları tarafından yakalanarak ampullaya taşınır ve burada fertilizasyon gerçekleşebilir (Moore ve Dalley, 2018).

Overlerin kanlanması, abdominal aortadan çıkan arteria ovarica sağlar. Bu arter, posterior abdominal duvar boyunca ilerleyerek pelvise girer ve ligamentum suspensorium ovarii aracılığıyla overlere dallar verir. Venöz drenaj ise plexus pampiniformis aracılığıyla gerçekleşir; sağ taraf vena cava inferior'a, sol taraf ise vena renalis sinistra'ya dökülür. Lenfatik drenaj paraaortik lenf nodlarına yönelirken, sinirsel innervasyon plexus ovaricus'tan gelen dallar aracılığıyla sağlanır. Overlerden gelen afferent sinir lifleri ise T10-T11 spinal segmentlerine ulaşır (Moore ve Dalley, 2018).

1.1.3. Overlerin İşlevsel Özellikleri

Overler, farklı işlevsel bileşenlere sahip, dinamik ve sürekli değişim gösteren organlardır. Temel işlevleri arasında döllenabilir bir oosit üretimi ve üreme sistemini döllenmeye hazırlayıp gebeliğin oluşumunu desteklemek için gerekli steroid hormonlarının salgılanması bulunmaktadır. Overlerin bu steroidojenik ve ovulatuvar işlevlerini yerine getirebilmesi, foliküler gelişim sürecinin de dahil olduğu son derece düzenli ve karmaşık bir dizi olayın gerçekleşmesine bağlıdır.

Östradiol (E2) ve progesteron gibi hormonların üretimi, granüloza ve teka hücreleri tarafından gerçekleştirilir. Teka interna hücreleri luteinizan hormon (LH) etkisiyle androjen üretirken, granüloza hücreleri folikül stimüle edici hormon (FSH) etkisiyle bu androjenleri östrojene dönüştürür.



Şekil 1. 2. Uterus, overler ve tüpler. Anterior görünüm. Hombach-Klonisch, Klonisch ve Peeler, 2019'dan alınmıştır.

1.1.3.1. Overlerin Histolojik Yapısı ve Folikül Gelişimi

Overin temel yapısal ve fonksiyonel birimi olan foliküller, bir oositin etrafını çevreleyen granüloza hücrelerinden oluşur. Granüloza hücreleri vasküler bir beslenme sistemine sahip olmadığından, hücreler arası iletişim ve metabolik alışveriş, gap junction adı verilen bağlantılar aracılığıyla sağlanır. Bu bağlantılar, granüloza hücreleri arasında fonksiyonel bütünlük oluştururken, folikül büyümesi ve gelişimi için de kritik bir rol oynar. Over, korteks ve medulla olmak üzere iki ana bölgeden oluşur. Korteks, foliküllerin bulunduğu dış bölgeyi, medulla ise gevşek bağ dokusu içeren ve kan damarları, sinir lifleri ile lenf damarlarından zengin iç bölgeyi oluşturur. Medulla folikül içermez. Puberte öncesi kortekste yalnızca primordiyal foliküller bulunurken, puberte sonrası primer, sekonder ve tersiyer foliküller de gözlenir. Üreme çağında bu foliküllerin yanında korpus luteum, korpus albicans ve atretik foliküller de yer alır (Eşrefoğlu, 2021; Oktem ve Oktay, 2008).

Ovaryen foliküller gelişim aşamalarına göre dört gruba ayrılır: primordiyal, primer, sekonder (antral) ve Graaf folikülleri. Primordiyal foliküller, tunika albugineanın hemen altında kümeler halinde yerleşmiş olup primer oosit ve onu çevreleyen tek katlı yassı folikül hücrelerinden oluşur. Bu foliküller büyümeye başladığında, primer folikül adını alır. Primer foliküller, oositin büyümesi ve çevresinde zona pellucida adı verilen glikoprotein yapılı bir

tabakanın oluşması ile karakterizedir. Ayrıca, bu aşamada folikül hücreleri çoğalarak granüloza hücrelerine dönüşür ve folikül daha karmaşık bir yapı kazanır. Sekonder folikül evresine geçişte, folikül çapı belirgin şekilde genişler ve içinde antrum olarak isimlendirilen folikül sıvısı dolu boşluklar oluşmaya başlar. Bu süreçte granüloza hücreleri, FSH etkisi altında aktif hale gelir (Pawlina ve Ross, 2018).

1.1.4. Ovulasyon ve Korpus Luteumun Oluşumu

Son aşamada, menstrüel siklus sırasında seçilen dominant folikül, Graaf folikülü olarak adlandırılır. Graaf folikülü, olgunlaşarak ovulasyona hazır hale gelir ve içinde bulunan oositi çevreleyen antrumu büyür. Ovulasyon süreci, sekonder oositin Graaf folikülünden serbest bırakılmasını içerir ve LH dalgası tarafından tetiklenir. Ovulasyondan hemen önce, oosit birinci mayoz bölünmeyi tamamlayarak sekonder oosit ve birinci kutup cismini oluşturur. İkinci mayoz bölünme metafaz aşamasında durur ve yalnızca döllenme gerçekleştiğinde tamamlanır. Ovulasyon sırasında folikül duvarı yırtılarak oosit, zona pellucida, korona radiata ve bir miktar folikül sıvısı ile birlikte ovaryumdan tuba uterinaya atılır. Eğer döllenme ilk 24 saat içinde gerçekleşmezse, oosit dejenere olur ve vücuttan atılır.

Ovulasyon sırasında antrumu oluşturan granüloza hücreleri folikül duvarında yoğunlaşarak küçük bir tepelik oluşturur. Bu yapıya kumulus ooforus adı verilir ve bu yapı oositi içinde barındırır. Oosit çevresinde yoğunlaşan granüloza hücreleri ise korona radiata adı verilen yapıyı meydana getirir. Ovulasyon sırasında, kumulus ooforus ve korona radiata, oositle birlikte serbestleşir.

Ovulasyondan sonra Graaf folikülü luteinize olur ve korpus luteum adını alır. Korpus luteum, progesteron ve östrojen salgılayarak endometriyumun gelişimini destekler ve zigot implantasyonu için uygun bir ortam sağlar. Granüloza ve teka hücreleri bu süreçte boyutlarını artırır, sitoplazmalarında lipit damlacıkları biriktirir ve lutein hücrelerine dönüşür. Granüloza lutein hücreleri merkezde, daha büyük yapıdayken, teka lutein hücreleri periferde ve daha küçük yapıdadır. Hücrelerin sarı rengi, içerdiği lipokrom pigmentinden kaynaklanır. Korpus luteumun gerilemesiyle korpus albicans adı verilen fibröz bir yapı oluşur.

Ovulasyon sürecinde folikülün çevresindeki stromada bulunan fibroblastlar teka tabakasını oluşturur. Teka tabakası teka interna ve teka eksterna olarak ikiye ayrılır. Teka interna, FSH etkisiyle androstenediondan östrojen sentezleyen aromataz enzimi salgılar. Üretilen östrojen, folikül stromasına geçerek kan dolaşımına katılır ve vücuda yayılır.

Menstrüel siklus sırasında genellikle bir folikül diğerlerinden daha hızlı büyür ve dominant hale gelir. Bu dominant folikül, yaklaşık 2,5 cm çapa ulaşarak over yüzeyinde dışı doğru bir şişkinlik oluşturur ve ovulasyonla serbestleşir. Diğer foliküller ise atretik hale gelerek yıkıma uğrar (Irez ve ark., 2019; Pawlina ve Ross, 2018).

1.2. Prematür Ovaryen Yetmezlik (POY)

Prematür Ovaryen Yetmezlik (POY), 40 yaşından önce over fonksiyonlarının kaybı ile karakterize olan, kadınlarda üreme fonksiyonlarını etkileyen ciddi bir hastalıktır. Dünya genelinde kadınların yaklaşık %1'ini etkileyen bu durum, infertilite, hormonal dengesizlikler ve uzun vadeli sağlık sorunlarıyla ilişkilidir (Sheikhansari, Aghebati-Maleki, Nouri, Jadidi-Niaragh, ve Yousefi, 2018). POY, genetik, otoimmün, iatrojenik, çevresel ve enfeksiyöz nedenlerin karmaşık bir etkileşiminden kaynaklanabilir. Hipoöstrojenizm, hipergonadotropinizm ve amenore, prematür ovaryen yetmezliğin temel klinik belirtilerini oluşturur.

1.2.1. Etiyoloji ve Patofizyoloji

POY'nin etiyojisinde genetik faktörler önemli bir yer tutar. X kromozomuna bağlı anomaliler, Turner sendromu (45,X) ve mozaizm (46,XX/45,X) en sık rastlanan genetik nedenler arasında yer alır (Ishizuka et al., 2019). Ayrıca FOXL2, BMP15 ve NOBOX gibi genlerdeki mutasyonlar, oosit gelişimini ve folikül oluşumunu olumsuz etkileyerek POY'ya yol açabilir. FMR1 premutasyonları ise Fragile X sendromu taşıyıcılarında POY gelişme riskini artırır. Steroid sentezinde görev alan 17 α -hidroksilaz ve aromataz gibi enzimlerdeki eksiklikler, hormon üretiminde bozulmaya neden olarak POY'ya zemin hazırlayabilir (Qin, Jiao, Simpson ve Chen, 2015).

Otoimmün mekanizmalar, prematür ovaryen yetmezliğin diğer önemli nedenleri arasında yer alır. Zona pellucida ve steroid üreten hücrelere karşı gelişen otoantikorlar, foliküler kayıba neden olabilir (Hoek, Schoemaker ve Drexhage, 1997). Addison hastalığı, otoimmün tiroidit ve tip 1 diyabet gibi diğer otoimmün hastalıklarla POY arasında sıkı bir ilişki bulunmaktadır (Dittmar ve Kahaly, 2003; La Marca ve ark., 2010). Kemoterapi ve radyoterapi oosit DNA'sında hasara neden olarak over rezervini hızla tüketebilir (Gracia ve ark., 2012). Çevresel faktörler, sigara ve viral enfeksiyonlar (örneğin mumps ooforit) da POY gelişimine katkıda bulunabilir (Kokcu, 2010).

Patofizyolojik olarak, POY, foliküler rezervin tükenmesi ve hormonal dengesizliklerle karakterizedir. Serum FSH ve LH düzeylerinde artış görülürken, östrojen üretimi azalır. Bazı hastalarda aralıklı over aktivitesi nedeniyle spontan gebelikler görülebilir; ancak genel olarak POY, infertilite ile ilişkilendirilen en ciddi durumlar arasında yer alır (Bunpei Ishizuka, 2021).

1.2.2. Tanı ve Komplikasyonlar

POY tanısı, en az dört ay süren oligo/amenore ile birlikte iki farklı zamanda ölçülen serum FSH düzeyinin >25 IU/L olması ile konur. Anti-Müllerian Hormon (AMH) düzeyleri ve antral folikül sayısı, over rezervinin değerlendirilmesinde kritik parametrelerdir (E. G. G. on POI, Webber, L., ve ark., 2016).

Ovaryen folikül sayısındaki azalma ve foliküler disfonksiyon hem endokrin hem de üreme bozukluklarına yol açar. Vakaların yaklaşık %5'inde spontan gebelik oluşabilse de, POY'lu kadınların çoğu gebe kalmak için yardımcı üreme teknikleri ya da donör oositlere ihtiyaç duyar (Magraith, Fernando ve Vincent, 2023). POY'un komplikasyonları, yalnızca üreme fonksiyonlarını değil, genel sağlığı da etkiler. Östrojen eksikliğine bağlı olarak osteoporoz, kırık riski ve kardiyovasküler hastalıklar görülür. Nörolojik sistemde bilişsel işlev bozuklukları ve demans riski artar. Metabolik komplikasyonlar arasında dislipidemi, insülin direnci ve obezite yer alır. Psikolojik etkiler ise depresyon, anksiyete ve yaşam kalitesinde azalma şeklinde kendini gösterebilir (Bunpei Ishizuka, 2021).

1.2.3. Tedavi Yaklaşımları

1.2.3.1. Hormon Replasman Tedavisi (HRT)

HRT, POY'un semptomlarını hafifletmek ve uzun vadeli komplikasyonları önlemek için kullanılan birincil tedavi yöntemidir. Östrojen eksikliği, bu hastalarda damar, kemik ve diğer dokuların erken yaşlanmasına yol açarak yaşam beklentisini kısaltmaktadır. Hormon replasman tedavisi, vazomotor semptomlar, özellikle ateş basması ve terleme gibi şikayetleri hafifletmekte etkili bulunmuş, ayrıca vajinal kuruluk, irritasyon, sık idrara çıkma ve idrar kaçırma gibi ürogenital semptomların da azalmasını sağlamıştır. Tedavi, kemik mineral yoğunluğunu artırarak kemik kaybını önlemekte ve kalça ile omurga kırıklarını azaltmaktadır. Nörolojik faydaları açısından, hormon replasman tedavisinin menopoz geçişine yakın dönemde başlatıldığında bilişsel gerilemeyi azalttığı ve koruyucu etkiler sağladığı belirtilmiştir. Ancak, tedavinin ileri yaşlarda başlatılması, mevcut vasküler veya

nörolojik hastalıklarla ilişkili olarak bilişsel bozukluk riskini artırabilir. Bununla birlikte, bu tedaviler semptomatiktir ve ovaryen foliküllerin sayısını veya işlevini geri getiremez. Ayrıca, artmış kanser riski, venöz tromboembolizm, miyokard enfarktüsü gibi potansiyel yan etkilerle ilişkilendirilmektedir (Shelling, 2010). Gebe kalmak isteyen hastalar için şu anda donör yumurta bağıışı veya evlat edinme dışında bir tedavi seçeneği bulunmamaktadır (Sheikhansari ve ark., 2018). Sonuç olarak, erken over yetmezliği olan hastalarda over rezervini artırmak ve doğurganlığı yeniden sağlamak amacıyla yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesi kritik bir ihtiyaçtır.

1.2.3.2. Kök Hücre Tedavileri

Kök hücre tedavileri, POY tedavisinde umut verici bir seçenek olarak öne çıkmaktadır (Sheikhansari ve ark., 2018). Kök hücreler, uzun süreli proliferasyon kapasitesine, kendini yenileme yeteneğine ve farklı hücre soylarına dönüşebilme özelliğine sahip, farklılaşmamış hücreler olarak tanımlanmaktadır. Embriyonik kök hücreler (EKH'ler), indüklenmiş pluripotent kök hücreler (iPKH'ler) ve erişkin kök hücreler olmak üzere üç farklı kategoriye ayrılırlar (Sadeghi, Mosaffa, Huang ve Tehrani, 2024).

Embriyonik Kök Hücreler (EKH'ler): Herhangi bir hücre tipine farklılaşmak için sınırsız özelliğe sahip tek kök hücrelerdir. Ancak, immün reddetme riski ve etik kaygılar EKH'lerin kullanımını sınırlandırmaktadır.

İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücreler (iPKH'ler): EKH'lerle ilişkili sınırlamaların üstesinden gelmek amacıyla, transkripsiyon faktörleri Oct4, Sox2, Klf4 ve Myc kullanılarak yetişkin somatik hücrelerin pluripotent kök hücrelere farklılaştırılması gibi stratejiler araştırılmıştır. iPKH'ler morfoloji, pluripotensi, kendini yenileme ve gen ekspresyonu açısından EKH'lere çok benzemekle birlikte etik açıdan herhangi bir sınırlamaya sahip değildir. Bununla birlikte, nakil sonrası teratom oluşumu, tümöröenez ve vektörlerin konak hücrenin genomuna kontrolsüz entegrasyonu riski şu anda klinik uygulamalarını sınırlandırmıştır.

Erişkin Kök Hücreler: Erişkin kök hücreler, çeşitli doku ve organların “kök hücre nişı” olarak adlandırılan ve kök hücrelerin kaderlerini belirleyen uyarınları aldıkları belirli bir mikroçevre sağlayan bölgesinde bulunan multipotent, embriyonik olmayan kök hücrelerdir. Yetişkin kök hücreler arasında mezenkimal kök hücrelerin (MKH), sahip oldukları benzersiz özellikleri nedeniyle terapötik stratejilerin geliştirilmesinde umut verici bir araç olduğu kanıtlanmıştır (Rosario ve Anderson, 2021).

1.3. Mezenkimal Kök Hücreler

Mezenkimal kök hücreler (MKH'ler), kendi kendini yenileyebilme kapasitesine sahip, adipositler, kondrositler, osteositler, düz kas hücreleri, fibroblastlar ve hematopoietik stromal hücreler gibi çeşitli mezenkimal hatlara farklılaşabilen multipotent hücrelerdir. Bu hücreler ilk kez 1960'ların sonları ile 1970'lerin başlarında Friedenstein ve çalışma arkadaşları tarafından gözlemlenmiş ve kemik iliğinden türeyen, fibroblast benzeri, plastik yüzeylere yapışabilen, non-hematopoietik bir hücre popülasyonu olarak tanımlanmıştır (Friedenstein, Chailakhyan, Latsinik, Panasyuk ve Keiliss-Borok, 1974). Kendini yenileme ve farklılaşma yeteneklerinin yanı sıra immünomodülatör özelliklere sahiptirler. MKH'ler, kemik, kıkırdak, tendon, kas ve yağ dokuları gibi mezodermal kökenli dokuları oluşturan osteoblastlar, kondrositler, miyositler ve adipositlere farklılaşabilir. Bunun yanı sıra, nöronlar ve endotel hücreleri gibi ektodermal ve endodermal kökenli hücrelere de farklılaşma potansiyeli taşırlar. Kemik iliği ve yağ dokusu gibi heterojen kaynaklardan elde edilen bu hücreler, belirli yüzey belirteçleri ile tanımlanır (Kassem, 2004). Uluslararası Hücresel Tedavi Derneği (ISCT) tarafından MKH olarak sınıflandırılabilmesi için şu özellikleri taşımaları gerekir (Dominici ve ark., 2006):

- Kültür ortamında plastik yüzeye yapışma yeteneği,
- Yüzeylerinde CD105, CD73 ve CD90 gibi belirteçleri eksprese ederken, CD45, CD34, CD14, CD11b ve HLA-DR gibi belirteçleri eksprese etmemesi,
- İn vitro ortamda kemik, yağ ve kıkırdak hücrelerine farklılaşma kapasitesine sahip olması.

MKH'lerin doku onarımı ve immün modülasyon özellikleri, onları rejeneratif tıp uygulamalarında önemli bir araç haline getirmiştir. Kemokinler, adezyon molekülleri ve matriks metalloproteinazlar aracılığıyla hasarlı doku bölgelerine göç edip yerleşmeleri, MKH'lerin öne çıkan terapötik özelliklerinden biridir. Göçün ardından, MKH'ler büyük miktarda büyüme faktörü üreterek doku yenilenmesine katkıda bulunur. Bunun yanı sıra, hücre apoptozunu inhibe edebilir, doku yenilenmesini teşvik edebilir ve güçlü immünomodülatör etkiler gösterebilir. Ayrıca, tümör oluşumuna aracılık eden bazı süreçleri baskımlarken anti-kanser özellikler de sergileyebilirler (Sadeghi ve ark., 2024). Yetişkin dokulardan izole edilen mezenkimal kök hücreler, terapötik amaçlarla en sık kullanılan hücrelerdir. Ancak, düşük proliferasyon kapasitesi, sınırlı hücre içeriği ve ağırlı, invaziv ayırıştırma yöntemleri nedeniyle enfeksiyon ve morbidite riski taşımaları, bu hücrelerin

terapötik kullanımını kısıtlamaktadır (Mazini, Rochette, Amine ve Malka, 2019). Buna karşılık, ekstraembriyonik dokulardan elde edilen MKH'ler, yetişkin MKH'lerle birçok ortak özelliği paylaşmaları nedeniyle terapötik kullanım için ideal bir seçenek olarak değerlendirilmektedir. Embriyonik kök hücrelerin bazı özelliklerini taşımalarına rağmen, teratom oluşumuna neden olmadıkları ve etik ile yasal sorunlara yol açmadıkları için güvenli bir seçenek olarak öne çıkmaktadırlar (Troyer ve Weiss, 2008).

POY tedavisinde en sık kullanılan MKH'ler, kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler (Kİ-MKH'ler), adipoz kaynaklı mezenkimal kök hücreler (YD-MKH'ler), göbek kordonu (GK-MKH'ler) ve Wharton jeli kaynaklı mezenkimal kök hücreleri (WJ-MKH'ler), ve plasental mezenkimal kök hücreler (PMKH'ler), amniyotik mezenkimal kök hücreler (AMKH'ler) ve menstrüel kan kaynaklı kök hücrelerdir (MenKH'ler) (Shi ve ark., 2023).

