

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KÖK HÜCRE ANABİLİM DALI**

**TİMOKİNONUN İNSAN ADİPOZ