1.3.1. Wharton Jeli Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler

Wharton jeli (WJ), ilk kez 1656 yılında Thomas Wharton tarafından tanımlanmış olup, göbek kordonunun amniyotik epitel ile damarları arasında yer alan muköz bir bağ dokusudur. Daha sonra, 1991 yılında McElreavey, Irvine, Ennis ve McLean, Wharton jelinden ilk kez mezenkimal kök hücreleri izole etmeyi başarmışlardır (McElreavey, Irvine, Ennis ve McLean, 1991). Wharton jeli kaynaklı mezenkimal kök hücreler (WJ-MKH), etik kaygılara yol açmadan ve invaziv olmayan yöntemlerle kolaylıkla elde edilebilmektedir. Bu hücreler, kemik iliği veya yağ dokusundan izole edilen hücrelere kıyasla daha yüksek proliferasyon kapasitesine sahiptir. Ayrıca, düşük immünojenite özellikleri sayesinde HLA-DR gibi immün yanıtı tetikleyebilecek belirteçleri ifade etmezler. Donör dokusunun yaşı, MKH'lerin biyolojik özellikleri üzerinde belirleyici bir rol oynarken, WJ-MKH'ler yaşlanma süreçlerini hızlandıran faktörlerden etkilenmeden korunmuş yapısını sürdürmektedir (Stenderup, Justesen, Clausen ve Kassem, 2003). Bu özellikler, Wharton jelinden izole edilen MKH'leri hücre bazlı tedaviler için daha cazip bir seçenek haline getirmekte ve bu hücrelerin klinik uygulamalarda yaygın kullanımı için önemli bir potansiyel sunmaktadır.

WJ-MKH'ler, otoimmün ve inflamatuvar hastalıkların yönetiminde kritik öneme sahip güçlü immünomodülatör özellikler sergiler. Bu hücreler, doğuştan gelen ve kazanılmış bağışıklık yanıtlarını çeşitli mekanizmalarla düzenler. T hücre proliferasyonunu ve B hücre fonksiyonlarını inhibe ederek otoimmün hastalıklarda görülen aşırı bağışıklık tepkilerini azaltırlar. Ayrıca, bağışıklık yanıtlarının başlatılmasında önemli bir rol oynayan dendritik hücrelerin fonksiyonlarını modüle ederek genel bağışıklık yanıtını dengelemeye katkıda

bulunurlar. Bunun yanı sıra, düzenleyici T hücrelerinin (Treg) üretimi ve fonksiyonları üzerinde de etki göstererek bağışıklık yanıtının kontrolü ve inflamasyonun baskılanmasında önemli bir rol oynar (S. Hashemi ve ark., 2019; S. M. J. Hashemi, Enderami, Barzegar ve Mansour, 2024). Ayrıca, in vitro araştırmalar, GK-MKH'lerin, kemik iliği veya adipoz kaynaklı hücrelere kıyasla daha yüksek anjiyojenik potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Bu özellikler, WJ-MKH'lerin kardiyovasküler hastalıklardan nörolojik bozukluklara kadar geniş bir tedavi yelpazesinde kullanılabilmesine olanak sağlamaktadır (Pinto ve ark., 2020). Güncel çalışmalar, WJ-MKH'lerin nörolojik hastalıklar, böbrek hasarları, akciğer yaralanmaları, ortopedik problemler, karaciğer hasarları ve kanser tedavisi gibi pek çok tıbbi alanda potansiyel kullanım alanı sunduğunu ortaya koymaktadır (Patel ve ark., 2024). Ayrıca, GK-MKH transplantasyonunun, POY hayvan modellerinde östrus döngüsünü yeniden düzenlediği, E2 ve AMH seviyelerini artırdığı, FSH ve LH seviyelerini düşürdüğü ve folikülogenezi desteklediği gösterilmiştir. Bu bulgular, GK-MKH'lerin terapötik bir seçenek olarak büyük bir potansiyel taşıdığını göstermektedir. Ancak, bu hücrelerin güvenlik ve etkinlik profili klinik çalışmalarla detaylı bir şekilde değerlendirilmelidir (X. Wang ve ark., 2023).

MKH'lerin terapötik etkilerinin parakrin mekanizmalarla ortaya çıktığı bildirilmektedir (Sajeesh, Broekelman, Mecham ve Ramamurthi, 2020). Özellikle, MKH'lerin salgıladığı sekretomda bulunan kodlamayan RNA'lar, sitokinler ve büyüme faktörleri gibi parakrin etkenler, hasarlı doku ve organlardaki hedef hücrelere aktarılabilir ve uzun süreli etkiler sağlayabilir. Ekstraselüler veziküller (EV'ler), biyolojik olarak aktif bileşenleri taşıyarak bu parakrin etkilerde kritik bir rol oynar. EV'lerin bir alt grubu olan eksozomlar, hücreler arası iletişimde önemli bir görev üstlenir ve taşıdıkları proteinler ile kodlamayan RNA'lar aracılığıyla hasar ve hastalıklara karşı doku yanıtlarını güçlendirebilir (Qiu ve ark., 2018; Valadi ve ark., 2007).

1.4. Ekstraselüler Veziküller

Ekstraselüler veziküller, çapları yaklaşık 30 nm ile 3.000 nm arasında değişen, lipid çift katmanlı membran yapısına sahip veziküllerdir. Hücreler arası iletişimde kritik fizyolojik roller üstlenen bu veziküller, başlangıçta hücreysel atıklar veya toksik ve gereksiz yan ürünlerin hücreden uzaklaştırılması için bir mekanizma olarak değerlendirilmiştir. Boyutlarına, kaynaklarına ve yüzey belirteçlerine göre üç ana kategoriye ayrılırlar (Xu ve ark., 2018; Y. Zhang ve ark., 2023):

1. **Eksozomlar:** apları 30-200 nm arasında olup endozomal koklenlidir. Multivezikler cisimlerin plazma membranı ile birleşmesi yoluyla salınırlar.
2. **Mikrovezikller:** apları 50-1000 nm arasında değişir ve hücre membranının dışa doğru tomurcuklanmasıyla oluşur.
3. **Apoptotik Cisimcikler:** Hücre lm sırasında oluşan daha büyük veziküllerdir.

Ekstraselüler veziküllerin biyomoleküler yapısı, hem işlevlerini hem de kaynaklarını belirlemektedir. Bu veziküller, DNA, mRNA, uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA), lipitler ve çeşitli proteinler gibi zengin bir biyomoleküler içerik barındırır. Kök hücrelerden elde edilen ekstraselüler veziküller, etik olarak kolay erişilebilir olmaları, bol miktarda elde edilebilmeleri ve düşük immünojeniteye sahip olmaları nedeniyle önemli avantajlar sunmaktadır. Öte yandan, kök hücreler ekstraselüler veziküllerden farklı olarak sınırsız çoğalma, kendini yenileme ve farklı hücre tiplerine dönüşme kapasitesine sahiptir. Ekstraselüler veziküllerin ve kök hücrelerin terapötik potansiyelini anlamak, bu alanlarda geliştirilecek yenilikçi tedavi stratejilerinin şekillendirilmesi açısından kritik bir öneme sahiptir (Geng, Guo, Li, Liu ve Zhao, 2023).

1.4.1. Eksozomlar

Eksozomlar, hücre içi endozomal sistemden kaynaklanan ve çapları yaklaşık 30-200 nm arasında değişen küçük membran veziküllerdir. Hücreler arası iletişimde temel bir role sahip olan eksozomlar, klinik uygulamalar açısından da önemli bir potansiyel sunmaktadır. Günümüzde yapılan çalışmalar, eksozomların teşhis için biyobelirteç kaynağı olarak kullanılma potansiyelini ve terapötik uygulamalarda ilaç taşıyıcı vektörler olarak değerlendirilme olanaklarını giderek artan sıklıkta araştırmaktadır (Lin ve ark., 2015; Phinney ve Pittenger, 2017).

Eksozomlar, endozomal sistemin olgunlaşma sürecinde, multiveziküler cisimciklerin lümeninde intraluminal veziküller olarak oluşur. Bu süreç, belirli sıralama mekanizmaları ve ESCRT (Endosomal Sorting Complex Required for Transport) gibi moleküler makineler tarafından düzenlenir. ESCRT kompleksi, membran şekillenmesi ve tomurcuklanmasında kritik bir rol oynar. ESCRT-0 ve ESCRT-I alt birimleri, multiveziküler cisimciklerin membranında belirli mikro bölgeler oluşturarak kargo proteinlerini toplar. Bu alt birimler, ESCRT-III kompleksini aktive eder ve bu da membran tomurcuklanması ile vezikül oluşumunu sağlar (Van Niel, d'Angelo ve Raposo, 2018). Ancak, eksozomlar ESCRT

bağımlı olmayan mekanizmalarla da üretilebilir. Ceramid üretimini sağlayan nötral tip II sfingomiyelinaz enzimi gibi lipid metabolizmasına dayalı mekanizmalar da bu süreçte rol oynar. Ek olarak, tetraspanin protein ailesi (örneğin CD63, CD81 ve CD9), eksozomların biyogenezi ve belirli kargo moleküllerinin eksozomlara yönlendirilmesinde görev alır (Van Niel ve ark., 2018).

Eksozomlar, proteinler, lipitler ve nükleik asitler (DNA, mRNA ve mikroRNA'lar dahil) gibi biyomoleküller içerir. Bu içerikler, hücreler arası iletişimde ve hedef hücrelerdeki gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli roller oynar. Örneğin, kargo proteinleri HSP70 ve HSC70 gibi şaperon proteinlerle birlikte eksozomlara dahil olabilir. Lipit rafts olarak bilinen membran bölgeleri, glikozilfosfatidilinozitol (GPI) ile bağlantılı proteinlerin eksozomlara dahil edilmesine katkı sağlayabilir. Nükleik asitlerin eksozomlara seçici olarak dahil edilmesi, RNA bağlayıcı proteinler, ESCRT-II kompleksi veya mikroRNA-susturma kompleksi (miRISC) gibi mekanizmalarla düzenlenir. Bu süreçler, eksozomların hedef hücrelerde genetik düzenlemelere aracılık etmesini sağlar (Nolte't Hoen ve ark., 2012; Thakur ve ark., 2014; Van Niel ve ark., 2018).

Eksozomlar, bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesi, tümör metastazı, anjiyogenez ve embriyonik doku invazyonu gibi birçok fizyolojik ve patolojik süreçte önemli roller üstlenir. Örneğin, bağışıklık hücrelerinden türeyen eksozomlar, antijen sunumu yaparak T hücrelerini aktive edebilir (Buschow ve ark., 2009). Öte yandan, kanser hücrelerinden salınan eksozomlar, belirli organları hedefleyerek metastatik niş oluşumunu destekleyebilir (Hoshino ve ark., 2015).

Eksozomlar, hedef hücrelerin plazma membranına bağlanarak ya da hücre içine alındıktan sonra etkilerini gösterir. Bu süreçler, klattrin aracılı endositoz, makropinositoz veya fagositoz gibi mekanizmalarla gerçekleşir (Colombo, Raposo, ve Théry, 2014). Eksozomların biyogenezi, içerikleri ve fonksiyonları oldukça karmaşıktır ve hücre türüne, taşıdıkları kargolara ve çevresel sinyallere bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Eksozomların bu çok yönlü özellikleri hem fizyolojik hem de patolojik süreçlerin anlaşılmasında ve yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesinde büyük bir potansiyele sahiptir (Colombo ve ark., 2014).

1.4.1.1. Eksozom İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Eksozomların izolasyonu ve karakterizasyonu, biyomedikal araştırmalar ve klinik uygulamalar için büyük önem taşır. Bu veziküllerin biyolojik sıvılardan ve hücre

kültürlerinden izole edilmesi için çeşitli yöntemler bulunmaktadır. İzolasyon yöntemleri arasında ultrasantrifügasyon, yoğunluk gradyanı santrifüjleme, boyut ayırıcı kromatografi, immünoafinite yakalama yöntemleri ve mikroakışkan teknolojiler bulunur (M. Zhou, Weber, Zhao, Chen ve Sundstrom, 2020). Ultrasantrifüj basit ve güvenilir bir yöntem olarak kabul edilirken (Purushothaman, 2019), immünoafinite yakalama yöntemi, proteomik profil bazında eksozomların izole edilmesinde en etkili yöntem olarak gösterilmiştir (Greening, Xu, Ji, Tauro ve Simpson, 2015).

Eksozomların karakterizasyonu genellikle elektron mikroskobu, nanoparçacık izleme analizi, western blot analizi, flow sitometrisi, yüzey plazmon rezonansı ve raman spektroskopisi gibi teknikler ile gerçekleştirilir. Bu yöntemler, eksozomların boyutunu, sayısını ve protein ekspresyonunu değerlendirmek için kullanılır (Purushothaman, 2019). Eksozomların karakterizasyonunda Alix, TSG101 ve HSP70 gibi belirteçlerin varlığı bu tekniklerle doğrulanabilir (Greening et al., 2015). Eksozom izolasyonu ve karakterizasyonu için kullanılan her yöntemin avantajları ve sınırlamaları bulunmaktadır. Araştırmanın amacına ve mevcut kaynaklara bağlı olarak en uygun yöntemin seçilmesi önem taşır.

Wharton jelinden elde edilen mezenkimal kök hücrelerden türetilen eksozomlar (WJ-MKH-Exo), düşük immünojenik özellikleri sayesinde bağışıklık yanıtını tetikleme riskini minimize ederken, mikroRNA, mRNA, protein ve lipit gibi biyomoleküller taşıyarak hücresel süreçlerde kritik işlevler üstlenir. Etik açıdan herhangi bir sorun oluşturmayan göbek kordonundan kolaylıkla elde edilebilmeleri, bu hücrelerden türetilen eksozomların önemli bir avantajıdır. Terapötik etkileri açısından değerlendirildiğinde, WJ-MKH-Exo'ların inflamasyonu azaltma, doku rejenerasyonunu destekleme ve fibrozis gibi dokusal hasarları önleme gibi çeşitli faydalar sunduğu gösterilmiştir (Yang ve ark., 2019).

Son yıllarda yapılan araştırmalar, insan göbek kordonu kaynaklı mezenkimal kök hücrelerden türetilen eksozomların, POY tedavisindeki potansiyelini vurgulamaktadır. Bu eksozomların, Hippo sinyal yolunu düzenleyerek POY fare modellerinde over fonksiyonlarını ve hücresel proliferasyonu iyileştirdiği gösterilmiştir (Li ve ark., 2021). Ayrıca, Nrf2/GPX4 yolu aracılığıyla ferroptozu inhibe ederek kemoterapiye bağlı over hasarını önleme yeteneği sergilediği bildirilmiştir (Y. Zhou ve ark., 2024). Bu bulgular, göbek kordonu kaynaklı eksozomların POY tedavisinde güçlü ve yenilikçi bir bilimsel temel sunduğunu göstermektedir.

1.5. Quercetin

Quercetin, flavonoid ailesine ait doğal bir bileşik olup çeşitli meyve, sebze, çay ve şarap gibi bitkisel kaynaklı gıdalarda bulunmaktadır (Van Meeuwen, Van den Berg, Sanderson, Verhoef ve Piersma, 2007). Antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik özellikleriyle dikkat çeken quercetin, geniş bir biyolojik etki yelpazesine sahiptir (Chen ve ark., 2018). Bu özellikleri, oksidatif stres ve inflamasyonun yol açtığı patolojilerin tedavisinde ve hücrel koruma mekanizmalarının geliştirilmesinde önemli bir molekül olarak incelenmesini sağlamıştır.

Quercetin, hücre düzeyinde oksidatif stresin neden olduğu hasarı önleme ve hücrel homeostazı koruma kapasitesine sahiptir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini azaltarak lipid peroksidasyonu gibi oksidatif süreçleri inhibe eder. Ayrıca, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi antioksidan savunma enzimlerinin aktivitesini artırır. Bu mekanizmalar sonucunda, malondialdehit (MDA) gibi oksidatif stres belirteçlerinde azalma gözlemlenmiştir (Jia, Lin, Mi ve Zhang, 2011). Bu etkileriyle quercetin, oksidatif stresin rol oynadığı hastalıkların tedavisinde potansiyel bir ajan olarak dikkat çekmektedir.

Kadın üreme sağlığı üzerindeki etkileri açısından, Quercetin'in rolü birkaç çalışmada incelenmiştir. POY modellerinde, Quercetin'in over dokusunu koruyucu etkileri rapor edilmiştir (Elkady, Shalaby, Fathi, & El-Mandouh, 2019; Zheng, Ma, Chen ve Li, 2022). Siklofosfamidin neden olduğu POY'da, Quercetin'in folikül rezervini koruduğu, granüloza hücrelerinin apoptozunu engellediği ve over fonksiyonlarını iyileştirdiği gösterilmiştir. Quercetin'in bu etkilerinin temelinde PI3K/Akt/FoxO3a sinyal yolunun regülasyonu yatmaktadır. Bu sinyal yolu, primordial foliküllerin aktivasyonunu düzenleyerek folikül havuzunun korunmasında kritik bir rol oynar. Quercetin, bu yolu aktive ederek granüloza hücrelerinin hayatta kalmasını destekler ve folikül atrezisini önler (Zheng ve ark., 2022).

Quercetin'in anti-apoptotik etkileri, mitokondriyal membran potansiyelinin korunması ve apoptotik proteinlerin inhibisyonu ile ilişkilidir. Hücrel düzeyde, Bcl-2 gibi anti-apoptotik proteinlerin ekspresyonunu artırırken Bax ve caspase-3 gibi pro-apoptotik proteinlerin aktivitesini baskılar. Bu mekanizma granüloza hücrelerinde apoptozu önleyerek foliküllerin sağlıklı gelişimini destekler. Ayrıca, mitokondri fonksiyonlarını koruma ve ROS üretimini azaltma kapasitesi, Quercetin'in over fonksiyonları üzerindeki koruyucu etkilerini güçlendirir (Jia, Lin, Mi ve Zhang, 2021; Zheng ve ark., 2022).

Quercetin'in hormonal denge üzerindeki etkileri de dikkat çekicidir. Araştırmalar, quercetin'in, FSH ve LH seviyelerini azaltırken, AMH ve östradiol seviyelerini artırdığını göstermektedir. Bu hormonal düzenleme, over dokusunda sağlıklı foliküllerin korunmasını ve folikül atrezisinin azalmasını desteklemektedir. Ayrıca, histolojik analizler, quercetin tedavisinin over dokusunda inflamasyon ve fibrozis gibi patolojik değişiklikleri azalttığını ortaya koymuştur (Elkady ve ark., 2019).

Sonuç olarak, quercetin'in oksidatif stresi ve inflamasyonu baskılayıcı, apoptozu önleyici ve hormonal dengeyi destekleyici etkileri, onu prematür ovaryen yetmezlik gibi üreme sağlığıyla ilişkili bozukluklarda terapötik bir ajan olarak öne çıkarmaktadır. Siklofosamid ile indüklenen POY modellerinde elde edilen bulgular, quercetin'in over fonksiyonlarını iyileştirme ve koruma potansiyelini desteklemektedir. Bu özellikler, quercetini kadın üreme sağlığına yönelik modern tıpta yenilikçi tedaviler geliştirilmesinde umut verici bir bileşik haline getirmektedir.

2. AMAÇ

Prematür ovaryen yetmezlik (POY), genetik, otoimmün, çevresel ve iatrojenik faktörlerin karmaşık etkileşimi sonucunda gelişen; klinik olarak amenore, hipoöstrojenizm ve infertilite ile kendini gösteren ciddi bir bozukluktur. Günümüzde POY tedavisine yönelik etkili bir yöntem bulunmamakta, mevcut yaklaşımlar genellikle yalnızca semptomların hafifletilmesine odaklanmaktadır. Bu durum, over fonksiyonlarını restore etmeyi hedefleyen yenilikçi tedavi stratejilerine olan ihtiyaçı daha da artırmaktadır

Bu çalışmada, POY modelinde Wharton jelinden türetilen mezenkimal kök hücre kaynaklı eksozomların (WJ-MKH-Exo) ve quercetin yüklü WJ-MKH-Exo'ların foliküler gelişim, apoptoz ve oksidatif stres üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Eksozomların immünmodülasyon ve doku rejenerasyonu potansiyeli ile quercetin'in güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri birleştirilerek, foliküler mikroçevrenin iyileştirilmesi, oksidatif stresin baskılanması ve apoptozun azaltılması hedeflenmiştir. Çalışmadan elde edilen bulguların, POY tedavisinde yenilikçi terapötik yaklaşımların geliştirilmesine katkı sağlaması öngörülmektedir.

3. YÖNTEM

Bu çalışma, Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan KOÜ HAYDEK 7/3-2020 sayılı karar numarası ile onay alınarak, etik kurul ilkelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

3.1. WJ-MKH Hücre Kültürü ve Karakterizasyonu

Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi (KÖGEM) hücre koleksiyonundan elde edilen Wharton jeli kaynaklı mezenkimal kök hücreler (WJ-MKH), %10 fetal sığır serumu (FBS) ve %1 penisilin-streptomisin içeren DMEM-F12 ortamında kültüre edilmiştir. Hücreler standart kültür koşullarında (37°C, %5 CO₂) muhafaza edilmiş ve %70-80 konfluensiye ulaştıklarında pasajlanmıştır.

Hücreler, uygun izotip kontrolleri (IgG1 ve IgG1/G2a) ile birlikte CD45, CD90, CD105, HLA-DR, CD73, CD34, CD106 ve CD44 gibi mezenkimal kök hücre yüzey belirteçleri ile etiketlenmiş ve fenotipik özellikleri akış sitometrisi kullanılarak değerlendirilmiştir. Analizler BD Cell Quest™ yazılımı ile gerçekleştirilmiştir.

Hücrelerin multipotent özellikleri, adipojenik ve osteojenik farklılaşma deneyleri ile doğrulanmıştır. Bu amaçla, hücreler %50-60 konfluenside adipojenik farklılaşma ortamına (Gibco™ StemPro™ Adipogenesis Differentiation Kit) ve %80-90 konfluenside osteojenik farklılaşma ortamına (Gibco™ StemPro™ Osteogenesis Differentiation Kit) aktarılmıştır. Farklılaştırma besiyerleri üç hafta boyunca her üç günde bir yenilenmiştir. Farklılaşma, adipojenik farklılaşma için Oil Red O ve osteojenik farklılaşma için Alizarin Red S boyamaları ile teyit edilmiştir (Lennon, Schluchter ve Caplan, 2012).

3.2. WJ-MKH Eksozom İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Kantifikasyonu

3.2.1. WJ-MKH Eksozom İzolasyonu

WJ-MKH-Exo izolasyonu için hücre kültür ortamından serum çıkarılmış ve hücreler PBS ile iki kez yıkanmıştır. Eksozomların izolasyonu için hücreler 24 saat boyunca serumsuz ortamda kültüre edilmiştir. Eksozomlar, diferansiyel ultrasantrifüjleme yöntemiyle izole edilmiştir. Toplanan MKH kültür ortamı, ölü hücreleri uzaklaştırmak

amacıyla önce $300 \times g$ 'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant yeni tüplere aktarılmıştır. Daha sonra süpernatant, $15.000 \times g$ 'de 20 dakika santrifüj edilerek hücre sel kalıntılardan arındırılmış ve $0,22 \mu m$ gözenek boyutlu filtre kullanılarak mikroveziküller uzaklaştırılmıştır. Önceden saflaştırılmış süpernatant, S50A rotor ile donatılmış bir CS150FNX ultrasantrifüj (Hitachi Himac, Japonya) kullanılarak $4^{\circ}C$ 'de 70 dakika boyunca $110.000 g$ 'de santrifüj edilmiştir. Elde edilen WJ-MKH-Exo pelletleri, küçük bir hacimde PBS ($\sim 100-1000 \mu L$) içinde yeniden süspansiyon edilmiş ve düşük protein bağlama tüplerinde (Thermo Scientific, ABD) saklanmıştır (Öztürk ve Halbutoğulları, 2024).

3.2.2. Bikinkoninik asit (BCA) kiti ile protein miktar tayini

WJ-MKH-Exo'lardaki protein miktarı, BCA kiti (Booster) kullanılarak ölçülmüştür. BCA testi, proteinlerin 'Biüre' reaktifi ile Cu^{2+} iyonlarının Cu^{+} iyonlarına indirgenmesi ve protein miktarına bağlı olarak yeşilden mora renk değişiminin ölçülmesi esasına dayanan kolorimetrik bir testtir. 96 kuyucuklu kültür kabına, PBS ile sulandırılarak farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Bovine Serum Albumin (BSA) standartları ve ekzozom örnekleri $100 \mu l$ olacak şekilde eklendikten sonra, kit protokolüne uygun şekilde hazırlanan 'working solution' ilave edilmiştir. Plaka, $37^{\circ}C$ 'de 1 saat süreyle çalkalamalı inkübatörde (Finepcr-combi-SV120, Kore) inkübe edilmiştir. Ardından, $562 nm$ dalga boyunda spektrofotometre ile absorban ölçümleri yapılmıştır. Sonuçlar, standart eğrisi ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

3.2.3. Zetasizer Cihazı ile Boyut Analizi

WJ-MKH-Exo'ların boyutu, KOÜ Kimya Laboratuvarında bulunan Malvern Zetasizer Nano ZS cihazı ile dinamik ışık saçılımı (DLS) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler oda ısısında örneklerin PBS ile 50 kat sulandırılmasıyla gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Elektron Mikroskopisi Analizleri

WJ-MKH-Exo'ların morfolojik görüntüleme ve boyut analizleri, elektron mikroskopisi (Thermo Scientific, QuadroS) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PBS içinde dilüe edilen ekzozomlar, karbon kaplı 300 mesh grid (Formvar) üzerine $5 \mu l$ damlatılarak kurumaya bırakılmıştır. Görüntüler, cihazın Environmental SEM (ESEM) modu kullanılarak elde edilmiş ve analiz edilmiştir.

3.3. WJ-MKH Kaynaklı Eksozomlara Quercetin Yüklenmesi ve HPLC ile Yükleme Verimliliğinin Ölçülmesi

Eksozomlara quercetin yüklenmesi için 1 mg quercetin, %2 Tween-80 içeren 200 µL DMSO içinde çözülmüş ve buzlu suda ultrasonik inkübasyonla 4°C'de gece boyunca 1,5 mg Exo ile karıştırılmıştır. Elde edilen eksozom-quercetin (EXO-QUE) kompleksi, kapsüllenmemiş quercetini uzaklaştırmak için üç kez yıkanmıştır. Süpernatantta kalan quercetin miktarı, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak ölçülmüştür (Qi ve ark., 2020). Analiz, UV dedektörü ile donatılmış 1260 Infinity Agilent HPLC cihazında gerçekleştirilmiş, bir ZORBAX SB-C18 kolon (4,6 × 150 mm, 3,5 µm) kullanılmış ve Agilent ChemStation yazılımı ile çalışılmıştır.

WJ-MKH-Exo'lardaki quercetin kapsülleme etkinliği (EE), uygun UV dalga boyunda HPLC ile belirlenen kapsüllenmemiş quercetin miktarına dayalı olarak aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır (Su ve ark., 2014):

$$EE(\%) = (\text{Başlangıçta eklenen ilacın ağırlığı} - \text{Süpernatanttaki serbest ilacın ağırlığı}) \times 100$$

3.4. Hayvan Modeli ve Deneysel Gruplarının Oluşturulması

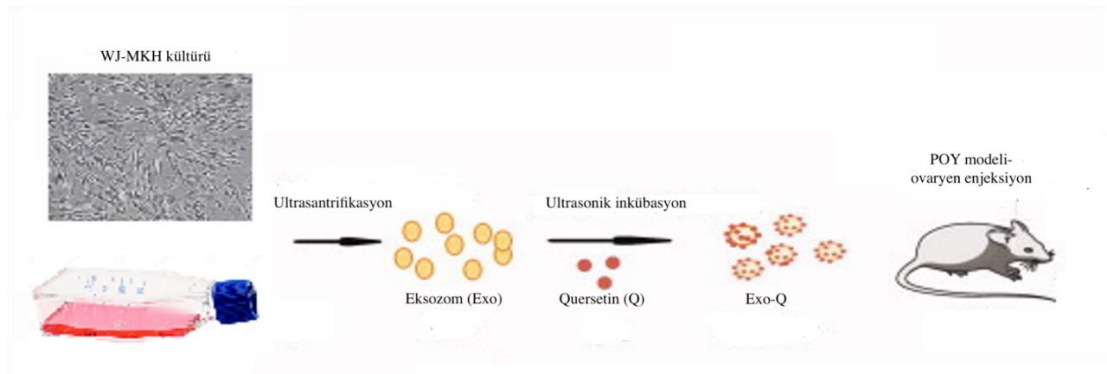
Wistar albino dişi sıçanlara bir hafta arayla iki kez 120 mg/kg siklofosfamid (CTX) intraperitoneal olarak uygulanarak deneysel bir prematür ovaryen yetmezlik modeli oluşturulmuştur (T. Zhang et al., 2016). Son CTX uygulamasından on dört gün sonra, POY indüksiyonunu doğrulamak için smear örnekleri toplanmıştır. Tüm deneyler 7 gün boyunca standart laboratuvar koşulları altında (22 ± 2°C oda sıcaklığı; 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü, ışıklar sabah 7:00'de açılır) sabah 9:00 ile 11:00 arasında gerçekleştirilmiştir. Düzensiz östrus döngüleri hematoxilen ve eozin (H&E) boyaması kullanılarak değerlendirilmiştir.

Deneysel grupları altı kategoriye ayrılmıştır:

1. Tedavi almayan bir kontrol grubu (Kontrol).
2. Sadece POY oluşturulan grup (POY).
3. PBS enjeksiyonu ile tedavi edilen bir POY grubu (PBS).
4. Wharton jeli kaynaklı mezenkimal kök hücreden türetilen eksozomlar ile tedavi edilen POY grubu (EXO).
5. Quercetin ile tedavi edilen POY grubu (QUE).

6. Wharton jeli kaynaklı mezenkimal kök hücreden türetilen ve quercetin yüklü eksozom ile tedavi edilen POY grubu (EXO-QUE).

Her grup altı hayvandan oluşmuştur. EXO ve EXO-QUE gruplarına uygulanan toplam protein miktarı 20 µg olacak şekilde standardize edilmiştir. QUE grubu için, eksozomlara yüklenen quercetin miktarı PBS ile toplam 1 mL hacime ayarlanmış ve hayvan başına her bir overe 10 µL solüsyon enjekte edilmiştir.



Şekil 3. 1. WJ-MKH kültüründen elde edilen eksozomların Quercetin ile işlenmesi ve POY modeli farelere enjeksiyonu (şematik gösterim)

Transplantasyon için hayvanlar, ketamin (90 mg/kg, intraperitoneal) ve ksilazin (10 mg/kg, intraperitoneal) kullanılarak anestezi altına alınmıştır. Şekil 3.2.'de gösterildiği gibi deri kalemi ile orta hat işaretlenmiş ve orta hattın 1 cm sağ ve solunda ki over bölgelerinden bistüri ile yaklaşık 1 cmlik kesiler açılarak yağ doku arasından overlere ulaşılmıştır. Over, dikkatlice yağ dokusundan ayrılmış ve tedaviler bir Hamilton şırıngası kullanılarak over korteksindeki iki farklı bölgeye, her bölgeye 5 µL olacak şekilde enjekte edilmiştir. Kesi alanı daha sonra sütüre edilmiş, aynı işlem kontralateral over için de tekrarlanmıştır. Sıçanların sırt bölgelerinden transplantasyon yapılmış ve operasyon sonrası yara bölgesine hasar vermelerini engellenmek amaçlanmıştır.



Şekil 3. 2. Overlere erişim için gerçekleştirilen cerrahi prosedürün uygulama aşaması

Transplantasyonlardan dört hafta sonra, overler çıkarılmış ve çevreleyen yağ ve bağ dokusundan temizlenmiştir. Her deney hayvanından bir over dokusu kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) analizi için ayrılırken, diğeri immünohistokimyasal incelemeler için korunmuştur. Aynı prosedür kontrol grubuna da uygulanmıştır. İmmünohistokimyasal analiz için over doku örnekleri %10 formalin içinde sabitlenirken, qRT-PCR için belirlenen dokular RNAaz tamponunda saklanmıştır.

3.5. Over Kesitlerinde Hematoksilen-Eozin Boyama (H&E) ve Folikül Sayımı

İmmünohistokimyasal incelemeler için, over dokuları %4 formaldehit solüsyonunda fikse edilmiş ve parafine gömülerek 5 µm kalınlığında seri kesitler hazırlanmıştır. Her beş kesitten biri hematoksilen ve eozin (H&E) boyaması için hazırlanmıştır. Işık mikroskobu altında incelenen bölgelerdeki görünür çekirdekli foliküller sayılarak elde edilen sayı, toplam folikül sayısını tahmin etmek amacıyla beş ile çarpılmıştır.

Tüm gruplardan alınan over dokusu kesitleri, folikülogenezi değerlendirmek ve folikül sayımı yapmak amacıyla H&E boyama yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Dokular, %10 tamponlu formalin içinde fikse edilmiş, parafin bloklara gömülmüş ve 5 µm kalınlığında seri kesitler hazırlanmıştır. H&E boyamanın ardından, her beş kesitte bir görünür nükleus içeren foliküller sayılarak over başına toplam folikül sayısı hesaplanmıştır. (Yang ve ark., 2019; X. Zhang ve ark., 2021). Foliküller Pederson'un sınıflandırma sistemine göre primordial, primer, sekonder, pre-antral ve antral foliküller olarak kategorize edilmiştir (Pederson ve

Peters, 1968). Over folikül sayımı ve histolojik incelemenin ardından apoptozis immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir.

3.6. İmmünofloresan Boyama-Konfokal Mikroskop ve Skorlama

İmmünofloresan boyama için, %10 formalin içinde muhafaza edilen over dokusu örnekleri parafine gömülmüş ve mikrotom bıçakları kullanılarak kesitler hazırlanmış ve lamlara monte edilmiştir. Caspase-3 ve PCNA primer antikoları, primer antikolara spesifik olarak bağlanan floresan işaretli sekonder antikolarla (Abcam) birlikte kullanılmıştır. Doku kesitlerindeki hücre membranını permeabilize etmek için Triton X-100 içeren PBS kullanılmış ve spesifik olmayan bağlanmayı önlemek için bir bloklama solüsyonu (Abcam) uygulanmıştır. Primer antikolar PBS içinde optimum konsantrasyonlarda hazırlanarak doku kesitlerine uygulanmış ve gece boyunca 4 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, spesifik olmayan bağlanmayı ve arka plan sinyallerini en aza indirmek için lamalar yıkanmıştır. Floresan işaretli ikincil antikolar daha sonra oda sıcaklığında 1 saat süreyle uygulanmıştır. Tekrar yıkandıktan sonra lamaların üzerine çekirdek boyası DAPI (Abcam) damlatılarak doku kesitleri lamellerle kapatılmıştır. Pozitif boyama ImageJ yazılımı kullanılarak puanlanmıştır. Caspase-3 ve PCNA antikoları ile etiketlenmiş kesitler konfokal mikroskop (Leica SP8) kullanılarak analiz edilmiştir.

3.7. ELIZA ile Serumdan Hormon Analizleri

Serumdaki FSH ve AMH protein seviyelerinin kantitatif tayini, üreticinin talimatları izlenerek antikor kaplı 96 kuyucuklu mikrolakalarda ELIZA kitleri (Cusabio, Houston, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mikrolakadaki renkli son ürünün yoğunluğu 450 nm dalga boyunda bir spektrofotometre (Versamax) kullanılarak ölçülmüştür. Protein konsantrasyonları optik yoğunluğa göre belirlenmiş ve kit standartlarından oluşturulan standart eğriler kullanılarak hesaplanmıştır.

3.8. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR ile Gen Ekspresyonu Analizleri

Over dokularından RNA izolasyonu (Thermo Fisher), ardından tamamlayıcı DNA (cDNA) sentezi bir cDNA sentez kiti (Thermo Fisher) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyon karışımı SYBR Green Master Mix (Enzo), hedef gene özgü ileri ve geri primerler ve örnek cDNA içeriyordu ve Roche LC480 cihazında çalıştırılmıştır. Termal döngü protokolü, 95°C'de 10 dakika süreyle bir ilk denatürasyon adımı ve ardından 95°C'de 10 saniye süreyle 45 döngü denatürasyon, 60°C'de 30 saniye süreyle primer bağlanması ve

72°C'de 30 saniye süreyle uzama ile başlamıştır. Döngü eşik (Ct) değerleri cDNA konsantrasyonları ve hedef gen ekspresyon seviyelerine göre belirlenmiştir. Bağlı gen ifadesi, hedef gen/referans gene göre normalize edilmiş $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemiyle hesaplanmıştır. House-keeping gen/referans gene bağlı olarak cihaz yazılımı tarafından her örnek için $2^{-\Delta Ct}$ hesaplanmış ve sonuçlar kontrol örneklerine oranlanarak $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri belirlenmiştir.

Table 3 1. qRT-PCR ile gen ifadesi bakılan genler, gen kimlik numaraları ve primer dizileri

Gen İsimleri	Gen Kimlik Numarası (NCBI Accession Number)	Primer Dizileri Forward (F)- Revers (R)
Follicle-stimulating hormone receptor (Fshr)	NM_199237.2	F: CATTCTTGGGCACGGGATCT R: GGTGAGCACAAACCTCAGTTC
Anti-Mullerian hormone receptor type 2 (Amhr2)	NM_030998.2	F: TTCCAAGGAAGCGTTGACGA R: TCCTGTTTGGGGATACTTGTGC
Stem cell factor (Kitl)	NM_021843.4	F: AGCAGTAGCAGTAATAGGAAAGCC R: GTGCCATTGCTGTCCATTGT
Steroidogenic acute regulatory protein (Star)	NM_031558.3	F: GAAGAACTGGTGGACCGCAT R: TCAGGCATCTCCCCAAAGTG
Bone morphogenetic protein 15 (Bmp15)	NM_021670.1	F: TCGGGTTCTGCAAAGCCTTCT R: TCCCTTGCGATTCCAGAGCTT
Growth differentiation factor-9 (Gdf9)	NM_021672.1	F: CTGTTGGGGGTTTGCTGCTT R: TTAGGGGTCTCACTTCGCTT
NFE2 like bZIP transcription factor 2 (Nrf2)	NM_031789	F: GTCAGCTACTCCCAGGTTGC R: CCAAAGTTGCTCCATGTCCT
Superoxide dismutase 1 (Sod1)	NM_017050	F: CGGATGAAGAGAGGCATGTT R: CACTTTGCCCAAGTCATCT
Marker of proliferation Ki-67 (Mki67)	NM_001271366	F: GCAGACAAGCCTTCAGCAGTAA R: TGGTACCATTGTCATCAATTTTCAGT
Caspase 3 (Casp3)	NM_012922.2	F: GTGGAAGTACGATGATATGGC R: CGCAAAGTGACTGGATGAACC

3.9. İstatistiksel Analiz

Her deney üç kez tekrarlanmıştır. Veriler, SPSS yazılımı kullanılarak analiz edilmiş ve gruplar arasındaki farklar, ikili karşılaştırmalar için Student's t-testi, çoklu grup karşılaştırmaları için ise non-parametrik Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenen verilerde, bu farklılıkların hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek amacıyla ileri düzey bir Post-Hoc analiz olan Bonferroni testi uygulanmıştır. Tüm nicel veriler, ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri, $*p \leq 0,05$, $**p < 0,01$ ve $***p < 0,001$ olarak kabul edilmiştir.

3.10. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

3.10.1. Kimyasal Malzemeler

Absolute ethanol (Merck Millipore)
BSA / sığır serum albümin (Sigma A4563)
DMEM-F12 Medyum (GIBCO)
Entellan (Merck Millipore: 107961)
FBS/fetal bovine serum (GIBCO)
Methanol (Sigma: 24229)
Parafin (Merck Millipore)
PBS 1X, pH 7.4, w/o calcium and magnesium
Penisilin-Streptoycin (10.000 U/ml) (GIBCO)
Sodium pyruvate (Sigma-Aldich, St. Louis, MO, USA)
Dexamethazone (Sigma-Aldich, Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland)
Proline (Merck, Darmstadt, Germany)
ITS premix (BD-Biosciences, Bedford, MA)
 β -glycerophosphate (Sigma-Aldrich)
İnsulin (Invitrogen, GIBCO)

3.10.2. Antikorlar

Goat Anti-Rabbit IgG H&L (Alexa Fluor® 488, ab150077, Abcam)
Goat Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Fluor® 647, ab150115, Abcam)
Goat anti-rabbit IgG (H+L) (peroxidase) (E-AB-1003, Elabscience®)
Goat anti-mouse HRP conjugate (cat# 170-5047, BioRad)
Caspase9

Pcna

3.10.3. Alet, Teçhizat ve Cihazlar

Hassas terazi, 0,1 mg hassasiyetli (Shimadzu AW120)

Vorteks 4S (FINEPCR FINEVORTEX 4S)

Mikrodalga fırın (Luxell)

Etüv (Elektro-mag)

Mikrotom (Leica SM 200R)

Ultramikrotom (Reichert UM2- Reichert UM3)

Işık mikroskobu (Leica DM 1000)

İnvert mikroskop (Leica DMIL, Leica DMI400, Olympus CKX41A, IX71)

Binoküler mikroskop (Leica CME)

Konfokal mikroskop (Leica DMI8 Laser Scanning Confocal Microscope)

Laminar Kabin, Class II Tip (Heraus KS12)

Soğutmalı santrifüj (Sigma 2-16K ve Hettich Universal 320R)

Mikrosantrifüj (Sigma 1-14 ve Hettich Micro 120)

Derin dondurucu, -86°C (Sanyo MDF-U5386S)

Derin dondurucu, -20°C (Beko D7210)

CO₂ İnkübatör, 240 L (Sanyo MCO-20AIC)

Çalkalamalı su banyosu (Nüve ST 402)

Isıtmalı manyetik karıştırıcı (HEIDOLPH MR Hei-Standard)

Buzdolabı (No-frost 435 lt) (Beko BK-9551)

Buz makinesi (Scotsman AF 80)

Bidistile su cihazı (GFL 2104)

PH metre (WTW Inolab PH720 Set)

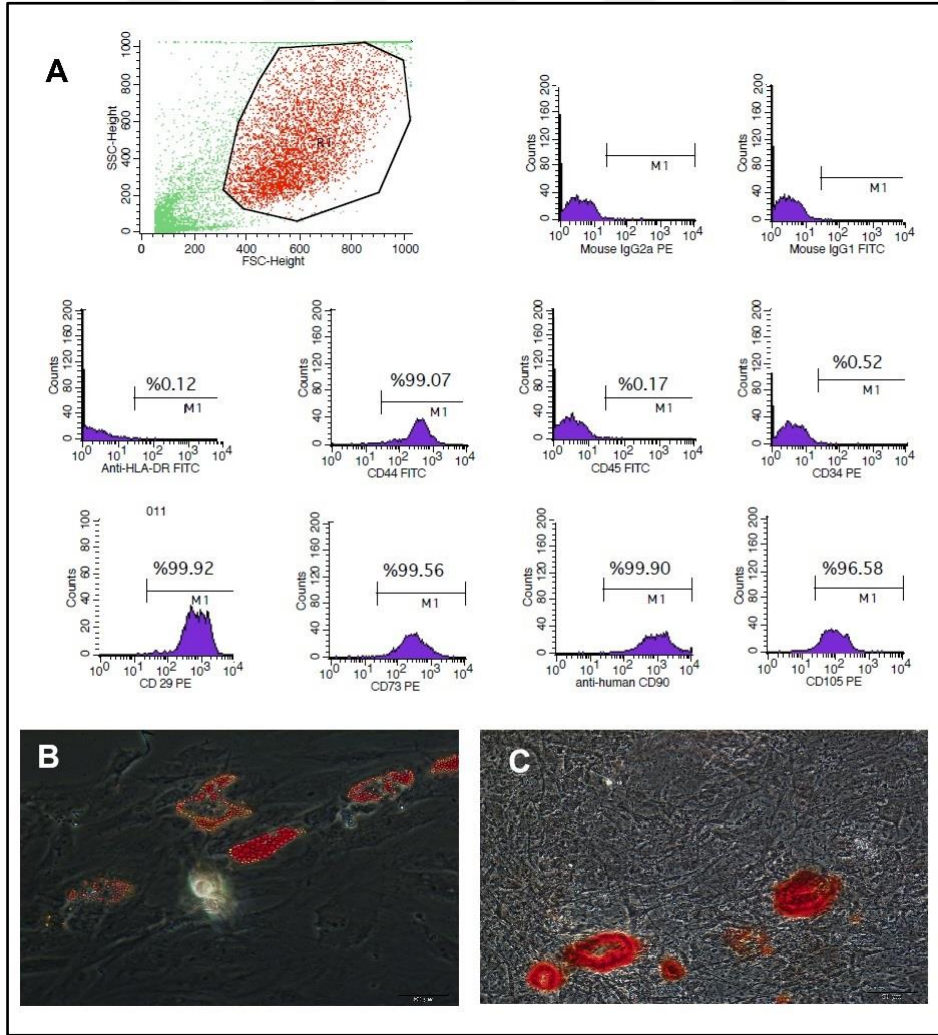
Sıvı azot tankı (MVE Chart Lab20)

Sıvı azot transfer tankı (TP60)

4. BULGULAR

4.1. WJ-MKH Hücre Kültürü ve Karakterizasyonu

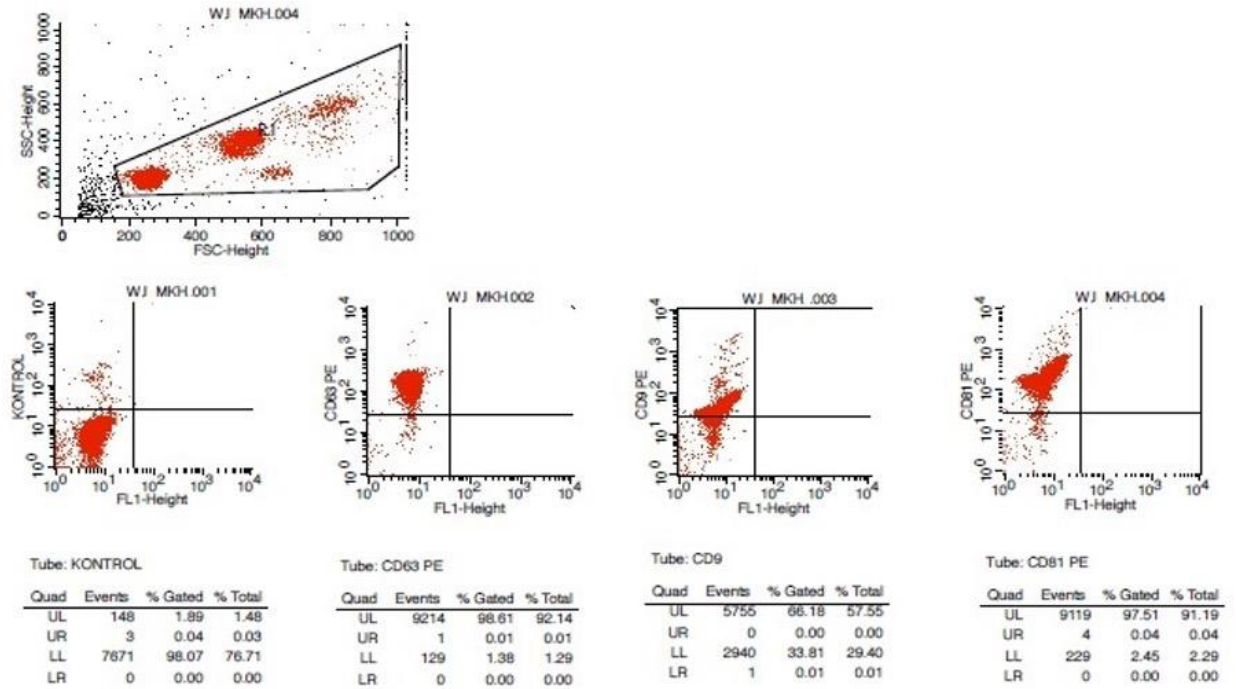
Mezenkimal kök hücrelerin flow sitometri ile yüzey belirteçleri incelendiğinde, pozitif olması beklenen CD90, CD105, CD73 ve CD29 yüzey belirteçlerinin pozitif, CD45, CD34 ve HLA-DR yüzey belirteçlerinin ise negatif olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1.A). Ayrıca, multipotent özelliklerinin doğrulanması amacıyla gerçekleştirilen adipojenik farklılaşmada, Oil Red O boyama ile lipid damlacıkları, osteojenik farklılaşmada ise alizarin red S boyama ile kalsifiye nodüller gösterilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4. 1. (A) WJ-MKH flow sitometri karakterizasyonu. (B) Adipojenik farklılaşma, Oil-Red O boyama faz-kontrast mikroskop görüntüsü (C) Osteojenik farklılaşma faz-kontrast mikroskop görüntüsü Alizarin red S Ölçüm 200µm.

4.2. WJ-MKH Eksozom İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Miktar Tayini

Eksozom yüzey belirteçlerinden CD9, CD63 ve CD81'in yüksek düzeyde pozitif olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Elektron mikroskopik görüntüler ve zeta sizer analizleri, vezikül boyutlarının yaklaşık 150 nm olduğunu göstermiştir. İzolasyon işlemlerinin ardından WJ-MKH-Exo'lar, -20°C'de saklanmıştır.



Şekil 4. 2. WJ-MKH kaynaklı eksozomların karakterizasyonu. CD63, CD9 ve CD81 eksozom belirteçlerinin akım sitometri analizi.

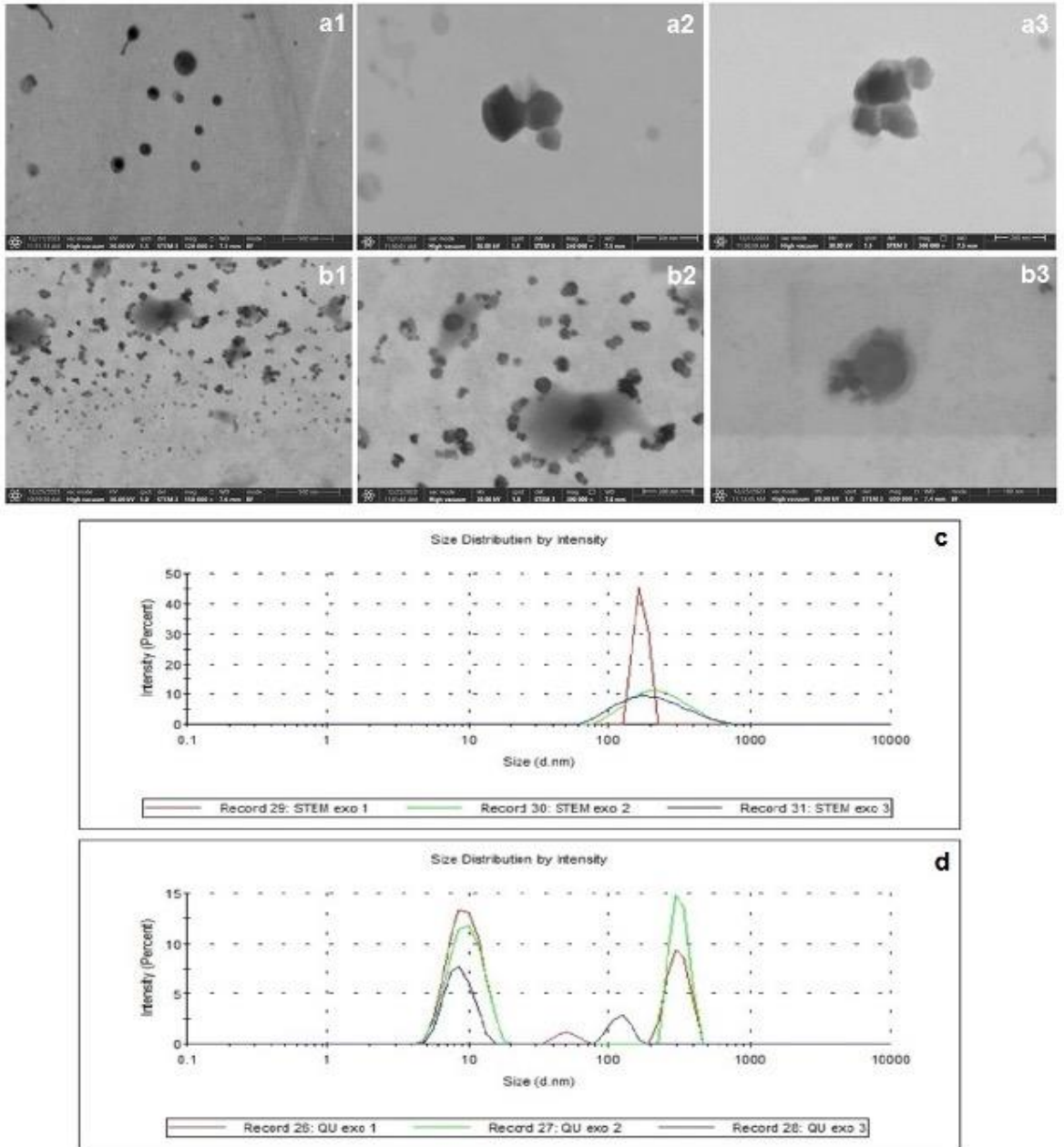
4.3. Eksozomlara Quercetin Yükleme Verimliliğinin HPLC ile Ölçümü, Boyut ve Şekil Analizleri

Eksozomlar içerisine yüklenen ve/veya tutunan quercetin miktarının belirlenmesi için C18 ters faz kolon, mobil faz asetonitril/su ve UV dedektör kullanılmıştır. Öncelikle 1 mg Que tartılıp % 2 Tween-80 içeren 200 ul DMSO'da çözüldü 1 mL oluncaya kadar PBS

eklenilerek 1000 µg/mL olacak şekilde quercetin stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden seri seyreltme yöntemi ile 31.25, 62.5, 125, 250 ve 500 µg/mL'lik çözeltiler hazırlanarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Kromatografik koşullar; akış hızı 1 mL/dk, mobil faz asetonitril/su (60/40), dalga boyu 256 nm, enjeksiyon hacmi 20 µL ve alıkonma süresi 8 dakika olacak şekilde ayarlanarak, absorbans&konsantrasyon kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Quercetin içeren veya içermeyen eksozom örnekleri 1/5 oranında PBS ile seyreltilerek analiz edilmiş ve quercetin yükleme verimliliğinin yaklaşık olarak %30-40 olduğu saptanmıştır.

Quercetin yükleme öncesinde, oda sıcaklığında çözünen eksozomlar işlem öncesi ve sonrasında zetasizer ölçümleri ve elektron mikroskopik görüntüleme ile analiz edilmiştir. Zetasizer sonuçlarında gözlenen eksozom boyutlarındaki farklılıklar, elektron mikroskopisinde birleşme gösteren eksozomların saptanmasıyla doğrulanmıştır.

Quercetin yükleme etkinliği HPLC analizlerinde yaklaşık %40 olarak saptansa da elektron mikroskopi görüntülerinde yaklaşık 10 µm boyutlarında quercetin kalıntıları gözlenmiştir. Santrifüj yapılmasına rağmen bu durumun gözlenmesinin, quercetin boyutlarının oldukça küçük olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Zetasizer ile saptanan partikül boyutlarının, elektron mikroskopik görüntülerle uyumlu olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3).



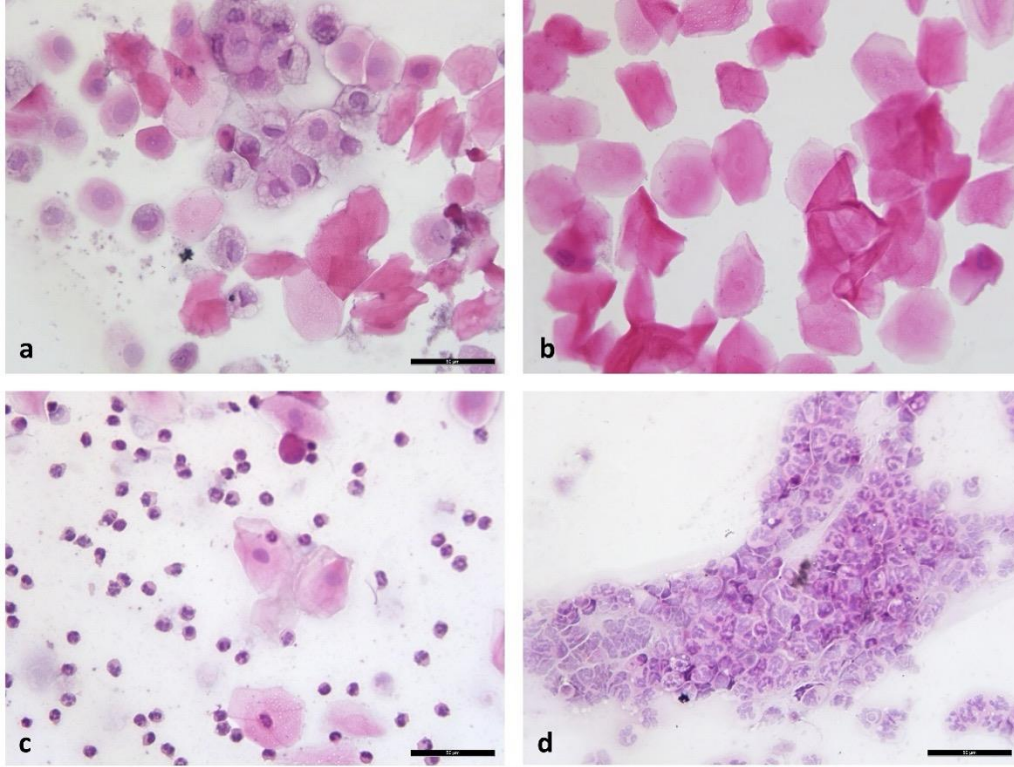
Şekil 4. 3. Quercetin yükleme öncesi (a1,a2,a3) ve sonrası (b1,b2,b3) eksozomların elektron mikroskopik görüntüleri ve quercetin yükleme öncesi (c) ve sonrası (d) zetasizer ölçümleri.

4.4. Prematür Ovaryen Yetmezlik Modeli Oluşturma

4.4.1. Hematoksilen-Eosin Boyama (H&E)

Vajinal yaymada nükleuslu epitel hücrelerinin en çok olduğu gün östrus siklusunun ilk günü olarak kabul edilmiş ve östrus evresinin ilk gününden bir sonraki östrus evresinin ilk gününe kadar olan süreç bir siklus olarak tanımlanmıştır (X. Zhang ve ark., 2021). Kontrol

grubunda proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus evrelerinin düzenli olduğu (Şekil 4.4.), POY grubunda ise düzensiz ve uzamış siklusların gözleendiği belirlenmiştir.

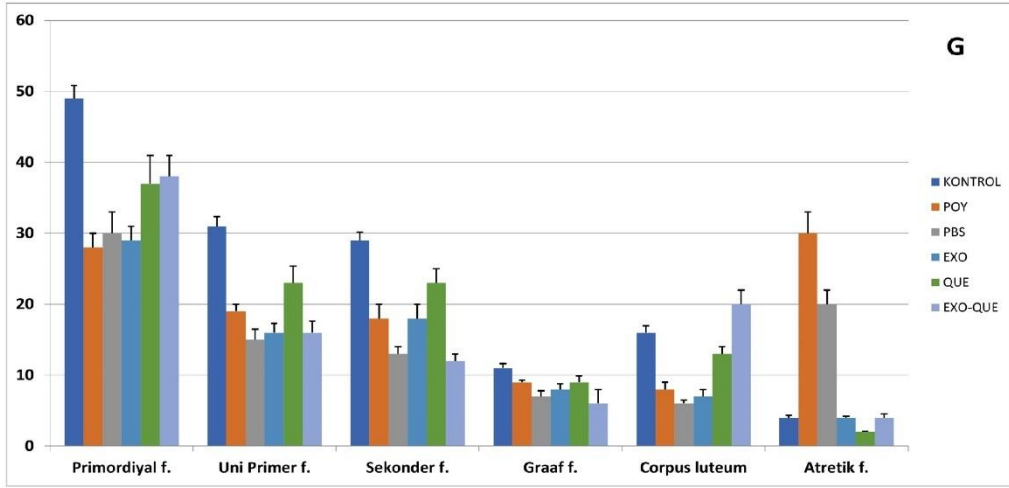
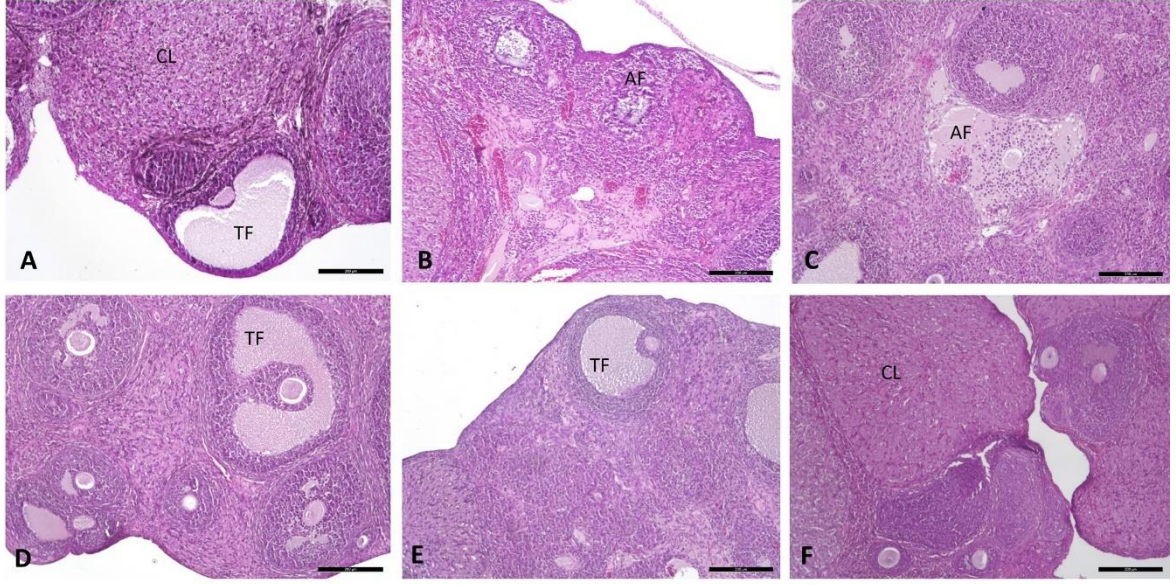


Şekil 4. 4. Kontrol grubuna ait sıçanlarda vaginal smear fotomikrografları. a. Proöstrus, b. Östrus, c. Metöstrus, d. Diöstrus. H&E, 400X magnifikasyon.

4.5. Over Kesitlerinde Folikül Sayımı

POY oluşturulan hayvan grubuna ek olarak, tedavi gruplarında olduğu gibi POY oluşturulduktan sonra yalnızca PBS enjeksiyonu uygulanan bir grup (PBS) oluşturulmuştur. Bu grup, intraovaryen girişimin etkilerini değerlendirmek amacıyla dahil edilmiş olup, yapılan tüm deneylerde POY ve PBS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Ayrıca, diğer gruplarla karşılaştırıldığında POY grubuyla benzer özellikler gösterdiği için tek bir grup olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.5).

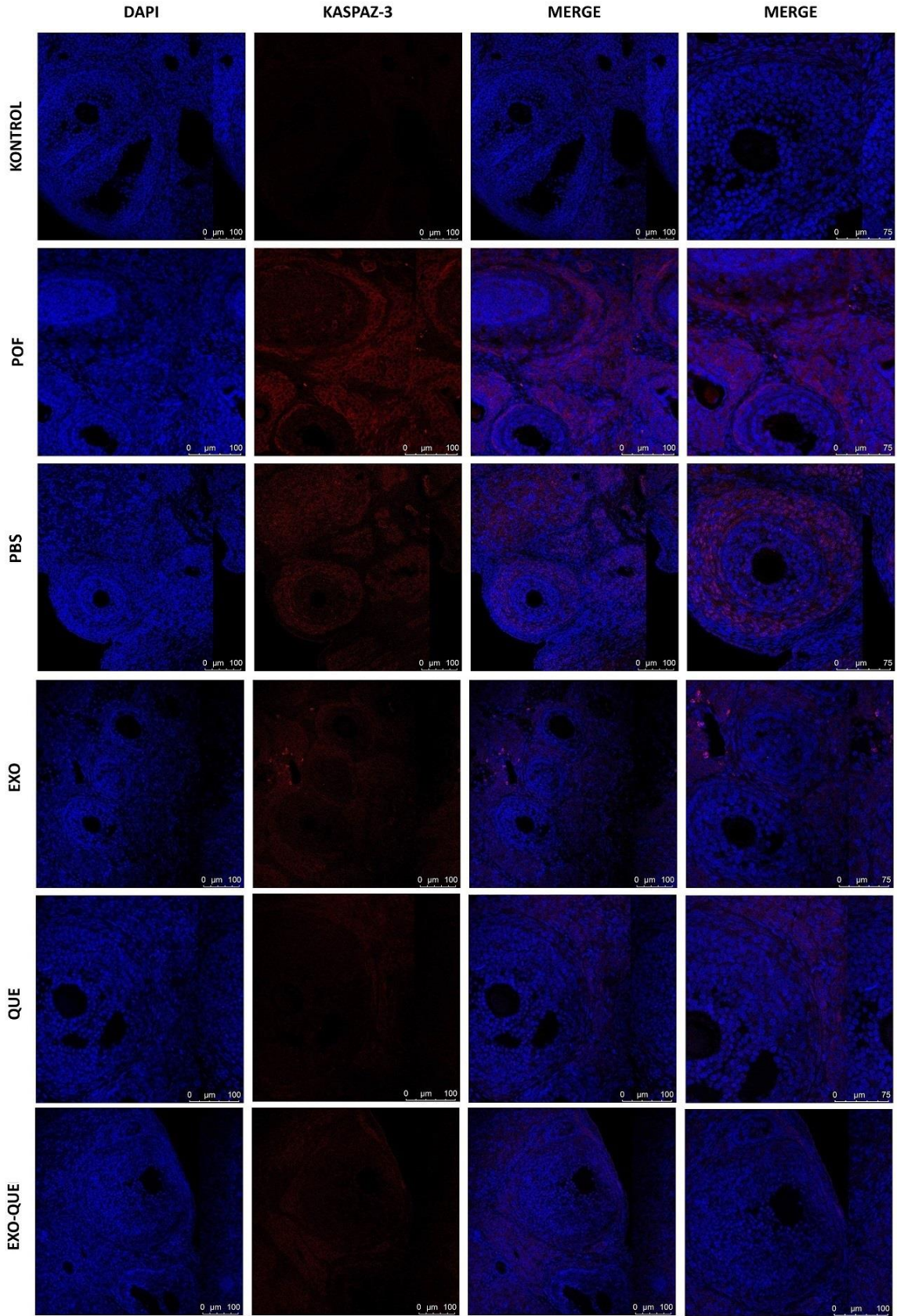
Folikül sayısı ve morfolojisindeki değişimler değerlendirildiğinde; POY grubunda kontrol grubuna göre artmış atretik folikül sayısının tedavi gruplarında azalmış olduğu gözlenmiştir. Özellikle korpus luteum ve tersiyer folikül miktarının EXO-QUE grubunda daha fazla artış gösterdiği saptanmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4. 5. Kontrol ve tedavi gruplarına ait H&E mikrografları.. A.Kontrol, B.POY, C.PBS, D. EXO, E. QUE, F. EXO-QUE grupları ışık mikroskop görüntüleri (4x = 200µm). G. Kesitlerde sayılan primordiyal, primer, sekonder, tersiyer, korpus luteum ve atretik foliküllerin sayıları.

4.6. İmmünfloresan Boyama-Konfokal Mikroskopisi ve Skorlama

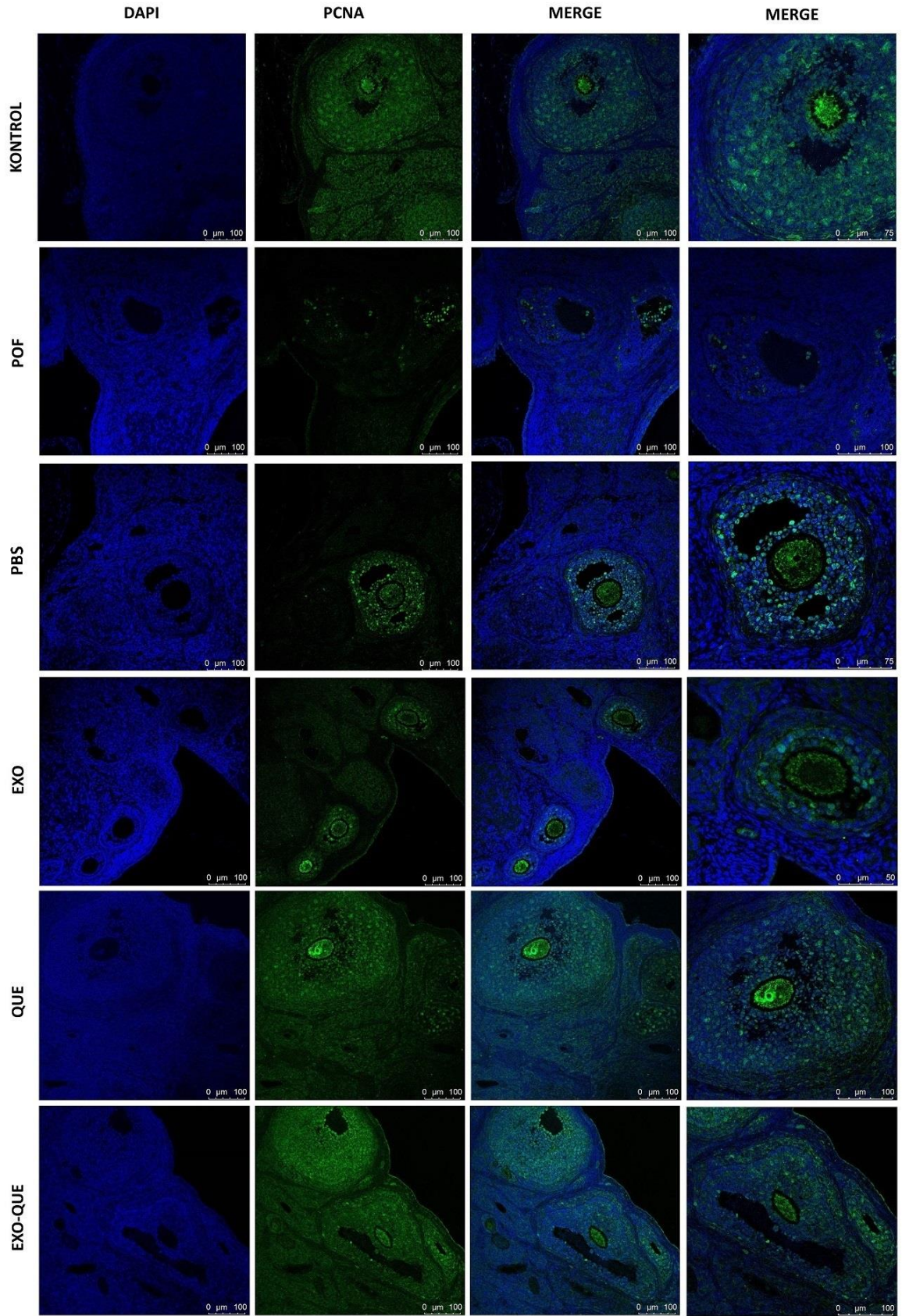
POY oluşturulan hayvanlarda yapılan immünboyamalar, konfokal mikroskopla görüntülenmiş ve floresan yoğunluğunun ImageJ ile skorlama sonuçlarına göre, apoptoz belirteçlerinden Caspase-3'ün kontrol grubuna kıyasla ileri derecede anlamlı artış (**p<0,001) gösterdiği tespit edilmiştir. PBS verilen grupta anlamlı bir değişim gözlenmezken, tüm tedavi gruplarında POY grubuna kıyasla anlamlı bir azalma (**p<0,001) saptanmıştır (Şekil 4.6 ve 4.8).



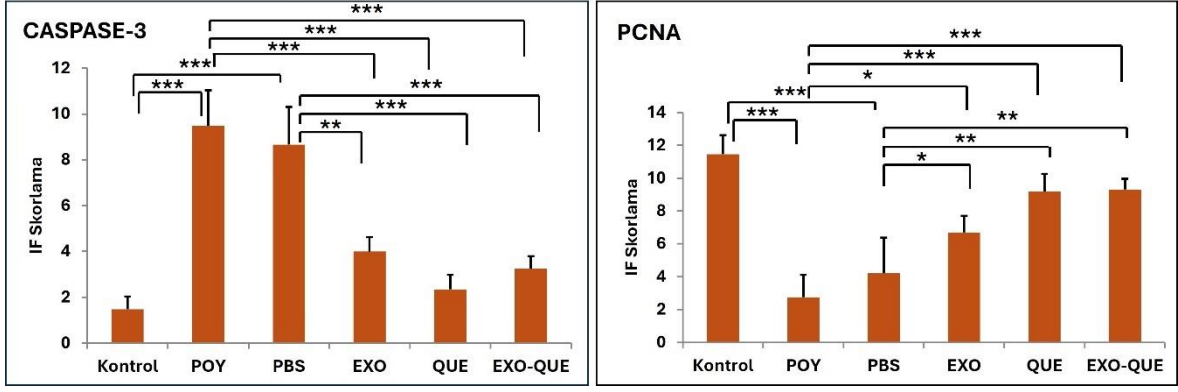
Şekil 4. 6. Caspaz-3 immunfloresan boyama konfokal mikroskop görüntüleri

Proliferasyon belirteçlerinden PCNA'nın, POY oluşturulan hayvanlarda kontrol grubuna kıyasla ileri derecede anlamlı bir azalma (**p<0,001) gösterdiği; PBS verilen grupta anlamlı bir değişim gözlenmezken, tüm tedavi gruplarında POY grubuna kıyasla anlamlı bir artış (**p<0,001) saptandığı belirlenmiştir (Şekil 4.7 ve 4.8).



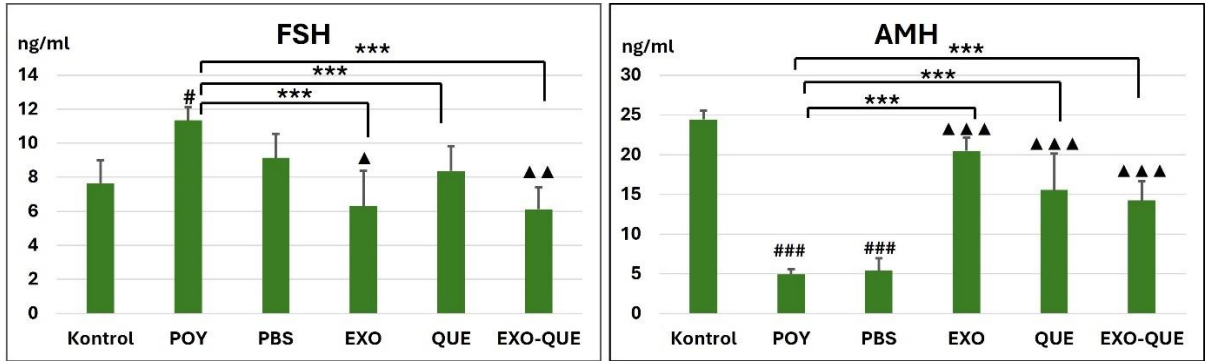


Şekil 4. 7. PCNA immunfloresan boyama konfokal mikroskop görüntüleri



Şekil 4. 8. Caspase-3 ve PCNA için konfokal mikroskop görüntülerinde floresan yoğunluğunun ImageJ programı ile skorlanmasıyla elde edilen bar grafikleri

POY grubunda FSH miktarı kontrol grubuna göre artış göstermiştir ($\#p \leq 0,05$). POY grubunda saptanan artış tedavi gruplarında azalmayla sonuçlanmış ($***p < 0,001$) ve bu azalma PBS grubuna göre karşılaştırdığımız EXO ($\blacktriangle p \leq 0,05$) ve EXO-QUE ($\blacktriangle\blacktriangle p < 0,01$) gruplarında da saptanmıştır. POY ve PBS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak azalma gösteren ($###p < 0,001$) AMH değerleri, tüm tedavi gruplarında ($p < 0,001$) istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı artmıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4. 9. FSH ve AMH hormonları için serumdan (ng/ml) Eliza analizi. (*p değeri $\leq 0,05$, **p değeri $< 0,01$, ***p değeri $< 0,001$.) *POY grubuna göre EXO,QUE ve EXO-QUE gruplarının, ▲PBS grubuna göre, # Kontrol grubuna göre POY ve PBS grubunun istatistiksel değerlendirmesi.)

4.7. Kantitatif Real-Time PCR (qRT-PCR) Metodu ile Gen İfadesi Tayini

Fshr gen ifadesinde, POY grubuna kıyasla, QUE ve EXO-QUE gruplarında ileri düzeyde anlamlı bir artış saptanmıştır ($p < 0,001$). Bununla birlikte, yalnızca eksozom verilen grupta Fshr gen ekspresyonunda bir artış gözlenmiş, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p = 0,136$). PBS grubu ile karşılaştırıldığında yine, EXO ($p \leq 0,05$), QUE ($p < 0,001$) ve EXO-QUE ($p < 0,001$) gruplarında Fshr gen ifadesinin artış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.10).

Amhr2 gen ifadesinin, POY grubuna kıyasla EXO ($p \leq 0,05$), QUE ($p < 0,01$) ve EXO-QUE ($p < 0,01$) gruplarında anlamlı bir artış gösterdiği tespit edilmiştir. Benzer şekilde PBS grubuna göre EXO ($p < 0,01$), QUE ($p < 0,001$) ve EXO-QUE ($p < 0,001$) gruplarında istatistiksel anlamlı bir artış saptanmıştır (Şekil 4.10).

Gdf9 gen ifadesinin, QUE grubunda POY ve PBS gruplarına kıyasla ileri derecede anlamlı bir artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Ayrıca, QUE grubundaki artışın kontrol grubundan da daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($p < 0,01$). Ek olarak; POY grubuna kıyasla EXO-QUE grubunda gözlenen artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Şekil 4.10).

QUE ($p < 0,001$) ve EXO-QUE ($p < 0,01$) gruplarında, POY grubuna kıyasla Bmp15 gen ifadesinde anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Benzer şekilde, kontrol ve PBS gruplarına kıyasla QUE ($p < 0,01$) ve EXO-QUE ($p < 0,05$) gruplarında da anlamlı bir artış gözlenmiştir (Şekil 4.10).

Steroid hormon sentezi ile ilişkili Star gen ifadesi, POY ve PBS gruplarıyla karşılaştırıldığında tüm tedavi gruplarında artış göstermiştir. Bu artış, EXO ve EXO-QUE gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla $p < 0,01$ ve $p < 0,001$). Ayrıca, kontrol grubuna kıyasla EXO-QUE grubunda da anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p < 0,01$), (Şekil 4.10).

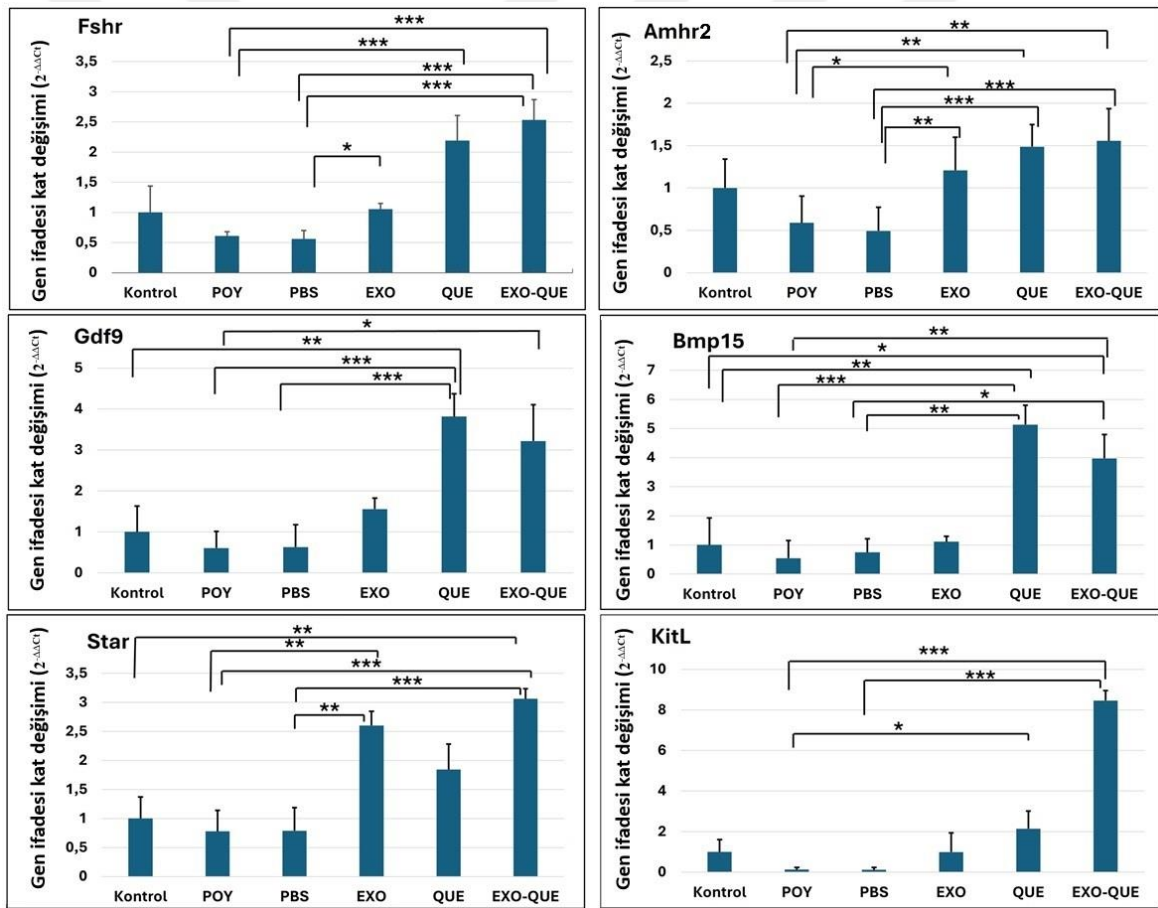
KitL gen ifadesi, POY grubuna kıyasla tüm tedavi gruplarında artış göstermiştir. Bu artış, yalnızca QUE ($p \leq 0,05$) ve EXO-QUE ($p < 0,001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca, PBS grubuna kıyasla EXO-QUE grubundaki artış istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı tespit edilmiştir ($p < 0,001$), (Şekil 4.10).

Nrf2 gen ifadesi, kontrol, POY ve PBS gruplarıyla karşılaştırıldığında EXO-QUE grubunda anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0,001$). Ki67 gen ifadesinin POY grubunda

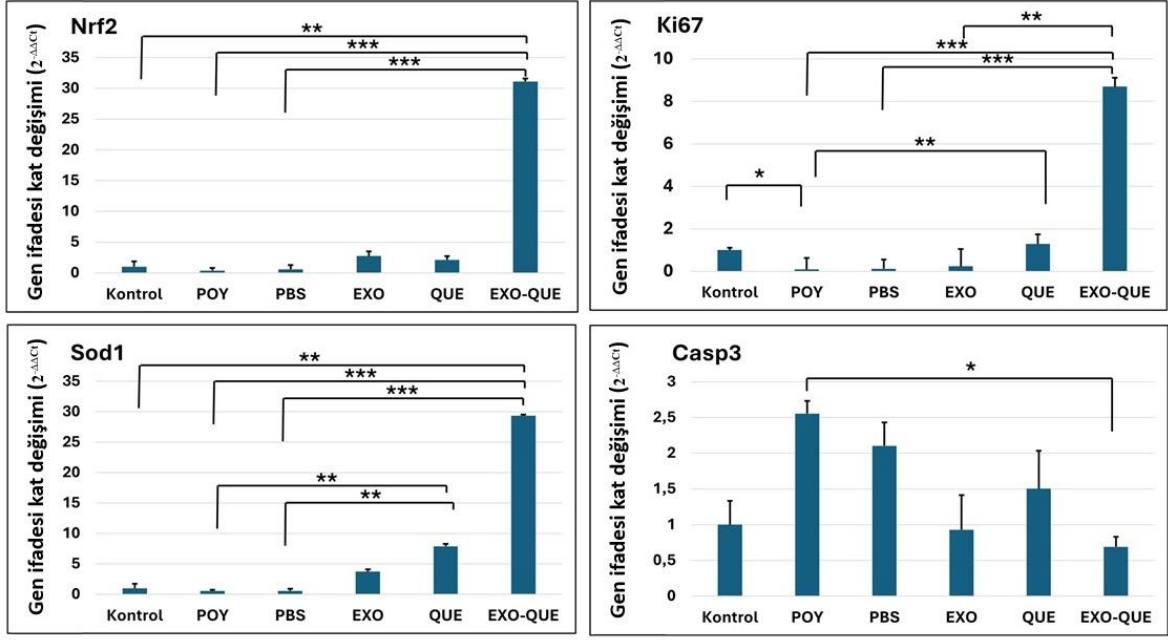
kontrol grubuna kıyasla azaldığı tespit edilmiştir ($p \leq 0,05$). Bununla birlikte, QUE ($p < 0,01$) ve EXO-QUE ($p < 0,001$) gruplarında POY grubuna kıyasla gözlenen artışın ileri derecede anlamlı olduğu belirlenmiştir. İlginç bir şekilde, EXO-QUE grubundaki artışın EXO grubuna kıyasla da ileri derecede anlamlı olduğu gözlenmiştir ($p < 0,001$), (Şekil 4.11).

Sod1 gen ifadesi, hem POY hem de PBS gruplarına kıyasla tüm tedavi gruplarında artış göstermiştir. Bu artış, özellikle QUE ($p < 0,01$) ve EXO-QUE ($p < 0,001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.11).

Casp3 gen ifadesi, POY grubuna kıyasla tüm tedavi gruplarında azalma göstermiştir. Ancak, bu azalma yalnızca EXO-QUE grubunda istatistiksel anlamlılığa ulaşmıştır ($p \leq 0,05$), (Şekil 4.11).



Şekil 4. 10. Oosit olgunlaşması ve çoğalma ilişkili gen ifadelerinin qRT-PCR analizi (x eksenini deney gruplarını, y eksenini referans gene (aktin beta) göre kat değişimlerini göstermektedir)



Şekil 4. 11. ROS ilişkili olan gen ifadelerinin ifadelerinin qRT-PCR analizi (x eksenini deney gruplarını, y eksenini referans gene (aktin beta) göre kat değişimlerini göstermektedir)

5. TARTIŞMA

Prematür over yetmezliği tedavisinde halen etkili bir ilaç veya tedavi bulunmamaktadır. Günümüzde sıklıkla tercih edilen hormon replasman tedavisi, yalnızca hormonal dengesizliklerin yol açtığı semptomları hafifletmekte, ancak over fonksiyonlarını ve fertilitiyi geri kazandırmada yetersiz kalmaktadır. Ayrıca, hormon replasman tedavisinin (HRT) tromboz ve kanser riskini artırması, uzun süreli kullanımını sınırlayan önemli bir faktör olarak öne çıkmaktadır (Ding ve ark., 2020; Yang ve ark., 2019). Bu nedenle, POY tedavisi için daha güvenli ve etkili alternatif yaklaşımların geliştirilmesi, klinik uygulamalarda ve araştırma alanında kritik bir ihtiyaç olarak görülmektedir.

Mezenkimal kök hücreler, kendini yenileme, çoğalma ve parakrin faktör üretme kapasiteleri ile hasarlı dokuların iyileşmesinde önemli bir potansiyel sunmaktadır. Kemik iliği, amniyotik sıvı ve adipoz doku gibi çeşitli kaynaklardan elde edilen MKH'lerin, infertilite ve over hasarının tedavisindeki terapötik etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir

(Bao ve ark., 2018; Fazeli, Abedindo, Omrani ve Ghaderian, 2018; X. Wang ve ark., 2023; Z. Wang, Wang, Yang, Li ve Yang, 2017). Bununla birlikte, MKH uygulamaları kanser riski ve otoimmün hastalıkları tetikleme olasılığı gibi önemli dezavantajlara sahiptir. Ayrıca, MKH'lerin hedef dokuda hayatta kalma ve farklılaşma kapasitelerinin sınırlı olması, terapötik etkinin büyük ölçüde parakrin sinyalleşmeye bağlı olduğunu düşündürmektedir. Bu görüş, ekstraselüler veziküller aracılığıyla gerçekleşen parakrin sinyallerin, hücrel proliferasyon, göç ve gen ekspresyonunu modüle ettiğini gösteren çeşitli çalışmalarla desteklenmektedir. Özellikle eksozomlar, düşük immünojenite ve tümörjenite özellikleri ile POY tedavisinde hücre bazlı terapilere etkili bir alternatif sunmaktadır (Hocking ve Gibran, 2010; Horie ve ark., 2012; Yang ve ark., 2019).

Eksozomlar, DNA, RNA ve protein taşıma kapasiteleri ile hücreler arası iletişimde önemli bir role sahiptir ve etkili ilaç taşıyıcıları olarak dikkat çekmektedir. İnsan göbek kordonu kaynaklı mezenkimal kök hücrelerden türetilen eksozomların (hUMSC-Exos), granüloza hücrelerinde apoptozu baskıladığı ve bağışıklık yanıtlarını düzenlediği literatürde rapor edilmiştir. Ayrıca, bu eksozomların gen ekspresyonunu düzenleyen mikroRNA'ları taşıması, POY tedavisinde hücre bazlı terapilere umut vadeden bir alternatif sunmaktadır (Ding ve ark., 2020; Li ve ark., 2021; Patel ve ark., 2024).

Quercetin, güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip bir bileşiktir. Antioksidan genlerin (Prx1-6 ve Nrf2) ekspresyonunu artırırken, inflamatuvar belirteçler olan IL-1 β , COX-2 ve iNOS seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (Fazeli ve ark., 2018). Zheng ve arkadaşları, siklofosfamid ile oluşturulan ovaryen yetmezlik modelinde quercetin uygulamasının folikül gelişimini desteklediğini ve granüloza hücre düzenini iyileştirdiğini rapor etmiştir. Bu çalışmada, quercetin oral yolla uygulanmış ve özellikle yüksek doz uygulanan grupta atretik foliküllerin azaldığı, her seviyedeki folikül gelişiminin gözlemlendiği bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2022). Eren ve arkadaşları ise, intraperitoneal yolla uygulanan quercetin'in erken dönem folikül sayısında anlamlı bir artış sağladığını rapor etmiştir (Eren ve ark., 2024). Quercetin ve rosuvastatin'in intraperitoneal uygulandığı diğer bir çalışmada, siklofosfamidin neden olduğu hasarın her iki bileşikle de iyileşme gösterdiği bildirilmiştir (Elkady, Shalaby, Fathi ve El-Mandouh, 2019). Bununla birlikte, quercetin'in hangi mekanizmalarla etkili olduğuna dair daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır. Literatürde, quercetin'in over dokusuna doğrudan uygulanmasının değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamaktadır. Bu durum, çalışmamızın literatüre önemli bir katkı sağladığını göstermektedir.

Quercetin'in düşük çözünürlük ve stabilite gibi farmakolojik dezavantajları terapötik etkinliğini sınırlamaktadır. Bu sorunları aşmak için kimyasal modifikasyonlar ve nanokapsüller gibi hedefe yönelik dağıtım sistemleri geliştirilmiştir (Kuo, Chen ve Rajesh, 2019). Eksozomlar, DNA, RNA ve protein taşıma kapasiteleri sayesinde etkili ilaç taşıyıcıları olarak öne çıkmaktadır. Tümör oluşturma riski taşımamaları, immünojenik özellik göstermemeleri ve in vivo ortamda iyi tolere edilmeleri nedeniyle, eksozomlar güvenli ve uygulanabilir bir terapötik alternatif sunmaktadır (Qi ve ark., 2020). Özellikle mezenkimal kök hücre türevi eksozomlar, sürdürülebilir, uygun maliyetli ve etkili bir kaynak olarak öne çıkmaktadır. Bu özellikler, eksozomları, quercetin gibi bileşiklerin hedef dokuya etkin bir şekilde taşınmasını sağlayarak gelecekteki terapötik uygulamalar için güçlü bir araç haline getirmektedir.

Literatürde bildiğimiz kadarıyla quercetin yüklü eksozomların POY üzerine etkisini araştıran çalışma bulunmamaktadır. Qi ve arkadaşları, oktaik asit ile indüklenmiş alzheimer modelinde intravenöz olarak uygulanan quercetin yüklü eksozomların 1-2 saat gibi kısa bir sürede serebellumda biriktiğini ve eksozomların quercetin birikimini artırarak nöroprotektif etki gösterdiğini bildirmişlerdir (Qi ve ark., 2020). Bu çalışmada da, araştırmamızda olduğu gibi, gradient santrifüj yöntemi ile elde edilen insan plazma kaynaklı eksozomlara sonikatör yardımı ile quercetin yüklenmiştir.

Çalışmamızda da bu doğrultuda, WJ-MKH kaynaklı eksozomların ve quercetin yüklenmiş eksozomların POY modelindeki iyileştirici etkileri değerlendirilmiştir. Histolojik analizlerimizde, EXO-QUE grubunda atretik folikül sayısının azaldığı, tersiyer folikül ve korpus luteum sayısının anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır. İmmünfloresan analizlerde, apoptoz belirteci Caspase-3 ekspresyonunun azaldığı, proliferasyon belirteci PcnA ekspresyonunun ise arttığı gözlenmiştir. Serum hormon analizlerinde, EXO-QUE grubunda FSH seviyesinde anlamlı azalma kaydedilmiş, AMH seviyesinde ise EXO grubunda anlamlı artış bulunmuştur. Bu bulgular, quercetin yüklü eksozomların folikülogenezi desteklediği, hücrel proliferasyonu artırdığı ve apoptozu baskıladığı yönündeki literatür verileri ile uyumludur.

Moleküler analizlerimiz, Fshr ve Amhr2 gen ekspresyonlarının EXO, QUE ve EXO-QUE gruplarında anlamlı şekilde arttığını ortaya koymuştur. Ayrıca, oosit gelişimi ile ilişkili büyüme faktörlerinden Gdf9 ve Bmp15 gen ekspresyonunun QUE ve EXO-QUE gruplarında anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bulgular, foliküler gelişim ve oosit

maturasyonu üzerindeki olumlu etkilerin bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Star gen ekspresyonunun tüm tedavi gruplarında anlamlı şekilde artış göstermesi, steroid hormon sentezinde kritik rol oynayan bu proteinin terapötik etkinliğini desteklemektedir.

Özellikle, ROS ile ilişkili Nrf2 ve Sod1 gen ekspresyonlarının yanı sıra proliferasyon belirteci Ki67 gen ekspresyonundaki en dikkat çekici artış EXO-QUE grubunda gözlenmiştir. Bu sonuçlar, EXO-QUE'nun oksidatif stresin baskılanması ve foliküler mikroçevrenin iyileştirilmesi üzerindeki etkisini vurgulamaktadır. Apoptoz ile ilişkili Caspase-3 gen ekspresyonundaki azalma ise EXO-QUE'nin hücre ölüm süreçlerini düzenleme yeteneğini göstermektedir. Literatürde ekstraselüler veziküllerin ovaryen hasarın iyileştirilmesindeki etkilerini değerlendiren çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte, doğrudan intraovaryen uygulama yapılan çalışmalar sınırlıdır. Bu yöntem teknik zorluklar içerse de, terapötik ajanların doğrudan hedef dokuya ulaştırılmasının sistemik uygulamalara göre daha fazla avantaj sağlayabileceği düşünülmektedir. Zhang ve arkadaşları, intraovaryen olarak uygulanan menstrual kan kaynaklı stromal hücrelerden türetilen eksozomların (MenSCs-Exos), folikül gelişimini desteklediğini, granüloza hücre proliferasyonunu artırdığını ve apoptoz oranlarını azalttığını göstermiştir. Histolojik analizlerde primordial, primer ve sekonder foliküllerde artış, atretik folikül oranlarında ise azalma rapor edilmiştir. Serum analizlerinde AMH ve E2 seviyelerinde artış, FSH seviyelerinde ise azalma tespit edilmiştir. Ayrıca, granüloza hücre proliferasyonu ile ilişkili Ki67'nin artışı ve apoptozla ilişkili genlerin (BAX ve CASP8) ekspresyonunda azalma gözlenmiştir (Zhang, Huang ve ark., 2021) .

Benzer şekilde, Sun ve arkadaşları, hUCMSC-EV'lerin granüloza hücrelerinde BCL2 ekspresyonunu artırırken BAX ve CASP3 ekspresyonunu azalttığını rapor etmiş ve bu bulgular apoptozun baskılandığını ve hücre proliferasyonunun desteklendiğini göstermektedir (Sun ve ark., 2017; Z. Wang ve ark., 2017). Ding ve arkadaşlarının çalışmasında ise hUMSC-Exos'un intraovaryen uygulama ile oksidatif stres düzenleyicisi SIRT7'yi baskıladığı, anti-apoptotik belirteçleri artırdığı ve apoptotik belirteçleri azalttığı belirtilmiştir (Ding ve ark., 2020). Xiao ve arkadaşları, amniyotik sıvı kaynaklı eksozomların miR-10a ve miR-146a taşıyarak apoptotik genlerin ekspresyonunu baskıladığını ve ROS birikimini azaltarak hücre hasarını hafiflettiğini göstermiştir (Xiao ve ark., 2014).

Huang ve arkadaşları (2018), insan yağ doku kaynaklı MKH eksozomlarının SMAD sinyal yolaklarını düzenleyerek folikülogenez ve over fonksiyonlarını desteklediğini

bildirmiştir. Bu çalışmada, primordial, primer, sekonder ve antral foliküllerin sayılarında artış, atretik foliküllerde ise azalma tespit edilmiştir. Serum analizlerinde AMH ve E2 seviyelerindeki artışın yanı sıra FSH seviyelerinde azalma gözlenmiştir (Huang ve ark., 2018). Ling ve arkadaşlarının çalışmasında da amnion kaynaklı MKH ve kondisyonlanmış besiyeri uygulamalarının, folikül gelişiminde ve hormon seviyelerinde iyileşmeler sağlarken, apoptotik proteinlerin baskılanmasını sağlamıştır (Ling ve ark., 2019). Bu çalışmalarda intraovaryen uygulama yönteminin etkinliği dikkat çekmiş ve bu yaklaşımın terapötik etkinliği artırdığı vurgulanmıştır.

Çalışmamız, EXO-QUE grubunun foliküler gelişimi destekleme, apoptozu azaltma ve proliferasyonu artırma açısından üstün olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin, EXO-QUE grubunda Casp3 ekspresyonunda azalma ve Ki67 ile PcnA ekspresyonlarında artış kaydedilmiştir. Ayrıca, Nrf2 ve Sod1 gibi oksidatif stres belirteçlerinin EXO-QUE grubunda anlamlı şekilde arttığı gösterilmiş olup, bu durum, ROS düzenlemesindeki potansiyel rolleri desteklemektedir. Star, Gdf9 ve Bmp15 gibi genlerin ekspresyonundaki artış, foliküler gelişim ve oosit maturasyonu üzerindeki olumlu etkileri pekiştirmektedir. Sanfins ve arkadaşlarının çalışması, GDF-9 ve BMP-15'in folikülogenezdeki kritik rollerini ortaya koyarken, bizim çalışmamızda bu büyüme faktörlerinin tedavi gruplarındaki farklı etkileri incelenmiştir (Sanfins, Rodrigues ve Albertini, 2018). Öte yandan, Hu ve Noda'nın çalışmaları oksidatif stres düzenleyicilerinin foliküler koruma ve iyileştirme üzerindeki rollerine odaklanmış ve bu bulgular, çalışmamızda gözlemlenen Nrf2 ve Sod1 artışlarıyla uyumluluk göstermiştir (Hu ve ark., 2006; Noda ve ark., 2012).

Sonuç olarak, çalışmamız, intraovaryen eksozom uygulamalarının POY tedavisinde umut vaat eden bir yaklaşım olduğunu göstermekte ve literatüre önemli bir katkı sağlamaktadır. Gelecekteki çalışmalar, bu terapötik yaklaşımların etkinliğini sistemik uygulamalarla karşılaştırarak, klinik uygulamalara yönelik daha fazla veri sağlayabilir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, çalışmamız, prematür ovaryen yetmezliğin tedavisinde eksozomların ve quercetin yüklü eksozomların terapötik etkilerini ortaya koymuş ve özellikle quercetin yüklü eksozomların foliküler gelişimi destekleme, apoptozu azaltma, proliferasyonu artırma ve

oksidatif stresin yönetimindeki üstünlüğünü vurgulamıştır. Histolojik, moleküler ve gen ekspresyon analizlerimiz, EXO-QUE grubunda foliküler mikroçevrenin iyileştiğini ve hücresel düzeyde olumlu değişikliklerin meydana geldiğini göstermektedir. Bu bulgular, EXO-QUE'nun, POY tedavisinde klasik hormon replasman tedavilerinin ötesinde bir etki gösterdiğini ve hücre bazlı olmayan terapiler için yeni bir yol açtığını ortaya koymaktadır.

Çalışmamız, literatürdeki mevcut araştırmalarla uyumlu olarak, intraovaryen uygulamanın, tedavi ajanlarının doğrudan hedef dokuya ulaşmasını sağlayarak terapötik etkinliği artırabileceğini göstermektedir. Bu yaklaşım, sistemik uygulamalara kıyasla daha az yan etki ve daha hızlı bir iyileşme potansiyeli sunmaktadır. Bununla birlikte, intraovaryen uygulamaların teknik zorlukları ve bu yöntemlerin geniş çapta klinik kullanım için optimize edilmesi gerektiği de göz önünde bulundurulmalıdır. EXO-QUE'nin ROS düzenlemesi üzerindeki etkilerini destekleyen Nrf2 ve Sod1 gen ekspresyonlarındaki artışlar, oksidatif stresin baskılanmasının foliküler mikroçevredeki iyileşmelerde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Bununla birlikte, ROS ile ilişkili belirteçlerin detaylı mekanizmalarının araştırılması, oksidatif stresin tedavi üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir. ROS'un foliküler sağlığı nasıl etkilediği ve bu süreçlerin EXO-QUE tarafından nasıl modüle edildiği konusunda daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bunun yanı sıra, tedavi uygulanan hayvanların çiftleşmeye bırakılması ve bu gruplardan elde edilen yavruların fertilité durumları, foliküler gelişimleri ve genetik profillerinin detaylı olarak incelenmesi, tedavinin uzun vadeli etkinliğini ve güvenilirliğini değerlendirmek için önemli bir adım olacaktır. Bu tür çalışmalar, sadece tedavi edilen bireylerin değil, sonraki nesiller üzerindeki potansiyel etkileri anlamak için de kritik önem taşımaktadır. Ek olarak, EXO-QUE'nun taşıdığı yüklerin (quercetin, mikroRNA'lar, proteinler) hücresel düzeyde nasıl etki ettiğini anlamak için ileri düzey proteomiks ve transkriptomik analizler yapılabilir.

Bu tür moleküler çalışmalar, EXO-QUE'nun terapötik etkilerinin mekanizmasını daha iyi anlamaya olanak sağlayacaktır.

Çalışmamız, EXO-QUE'nun POY tedavisinde umut vaat eden bir ajan olarak değerlendirilmesi gerektiğini ve bu yöntemin hasarlı dokular üzerinde doğrudan ve etkili bir iyileştirici yaklaşım sunabileceğini göstermektedir. Gelecekte, intraovaryen uygulamaların sistemik uygulamalarla karşılaştırıldığı klinik öncesi ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca, eksozomların hedefe yönelik dağıtım sistemleri olarak geliştirilmesi, tedavi etkinliğinin artırılmasına yönelik yenilikçi stratejilere olanak sağlayabilir. EXO-QUE'nin sunduğu bu güçlü potansiyel, POY tedavisi için hem güvenilir hem de etkili bir alternatif olarak yeni ufuklar açmaktadır. Bu çalışma, POY tedavisinde gelecekteki araştırmalara ışık tutacak değerli bir katkı sağlamaktadır.

7. KAYNAKLAR

- Bao, R., Xu, P., Wang, Y., Wang, J., Xiao, L., Li, G. ve Zhang, C. (2018). Bone marrow derived mesenchymal stem cells transplantation rescues premature ovarian insufficiency induced by chemotherapy. *Gynecological Endocrinology*, 34(4), 320-326. doi: 10.1080/09513590.2017.1393661
- Britannica, E. (1993). *Encyclopædia britannica*. Chicago: University of Chicago.
- Buschow, S. I., Nolte-‘t Hoen, E. N. M., Van Niel, G., Pols, M. S., Ten Broeke, T., Lauwen, M., ... Wubbolts, R. (2009). MHC II in dendritic cells is targeted to lysosomes or T cell-induced exosomes via distinct multivesicular body pathways. *Traffic*, 10(10), 1528-1542. doi: 10.1111/j.1600-0854.2009.00963.x. Epub 2009 Jul 14
- Chen, Z., Yuan, Q., Xu, G., Chen, H., Lei, H. ve Su, J. (2018). Effects of quercetin on proliferation and H₂O₂-induced apoptosis of intestinal porcine enterocyte cells. *Molecules*, 23(8), 2012. doi: [10.3390/molecules23082012](https://doi.org/10.3390/molecules23082012)
- Colombo, M., Raposo, G. ve Théry, C. (2014). Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annual review of cell and developmental biology*, 30(1), 255-289. doi: 10.1146/annurev-cellbio-101512-122326
- Ding, C., Zhu, L., Shen, H., Lu, J., Zou, Q., Huang, C., ... Huang, B. (2020). Exosomal miRNA-17-5p derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells improves ovarian function in premature ovarian insufficiency by regulating SIRT7. *Stem Cells*, 38(9), 1137-1148. doi: 10.1002/stem.3204. Epub 2020 May 29
- Dittmar, M. ve Kahaly, G. J. (2003). Polyglandular autoimmune syndromes: immunogenetics and long-term follow-up. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(7), 2983-2992. doi: 10.1210/jc.2002-021845.
- Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F. C., Krause, D. S., ... Horwitz, E. M. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4), 315-317. doi: 10.1080/14653240600855905.
- Elkady, M. A., Shalaby, S., Fathi, F. ve El-Mandouh, S. (2019). Effects of quercetin and rosuvastatin each alone or in combination on cyclophosphamide-induced premature ovarian failure in female albino mice. *Human & experimental toxicology*, 38(11), 1283-1295. doi: 10.1177/0960327119865588. Epub 2019 Aug 1
- Eren, C. Y., Gurer, H. G., Gursoy, O. O., Yilmaz, O., Tunc, E., Aypak, S. U. ve Asici, G. S. E. (2024). The Effect of Quercetin on Ovary Functions in Rats with Cyclophosphamide Induced Ovary Damage. *Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology*, 51(3), 67. doi: 10.31083/j.ceog5103067
- Eshre Guideline Group on POI, Webber, L., Davies, M., Anderson, R., Bartlett, J., Braat, D. ve Vermeulen, N. (2016). ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. *Human Reproduction*, 31(5), 926-937.
- Eşrefoğlu, M. (2021). Özel Histoloji Geliştirilmiş 3. Baskı.
- Fazeli, Z., Abedindo, A., Omrani, M. D. ve Ghaderian, S. M. H. (2018). Mesenchymal stem cells (MSCs) therapy for recovery of fertility: a systematic review. *Stem cell reviews and reports*, 14, 1-12. doi: 10.1007/s12015-017-9765-x
- Friedenstein, A. J., Chailakhyan, R. K., Latsinik, N. V., Panasyuk, A. F. ve Keiliss-Borok, I. V. (1974). Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues: cloning in vitro and retransplantation in vivo. *Transplantation*, 17(4), 331-340. doi: 10.1097/00007890-197404000-00001
- Geng, Z., Guo, H., Li, Y., Liu, Y. ve Zhao, Y. (2023). Stem cell-derived extracellular vesicles: A novel and potential remedy for primary ovarian insufficiency. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1090997. doi: doi.org/10.3389/fcell.2023.1090997

- Gracia, C. R., Sammel, M. D., Freeman, E., Prewitt, M., Carlson, C., Ray, A., ... Ginsberg, J. P. (2012). Impact of cancer therapies on ovarian reserve. *Fertility and sterility*, 97(1), 134-140. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.10.040
- Greening, D. W., Xu, R., Ji, H., Tauro, B. J. ve Simpson, R. J. (2015). A protocol for exosome isolation and characterization: evaluation of ultracentrifugation, density-gradient separation, and immunoaffinity capture methods. *Methods in molecular biology*, 1295, 179-209. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:25178617> adresinden erişildi. doi: 10.1007/978-1-4939-2550-6_15
- Hashemi, S. M. J., Enderami, S. E., Barzegar, A. ve Mansour, R. N. (2024). Differentiation of Wharton's Jelly-derived mesenchymal stem cells into insulin-producing beta cells with the enhanced functional level on electrospun PRP-PVP-PCL/PCL fiber scaffold. *Tissue and Cell*, 87, 102318. doi: 10.1016/j.tice.2024.102318. Epub 2024 Feb 8
- Hashemi, S., Mohammadi, A. A., Kabiri, H., Hashempoor, M. R., Mahmoodi, M., Amini, M. ve Mehrabani, D. (2019). The healing effect of Wharton's jelly stem cells seeded on biological scaffold in chronic skin ulcers: A randomized clinical trial. *Journal of cosmetic dermatology*, 18(6), 1961-1967. doi: 10.1111/jocd.12931. Epub 2019 May 24
- Hocking, A. M. ve Gibran, N. S. (2010). Mesenchymal stem cells: paracrine signaling and differentiation during cutaneous wound repair. *Experimental cell research*, 316(14), 2213-2219. doi: 10.1016/j.yexcr.2010.05.009
- Hoek, A., Schoemaker, J. ve Drexhage, H. A. (1997). Premature ovarian failure and ovarian autoimmunity. *Endocrine reviews*, 18(1), 107-134. doi: 10.1210/edrv.18.1.0291
- Hombach-Klonisch, S., Klonisch, T. ve Peeler, J. (2019). *Sobotta clinical atlas of human anatomy*. Elsevier.
- Horie, M., Choi, H., Lee, R. H., Reger, R. L., Ylostalo, J., Muneta, T., ... Prockop, D. J. (2012). Intra-articular injection of human mesenchymal stem cells (MSCs) promote rat meniscal regeneration by being activated to express Indian hedgehog that enhances expression of type II collagen. *Osteoarthritis and cartilage*, 20(10), 1197-1207. doi: 10.1016/j.joca.2012.06.002
- Hoshino, A., Costa-Silva, B., Shen, T.-L., Rodrigues, G., Hashimoto, A., Tesic Mark, M., ... Ceder, S. (2015). Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature*, 527(7578), 329-335. doi: 10.1038/nature15756
- Hu, X., Roberts, J. R., Apopa, P. L., Kan, Y. W. ve Ma, Q. (2006). Accelerated ovarian failure induced by 4-vinyl cyclohexene diepoxide in Nrf2 null mice. *Molecular and Cellular Biology*, 26(3), 940-954.
- Huang, B., Lu, J., Ding, C., Zou, Q., Wang, W. ve Li, H. (2018). Exosomes derived from human adipose mesenchymal stem cells improve ovary function of premature ovarian insufficiency by targeting SMAD. *Stem cell research & therapy*, 9, 1-12. doi: 10.1186/s13287-018-0953-7
- İrez, T., Şen Esmer, T., Özoğul, C., Cincik, M., Karakoç Sökmensüer, L., Avcı, B., ... Fındıklı, N. (2019). Üremeye Yardımcı Tekniklerde Laboratuvar: Teorik Konular ve Pratik Uygulamaları.
- Ishizuka, B., Matsui, D., Chenga, Z., Kimura, M., Namba, C. ve Furuya, M. (2019). Endocrine Syndrome 3rd edition (III). *Ryoikibetsu Shokogun Shirizu*, 3(742), 143-152.
- Ishizuka, Bunpei. (2021). Current understanding of the etiology, symptomatology, and treatment options in premature ovarian insufficiency (POI). *Frontiers in endocrinology*, 12, 626924. doi:10.3389/fendo.2021.626924
- Jia, Y., Lin, J., Mi, Y. ve Zhang, C. (2011). Quercetin attenuates cadmium-induced oxidative damage and apoptosis in granulosa cells from chicken ovarian follicles. *Reproductive Toxicology*, 31(4), 477-485. doi:<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2010.12.057> doi:<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2010.12.057>
- Kassem, M. (2004). Mesenchymal stem cells: biological characteristics and potential clinical applications. *Cloning and stem cells*, 6(4), 369-374. doi: 10.1089/clo.2004.6.369

- Kokcu, A. (2010). Premature ovarian failure from current perspective. *Gynecological Endocrinology*, 26(8), 555-562. doi: 10.3109/09513590.2010.488773
- Kuo, Y.-C., Chen, C.-L. ve Rajesh, R. (2019). Optimized liposomes with transactivator of transcription peptide and anti-apoptotic drugs to target hippocampal neurons and prevent tau-hyperphosphorylated neurodegeneration. *Acta biomaterialia*, 87, 207-222. doi: 10.1016/j.actbio.2019.01.065
- La Marca, A., Brozzetti, A., Sighinolfi, G., Marzotti, S., Volpe, A. ve Falorni, A. (2010). Primary ovarian insufficiency: autoimmune causes. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 22(4), 277-282. doi: 10.1097/GCO.0b013e32833b6c70
- Lennon, D. P., Schluchter, M. D. ve Caplan, A. I. (2012). The effect of extended first passage culture on the proliferation and differentiation of human marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem cells translational medicine*, 1(4), 279-288. doi: [10.5966/sctm.2011-0011](https://doi.org/10.5966/sctm.2011-0011)
- Li, Z., Zhang, M., Zheng, J., Tian, Y., Zhang, H., Tan, Y., ... Huang, X. (2021). Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Improve Ovarian Function and Proliferation of Premature Ovarian Insufficiency by Regulating the Hippo Signaling Pathway. *Frontiers in Endocrinology*, 12. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:236983588> adresinden erişildi. doi: 10.3389/fendo.2021.711902
- Lin, J., Li, J., Huang, B., Liu, J., Chen, X., Chen, X.-M., ... Wang, X.-Z. (2015). Exosomes: novel biomarkers for clinical diagnosis. *The scientific world journal*, 2015(1), 657086. doi: 10.1155/2015/657086
- Ling, L., Feng, X., Wei, T., Wang, Y., Wang, Y., Wang, Z., ... Xiong, Z. (2019). Human amnion-derived mesenchymal stem cell (hAD-MSC) transplantation improves ovarian function in rats with premature ovarian insufficiency (POI) at least partly through a paracrine mechanism. *Stem Cell Research & Therapy*, 10(1), 46. doi:10.1186/s13287-019-1136-x doi: 10.1186/s13287-019-1136-x
- Magraith, K., Fernando, W. D. ve Vincent, A. J. (2023). Premature ovarian insufficiency and infertility. *Australian journal of general practice*, 52 1-2, 32-38. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:256939769> adresinden erişildi. doi: 10.31128/AJGP-08-22-6531
- Mazini, L., Rochette, L., Amine, M. ve Malka, G. (2019). Regenerative capacity of adipose derived stem cells (ADSCs), comparison with mesenchymal stem cells (MSCs). *International journal of molecular sciences*, 20(10), 2523. doi: 10.3390/ijms20102523
- McElreavey, K. D., Irvine, A. I., Ennis, K. T. ve McLean, W. H. I. (1991). Isolation, culture and characterisation of fibroblast-like cells derived from the Wharton's jelly portion of human umbilical cord. *Biochemical Society Transactions* 19(1):29S. doi: 10.1042/bst019029s.
- Merchant-Larios, H. (1981). Morphogenesis of the ovary from the sterile w/w mouse. *Progress Clinical Biological Research*, 59B:383-392.
- Moore, K. L. ve Dalley, A. F. (2018). *Clinically oriented anatomy*. Wolters kluwer india Pvt Ltd.
- Noda, Y., Ota, K., Shirasawa, T. ve Shimizu, T. (2012). Copper/zinc superoxide dismutase insufficiency impairs progesterone secretion and fertility in female mice. *Biology of Reproduction*, 86(1), 16-1.
- Nolte-'t Hoen, E. N. M., Buermans, H. P. J., Waasdorp, M., Stoorvogel, W., Wauben, M. H. M. ve 't Hoen, P. A. C. (2012). Deep sequencing of RNA from immune cell-derived vesicles uncovers the selective incorporation of small non-coding RNA biotypes with potential regulatory functions. *Nucleic acids research*, 40(18), 9272-9285. doi: [10.1093/nar/gks658](https://doi.org/10.1093/nar/gks658)
- Oktem, O. ve Oktay, K. (2008). The ovary: anatomy and function throughout human life. *Annals of the New York academy of sciences*, 1127(1), 1-9. doi: 10.1196/annals.1434.009
- Öztürk, C. ve Halbutoğullari, Z. S. (2024). Immune regulation is more effective in the U937 inflammation model with mesenchymal stem cell extracellular vesicles stimulated by pro-inflammatory cytokines. *Central European Journal of Immunology*, 49(1), 282-299. doi: [10.5114/ceji.2024.143726](https://doi.org/10.5114/ceji.2024.143726)
- Patel, A. A., Asma'a, H. M., Rizaev, J., Mallick, A. K., Qasim, M. T., Al Abdulmonem, W., ... Ahmad, F. (2024). Application of mesenchymal stem cells derived from the umbilical cord or Wharton's jelly and their

- extracellular vesicles in the treatment of various diseases. *Tissue and Cell*, 102415. doi: 10.1016/j.tice.2024.102415
- Pawlina, W. ve Ross, M. H. (2018). *Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology*. Lippincott Williams & Wilkins. 6. Baskı
- Pedersen, T. ve Peters, H. (1968). Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. *Reproduction*, 17(3), 555-557. doi:10.1530/jrf.0.0170555
- Phinney, D. G. ve Pittenger, M. F. (2017). Concise review: MSC-derived exosomes for cell-free therapy. *Stem cells*, 35(4), 851-858. doi:10.1002/stem.2575
- Pinto, D. S., Ahsan, T., Serra, J., Fernandes-Platzgummer, A., Cabral, J. M. S. ve da Silva, C. L. (2020). Modulation of the in vitro angiogenic potential of human mesenchymal stromal cells from different tissue sources. *Journal of Cellular Physiology*, 235(10), 7224-7238. doi: 10.1002/jcp.29622
- Purushothaman, A. (2019). Exosomes from Cell Culture-Conditioned Medium: Isolation by Ultracentrifugation and Characterization. *Methods in molecular biology*, 1952, 233-244. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:73482712> adresinden erişildi. doi: 10.1007/978-1-4939-9133-4_19
- Qi, Y., Guo, L., Jiang, Y., Shi, Y., Sui, H. ve Zhao, L. (2020). Brain delivery of quercetin-loaded exosomes improved cognitive function in AD mice by inhibiting phosphorylated tau-mediated neurofibrillary tangles. *Drug Delivery*, 27(1), 745-755. doi: 10.1080/10717544.2020.1762262
- Qin, Y., Jiao, X., Simpson, J. L. ve Chen, Z.-J. (2015). Genetics of primary ovarian insufficiency: new developments and opportunities. *Human reproduction update*, 21(6), 787-808. doi: 10.1093/humupd/dmv036
- Qiu, G., Zheng, G., Ge, M., Wang, J., Huang, R., Shu, Q. ve Xu, J. (2018). Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles affect disease outcomes via transfer of microRNAs. *Stem Cell Research & Therapy*, 9, 1-9. doi:10.1186/s13287-018-1069-9
- Rosario, R. ve Anderson, R. A. (2021). Novel approaches to fertility restoration in women with premature ovarian insufficiency. *Climacteric*, 24, 491-497. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:231577593> adresinden erişildi. doi: 10.1080/13697137.2020.1856806
- Sadeghi, S., Mosaffa, N., Huang, B. ve Tehrani, F. R. (2024). Protective role of stem cells in POI: Current status and mechanism of action, a review article. *Heliyon*. 10(1) E23271. doi:10.1016/j.heliyon.2023.e23271
- Sadler, T. W. (2018). *Langman's medical embryology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Sajeesh, S., Broekelman, T., Mecham, R. P. ve Ramamurthi, A. (2020). Stem cell derived extracellular vesicles for vascular elastic matrix regenerative repair. *Acta Biomaterialia*, 113, 267-278. doi: 10.1016/j.actbio.2020.07.002
- Sanfins, A., Rodrigues, P. ve Albertini, D. F. (2018). GDF-9 and BMP-15 direct the follicle symphony. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 35(10), 1741-1750. doi: [10.1007/s10815-018-1268-4](https://doi.org/10.1007/s10815-018-1268-4)
- Schoenwolf, G. C., Bleyl, S. B., Brauer, P. R. ve Francis-West, P. H. (2014). *Larsen's human embryology*. Elsevier Health Sciences.
- Sheikhansari, G., Aghebati-Maleki, L., Nouri, M., Jadidi-Niaragh, F. ve Yousefi, M. (2018). Current approaches for the treatment of premature ovarian failure with stem cell therapy. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 102, 254-262. doi: 10.1016/j.biopha.2018.03.056
- Shelling, A. N. (2010). Premature ovarian failure. *Reproduction*, 140(5), 633. doi: [10.1530/REP-09-0567](https://doi.org/10.1530/REP-09-0567)
- Shi, Y.-Q., Zhu, X.-T., Zhang, S.-N., Ma, Y.-F., Han, Y.-H., Jiang, Y. ve Zhang, Y.-H. (2023). Premature ovarian insufficiency: a review on the role of oxidative stress and the application of antioxidants. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1172481. doi: [10.3389/fendo.2023.1172481](https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1172481)

- Stenderup, K., Justesen, J., Clausen, C. ve Kassem, M. (2003). Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone*, 33(6), 919-926. doi: 10.1016/j.bone.2003.07.005
- Su, C., Li, H., Shi, Y., Wang, G., Liu, L., Zhao, L. ve Su, R. (2014). Carboxymethyl- β -cyclodextrin conjugated nanoparticles facilitate therapy for folate receptor-positive tumor with the mediation of folic acid. *International journal of pharmaceuticals*, 474(1-2), 202-211. doi: 10.1016/j.ijpharm.2014.08.026
- Sun, L., Li, D., Song, K., Wei, J., Yao, S., Li, Z., ... Deng, X. (2017). Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells protect against cisplatin-induced ovarian granulosa cell stress and apoptosis in vitro. *Scientific reports*, 7(1), 2552. doi: 10.1038/s41598-017-02786-x
- Thakur, B. K., Zhang, H., Becker, A., Matei, I., Huang, Y., Costa-Silva, B., ... Xiang, J. (2014). Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection. *Cell research*, 24(6), 766-769. doi: 10.1038/cr.2014.44
- Troyer, D. L. ve Weiss, M. L. (2008). Concise Review: Wharton's Jelly-Derived Cells Are a Primitive Stromal Cell Population. *Stem Cells*, 26(3), 591-599. doi:10.1634/stemcells.2007-0439
doi:10.1634/stemcells.2007-0439
- Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J. J. ve Lötval, J. O. (2007). Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nature cell biology*, 9(6), 654-659. doi: 10.1038/ncb1596
- Van Meeuwen, J. A., Van den Berg, M., Sanderson, J. T., Verhoef, A. ve Piersma, A. H. (2007). Estrogenic effects of mixtures of phyto-and synthetic chemicals on uterine growth of prepubertal rats. *Toxicology Letters*, 170(2), 165-176.
- Van Niel, G., d'Angelo, G. ve Raposo, G. (2018). Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nature reviews Molecular cell biology*, 19(4), 213-228. doi: 10.1016/j.toxlet.2007.03.003
- Wang, X., Li, T., Bai, X., Zhu, Y., Zhang, M. ve Wang, L. (2023). Therapeutic prospect on umbilical cord mesenchymal stem cells in animal model with primary ovarian insufficiency: a meta-analysis. *Frontiers in Medicine*, 10, 1211070. doi: 10.3389/fmed.2023.1211070
- Wang, Z., Wang, Y., Yang, T., Li, J. ve Yang, X. (2017). Study of the reparative effects of menstrual-derived stem cells on premature ovarian failure in mice. *Stem cell research & therapy*, 8, 1-14. doi: [10.1186/s13287-016-0458-1](https://doi.org/10.1186/s13287-016-0458-1)
- Williams, P. L., Bannister, L. H., Berry, M. M., Collins, P., Dyson, M., Dussek, J. E. ve Ferguson, M. W. J. (1995). Gray's Anatomy. Alimentary system. *Bannister, LH Edr. 39th Edn. Churchill Livingstone, London: pp-1778-85.*
- Xiao, G.-Y., Liu, I.-H., Cheng, C.-C., Chang, C.-C., Lee, Y.-H., Cheng, W. T.-K. ve Wu, S.-C. (2014). Amniotic fluid stem cells prevent follicle atresia and rescue fertility of mice with premature ovarian failure induced by chemotherapy. *PLoS One*, 9(9), e106538. doi: 10.1371/journal.pone.0106538
- Xu, R., Rai, A., Chen, M., Suwakulsiri, W., Greening, D. W. ve Simpson, R. J. (2018). Extracellular vesicles in cancer—implications for future improvements in cancer care. *Nature reviews Clinical oncology*, 15(10), 617-638. doi: 10.1038/s41571-018-0036-9
- Yang, Z., Du, X., Wang, C., Zhang, J., Liu, C., Li, Y. ve Jiang, H. (2019). Therapeutic effects of human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived microvesicles on premature ovarian insufficiency in mice. *Stem cell research & therapy*, 10, 1-12. doi: 10.1186/s13287-019-1327-5
- Zhang, T., Yan, D. W., Yang, Y., Ma, A., Li, L., Wang, Z., ... Sun, Z. (2016). The comparison of animal models for premature ovarian failure established by several different source of inducers. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, 81, 223-232. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:40744612>
adresinden erişildi. doi: 10.1016/j.yrtph.2016.09.002

Zhang, S., Huang, B., Su, P., Chang Q., Li, P., Song, A.,... Tan, J. (2021). Concentrated exosomes from menstrual blood-derived stromal cells improves ovarian activity in a rat model of premature ovarian insufficiency. *Stem Cell Res Ther* 12, 178. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02255-3>

Zhang, X., Zhang, L., Li, Y., Yin, Z., Feng, Y. ve Ji, Y. (2021). Human umbilical cord mesenchymal stem cells (hUCMSCs) promotes the recovery of ovarian function in a rat model of premature ovarian failure (POF). *Gynecological Endocrinology*, 37(4), 353-357. doi: 10.1080/09513590.2021.1878133

Zhang, Y., Zhao, J., Han, L., Zhang, Z., Wang, C., Long, W., ... Wang, X. (2023). Research progress of extracellular vesicles in the treatment of ovarian diseases. *Experimental and therapeutic medicine*, 27(1), 15. doi: [10.3892/etm.2023.12303](https://doi.org/10.3892/etm.2023.12303)

Zheng, S., Ma, M., Chen, Y. ve Li, M. (2022). Effects of quercetin on ovarian function and regulation of the ovarian PI3K/Akt/FoxO3a signalling pathway and oxidative stress in a rat model of cyclophosphamide-induced premature ovarian failure. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 130(2), 240-253. doi: 10.1111/bcpt.13696

Zhou, M., Weber, S. R., Zhao, Y., Chen, H. ve Sundstrom, J. M. (2020). Methods for exosome isolation and characterization. *Exosomes: A clinical Compendium* . Elsevier, pp 23-28, ISBN 9780128160541

Zhou, Y., Huang, J., Zeng, L., Yang, Q., Bai, F., Mai, Q. ve Deng, K. (2024). Human mesenchymal stem cells derived exosomes improve ovarian function in chemotherapy-induced premature ovarian insufficiency mice by inhibiting ferroptosis through Nrf2/GPX4 pathway. *Journal of Ovarian Research*, 17. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:269153647> adresinden erişildi. doi: 10.1186/s13048-024-01403-6

8. ÖZGEÇMİŞ

Yabancı Dil Bilgileri	İngilizce / YÖKDİL: 88.5
Üye Olduğu Mesleki / Sosyal Kuruluşlar	1. Türk Jinekoloji ve Obstetri Derneği 2. Tüp Bebek ve İnfertilite Derneği 3. Üreme Tıbbı Derneği
<u>Bilimsel Etkinlikler</u>	
Makaleler*	<p>1. FURAT RENÇBER SELENAY HÜMEYRA, YAZIR YUSUFHAN, SARIHAN MEHMET, SEZER ZEHRA, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, ÖZTÜRK AHMET, DURUKSU GÖKHAN, Güzel Elif, AKPINAR GÜRLER, ÇORAKÇI AYDIN (2024). Endoplasmic reticulum stress of endometrial mesenchymal stem cells in endometriosis.. Tissue & cell, 91, 102544, Doi: 10.1016/j.tice.2024.102544 (Yayın No: 9265179) (SCI-Exp., Q1)</p> <p>2. UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, GÖÇMEZ SEMİL SELCEN, FURAT RENÇBER SELENAY, KAVRAM SARIHAN KÜBRA, ERALDEMİR FATMA CEYLA, ŞAHİN DENİZ (2023). Etanercept Ameliorates Vascular, Endocrine, and Ovarian Changes in a Rat Model of DHEA-Induced Polycystic Ovary Syndrome. Reproductive Sciences, Doi: 10.1007/s43032-023-01392-9 (Yayın No: 8916511) (SCI-Exp., Q2)</p> <p>3. UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, ERDEM MEHMET, ERDEM AHMET, ONAN MEHMET ANIL, BOZKURT NURAY, ÖKTEM MESUT, BİBEROĞLU ÖMER KUTAY (2023). Use of serum copper and zinc levels in the diagnostic evaluation of endometrioma and epithelial ovarian carcinoma. Česká gynecologie, 88, Doi: 10.48095/cccg2023279 (Yayın No: 8916474) (ESCI)</p> <p>4. TUNÇCAN EMRE, MOHRİ PARSA, DİKEÇ MİRKAN, KARAAWİ FATİMAH, KAZAZ ELİF, KOCATEPE CAVİT, DOKUZLU GİZEM, TIRAŞ M. BÜLENT, ÇAKIROĞLU AHMET YİĞİT, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE (2024). Effects of preconceptional vitamin D levels on in vitro fertilization outcomes in infertile patients with polycystic ovary syndrome: A retrospective cohort study. The journal of obstetrics and gynaecology research, 50(11), 2121, Doi: 10.1111/jog.16092 (Yayın No: 9265016) (SCI-Exp., Q3)</p>

5. GÜDELCİ TANSU, YAZICIOĞLU ÇAĞLAR, YÜCETÜRK AYŞEN, BATIR SEVİL, KARAOSMANOĞLU ÖZGE, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, TÜFEK İLTER, KURAL ALİ RIZA, TIRAŞ M. BÜLENT (2024). The effect of intratesticular autologous platelet-rich plasma injection on sperm retrieval rates and in vitro fertilization outcomes in couples with non-obstructive azoospermia.. The journal of obstetrics and gynaecology research, 50(10), 1977, Doi: 10.1111/jog.16093 (Yayın No: 9265088) (SCI-Exp., Q3)

6. OKAY GÜLİN, KIRICI PINAR, MAVRAL NİHAL, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, ANNAÇ EBRU, KAPLAN SELÇUK (2024). Ganoderma lucidum and Hypericum perforatum Exhibit Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Anti-Androgen Effect in Rat Model of Experimental Polycystic Ovarian Syndrome.. Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre, 33(4), 1, Doi: 10.1159/000538595 (Yayın No: 9265202) (SCI-Exp., Q1)

7. YILDIRIM KÖPÜK ŞULE, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, YÜCETÜRK AYŞEN, KARAOSMANOĞLU ÖZGE, YAZICIOĞLU ÇAĞLAR, TIRAŞ M. BÜLENT, ÇAKIROĞLU AHMET YİĞİT (2023). Does dual trigger improve euploidy rate in normoresponder? A cross-sectional study. International Journal of Reproductive BioMedicine (IJRM), Doi: 10.18502/ijrm.v21i5.13473 (Yayın No: 8916491) (ESCI)

8. YILDIRIM KÖPÜK ŞULE, YÜCETÜRK AYŞEN, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, KARAOSMANOĞLU ÖZGE, ÇAKIROĞLU AHMET YİĞİT, TIRAŞ M. BÜLENT (2022). What should be the strategy in case of a big follicle at the start of the cycle? Shall we start the stimulation or postpone it to the next cycle?. Journal of Turkish Society of Obstetric and Gynecology, 19, Doi: 10.4274/tjod.galenos.2022.15943 (Yayın No: 8916498) (ESCI)

9. ÇAKIROĞLU AHMET YİĞİT, YÜCETÜRK AYŞEN, KARAOSMANOĞLU ÖZGE, YILDIRIM KÖPÜK ŞULE, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, HERLIHY NOLA, SCOTT RICHARD, TIRAŞ M. BÜLENT, SELİ EMRE (2022). Ovarian reserve parameters and IVF outcomes in 510 women with poor ovarian response (POR) treated with intraovarian injection of autologous platelet rich plasma (PRP). Aging, 14, Doi: 10.18632/aging.203972 (Yayın No: 8916489) (SCI-Exp., Q2)

10. BOZKURT NURAY, GÜLER İSMAİL, ÖZTÜRK MERVE, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, YALÇIN MEHMET MUHİTTİN, KARAKAYA CENGİZ (2015). Live birth following an intracytoplasmic sperm injection in a patient with Glanzmann thrombasthenia. Journal of Obstetrics and

Gynaecology, 36, Doi: 10.3109/01443615.2015.1060198 (Yayın No: 8916550) (SCI-Exp., Q4)

11.UTKAN KORUN ZEYNEP ECE,YÜCETÜRK AYŞEN,KARAOŞMANOĞLU ÖZGE,YILDIRIM KÖPÜK ŞULE,YAZICIOĞLU ÇAĞLAR,ÇAKIROĞLU AHMET YİĞİT,TIRAŞ M. BÜLENT (2024). The effect of gonadotropin gap for non-growing follicles in poor ovarian response: Might this be a new strategy?. Journal of Turkish Society of Obstetric and Gynecology, 21, Doi: 10.4274/tjod.galenos.2024.71091 (Kontrol No: 9264234) (ESCI)

12. UTKAN KORUN ZEYNEP ECE,YÜCETÜRK AYŞEN,KARAOŞMANOĞLU ÖZGE,ÇAKIROĞLU AHMET YİĞİT,TIRAŞ M. BÜLENT (2024). Might retrigger with human chorionic gonadotropin be a solution for empty follicle syndrome after gonadotropin releasing hormone agonist trigger?. Turkish journal of obstetrics and gynecology, 21(3), 135, Doi: 10.4274/tjod.galenos.2024.80439 (Kontrol No: 9265108) (ESCI)

13. HALBUTOĞULLARI ZEHRA SEDA, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, SUBAŞI DEMİR CANSU, KILIÇ KAMİL CAN, ALPER BÜŞRA, YAZIR YUSUFHAN (2023). Optimization of Protein Quantification in Wharton Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cell Exosomes. Acta Medica Nicomedia, 6(3), 452-458., Doi: 10.53446/actamednicomedia.1364018 (Kontrol No: 8916546) (TR Dizin)

14. KAVAK YILDIRIM HACER, BOZDAĞ HALENUR, ERTÜRK COŞKUN AYŞE DENİZ, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, GÖÇMEN AHMET (2022). Geçirilmiş sezaryen öyküsü olan hastalarda ikinci trimester tarama testi biyokimyasal belirteçlerinin kötü gebelik sonuçlarıyla ilişkisi. Maltepe Tıp Dergisi, Doi: 10.35514/mtd.2022.61 (Kontrol No: 8916524) (TR Dizin)

15. GÖÇMEZ SEMİL SELCEN, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, DEMİRTAŞ ŞAHİN TUĞÇE, UTKAN TİJEN (2021). Kronik Sigara ve Alkol Maruziyetinin Gebe Rat Miyometriyum Oksitosin- ve Diltiazem- Aracılı Fonksiyonel Yanıtları Üzerine Etkileri. Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 7, Doi: 10.30934/kusbed.882726 (Kontrol No: 8916539) (TR Dizin)

16. TAŞ MUSTAFA, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, KOÇAK ALPER, YAVUZ ADEM, ÖZÇELİK BÜLENT, GÜNGÖR METE, ÖNER GÖKALP, ÖNER GÖKALP (2018). Adenosine deaminase (ADA) and cancer antigen 125 (CA 125) levels in patients with epithelial ovarian neoplasm. Haydarpaşa

	<p>Numune Training and Research Hospital Medical Journal, Doi: 10.14744/hnhj.2018.60362 (Kontrol No: 8916534) (TR Dizin)</p> <p>17. BARİS OZGUR, GACAR GULCIN, HALBUTOĞULLARI ZEHRA SEDA, FİNDİK ORHAN, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, YAZİR YUSUFHAN, UTKAN TİJEN, KOMSUOĞLU CELİK YURT FERİDE İPEK, BENLİ EMRE DEMİR (2022). The Role of Fetuin-A in Vascular Ageing in a Rat Model. EJVES Vascular Forum, Doi: 10.1016/j.ejvsvf.2021.12.081 (ESCI)</p>
Projeler	<ol style="list-style-type: none"> 1. Endometriyoziste, Endometriyal Kök Hücrelerin Endoplazmik Retikulum (ER) Stresinin Araştırılması (TÜBİTAK, 321S003) 2. Genetik Absans Epileptik Dişi WAG/Rij Sıçanlarda Reprodüktif, Metabolik ve Endokrin Fonksiyonlardaki Değişikliklerin Araştırılması (TÜBİTAK, 324S189)
Bildiriler	<ol style="list-style-type: none"> 1. S. FURAT RENÇBER, Z.E. UTKAN KORUN, A. OZTURK, Z. SEZER, M. SARIHAN, G. DURUKSU, G. AKPINAR, M. KASAP, A. CORAKCI, E. GUZEL MEYDANLI, Y. YAZIR. Endoplasmic Reticulum (ER) Stress of Endometrial Stem Cells in Endometriosis. Oral presentation. 16th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, 28-31 August 2022, Prague, Czech Republic 2. UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, HALBUTOĞULLARI ZEHRA SEDA, FURAT RENÇBER SELENAY, ALTUNTAŞ CANDAN, KOLDANKAY TUĞBA (2023). Quercetin Yüklü Wharton Jeli Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre Eksozomlarının Prematür Ovaryen Yetmezlik Modelinde Over Fonksiyonlarına Etkisinin İncelenmesi. 2. Tüp Bebek ve İnfertilite Derneği Kongresi (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 8916585) 3. UTKAN KORUN ZEYNEP ECE (2023). Dondurulmuş Embriyo Transfer Hazırlığında Endometriumda Tespit Edilen Hipoekoik Alanların Prognoza Etkisi. 2. Tüp Bebek ve İnfertilite Derneği Kongresi (Özet Bildiri/Davetli Konuşmacı) (Yayın No: 8916595) 4. UTKAN KORUN ZEYNEP ECE (2022). Prematür Ovaryen Yetmezlik Modelinde Kök Hücre Temelli Tedaviler. 19. Ulusal Jinekoloji ve Obstetrik Kongresi (Özet Bildiri/Davetli Konuşmacı) (Yayın No: 8916598) 5. UTKAN KORUN ZEYNEP ECE (2022). Over Yetmezliği oluşturulmuş Hayvan Modellerinde Kök Hücre Tedavilerinin

	<p>Etkisi . 9. Acıbadem Kadın Doğum Günleri (Özet Bildiri/Davetli Konuşmacı) (Yayın No: 8916603)</p> <p>6. UTKAN KORUN ZEYNEP ECE (2019). Hysteroscopic Isthmocele Repair. 6th Annual Congress of MIDDLE EAST Society for Gynecological Endoscopy (MESGE) 8th Annual Congress of TURKISH Society of Gynecological Endoscopy (TSGE) (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 8916620)</p> <p>7. UTKAN KORUN ZEYNEP ECE (2019). Complications may deliver new complications: uterine perforation and bladder injury during hysteroscopic isthmocele repair. 6th Annual Congress of MIDDLE EAST Society for Gynecological Endoscopy (MESGE) 8th Annual Congress of TURKISH Society of Gynecological Endoscopy (TSGE) (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 8916622)</p> <p>8. UTKAN KORUN ZEYNEP ECE (2017). Servikal Polipte Saptanan Berrak Hücreli Karsinom Olgu Sunumu. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kadın Doğum Günleri (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No: 8916672)</p> <p>9. HALBUTOĞULLARI ZEHRA, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, ÇELEBİ GÜLŞEN, FURAT RENÇBER SELENAY, UTKAN TİJEN, DURUKSU GÖKHAN, YAZIR YUSUFHAN (2023) Effects of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Derived Mitochondria (BM-MSC-Mit) Treatment on Ovarian Physiological Aging (OPA) Model. Oral Presentation. 8th International Congress on Applied Biological Sciences. 13-16 September 2023, Pristina, Kosova</p>
<p>Ödüller</p>	<p>-</p>
<p>Atıf Sayısı</p>	<p>47</p>
<p>Kitap Bölümü</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kadın Hastalıkları ve Doğum Ders Kitabı, Bölüm adı:(Genetik Bozukluklar ve Cinsiyet Kromozomu Anomalileri) (2024)., ALAGÖZ OYA, UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, Platon Plus Yayıncılık, Platon Tıp Dizisi, Editör:ATTAR NECİP ERKUT, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 37, ISBN:978-625-6338-52-4, Türkçe(Ders Kitabı) (Yayın No: 9265280) 2. Kadın Hastalıkları ve Doğum Ders Kitabı, Bölüm adı:(Pediatrik Jinekoloji ve Adölesanlarda Jinekolojik Bozukluklar) (2024)., UTKAN KORUN ZEYNEP ECE,ATTAR RUKSET, Platon Plus Yayıncılık, Platon Tıp Dizisi, Editör:ATTAR NECİP ERKUT, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 215, ISBN:978-625-6338-52-4, Türkçe(Ders Kitabı) (Yayın No: 9265303)

	<ol style="list-style-type: none">3. Kadın Hastalıkları ve Doğum Ders Kitabı, Bölüm adı:(Postpartum Kanamalar) (2024)., ATTAR RUKSET,UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, Platon Plus Yayıncılık, Platon Tıp Dizisi, Editör:ATTAR NECİP ERKUT, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 209, ISBN:978-625-6338-52-4, Türkçe(Ders Kitabı) (Yayın No: 9265300)4. Kadın Hastalıkları ve Doğum Ders Kitabı, Bölüm adı:(Genital Sistemin Embriyolojik Gelişimi) (2024)., ALAGÖZ OYA,UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, Platon Plus Yayıncılık, Platon Tıp Dizisi, Editör:ATTAR NECİP ERKUT, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 31, ISBN:978-625-6338-52-4, Türkçe(Ders Kitabı) (Yayın No: 9265266)5. Kadın Hastalıkları ve Doğum Ders Kitabı, Bölüm adı:(Operatif Vajinal Doğum) (2024)., ATTAR RUKSET,UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, Platon Plus Yayıncılık, Platon Tıp Dizisi, Editör:ATTAR NECİP ERKUT, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 201, ISBN:978-625-6338-52-4, Türkçe(Ders Kitabı) (Yayın No: 9265295)6. Kadın Hastalıkları ve Doğum Ders Kitabı, Bölüm adı:(Erken Gebelik Komplikasyonları) (2024)., UTKAN KORUN ZEYNEP ECE,ATTAR RUKSET, Platon Plus Yayıncılık, Platon Tıp Dizisi, Editör:ATTAR NECİP ERKUT, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 112, ISBN:978-625-6338-52-4, Türkçe(Ders Kitabı) (Yayın No: 9265286)7. COVID-19: Molecular and Clinical Approach, Bölüm adı:(Women's Health and Covid-19) (2020)., UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, ATTAR NECİP ERKUT, Istanbul University Press, Editör:Bedia Çakmaköglu, Sema Sırma Ekmekçi, Umut Can Küçüksezer, Vuslat Yılmaz, Günnur Deniz, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 284, ISBN:978-605-07-0760-1, İngilizce(Bilimsel Kitap) (Yayın No: 8916554)8. Üreme Endokrinolojisi, İnfertilite ve Yardımcı Üreme Teknikleri, Bölüm adı:(İntrauterin İnseminasyon Hasta Seçimi, Prognostik Faktörler ve Klinik Uygulanması) (2019)., UTKAN KORUN ZEYNEP ECE, ÖKTEN SABRİ BERKEM, FIÇICIOĞLU NEŞET CEM, Nobel Tıp Kitabevi, Editör:Cem Fiçicioğlu, Basım sayısı:3, Sayfa Sayısı 368, ISBN:978-605-335-468-0, Türkçe(Bilimsel Kitap) (Yayın No: 8916558)
Burslar	-

Sertifikalar Kurslar	ve	<ol style="list-style-type: none">1. Hands-on Workshop on Ovarian Tissue Cryopreservation and Transplantation, Over dokusu dondurma ve transplantasyonu, Université Catholique de Louvain, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Brussels, Belgium, Kurs, 27.01.2023 -28.01.2023 (Uluslararası)2. Üreme Tıbbı ve Cerrahisi Derneği Jinekolojik Mikrocerrahi Kursu, Jinekolojik Mikrocerrahi Kursu, Yeditepe Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Kurs, 07.04.2019 - 08.04.2019 (Ulusal)3. Üremeye Yardımcı Tedavi Klinik Uygulamalar Eğitim Sertifikası, Üremeye Yardımcı Tedavi Klinik Uygulamalar Eğitim Sertifikası, Yeditepe Üniversitesi Hastanesi ÜYTE Eğitim Merkezi, Sertifika, 05.08.2019 - 05.02.2020 (Ulusal)
---------------------------------	-----------	---

*:Makalenin yayınlandığı derginin hangi indekste yer aldığı ve derginin Q sınıflamasına göre hangi dilimde yer aldığı (Q1, Q2 veya Q3) detaylı belirtilerek ve öğrenci adı yazar adları arasında “kalın” yazılarak)

EKLER

Ek 1. Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onay Belgesi

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

EUA
European University Association
BIOBANK
BIOBANK

PROJE NO: 2020/15	ARAŞTIRMANIN ADI	Quercetin Yüklenmiş Wharton Jeli Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücre Eksozomlarının Prematür Ovaryen Yetmezlik Modelinde Over Fonksiyonlarına Etkisinin İncelenmesi	
BAŞVURU BİLGİLERİ	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI KURUMU	Dr. Öğr. Üyesi Zehra Seda HALBUTOĞULLARI /KOU Tıp Fak.Kök Hücre Anabilim Dalı	
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Uzm. Dr. Zeynep Ece UTKAN KORUN	
DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	X	
KARAR BİLGİLERİ	Yukarıda başvuru bilgileri bulunan araştırma projesi Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine dayanarak gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemler açısından incelenmiş olup, araştırmanın yürütülmesinin etik açıdan uygun olduğu kararla verilmiştir. KARAR NO: KOU HADYEK 7/3-2020 KARAR TARİHİ: 27.10.2020		
ETİK KURUL ÜYELERİ			
UNVANI/ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Prof. Dr. Hüsnü EFENDİ Başkan	Kocaeli Üniversitesi (KOU) Tıp Fakültesi Nöroloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Mine ŞEHİRALTI Başkan Vekili	KOU Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Uzm. Vet. Hekim Cüneyt ÖZER Raportör	KOU Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Tijen UTKAN Üye	KOU Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Dr.Öğr. Üyesi Ayshe KOÇAK BÜYÜKDERE Üye	KOU Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Dr.Öğr. Üyesi Fevzi UÇKAN Üye	KOU Fen-Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Zafer CANTÜRK Üye	KOU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ Üye	KOU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Canan BAYDEMİR Üye	KOU Tıp Fakültesi Biyostatistik ve Tıbbi Bilişim AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç Dr. Gürler AKPINAR Üye	KOU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Av. Hakkı Çağdaş ERTURAN Üye	Kocaeli Barosu (STK) Üyesi	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Asiye ASLAN Üye	Emekli Öğretmen	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	

Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Sekreterliği, Umuttepe Yerleşkesi, Eski İstanbul Yolu 10 km, 41380 Umuttepe / İZMİT
Tel: 0 262 303 70 14 - Faks: 0 262 303 70 03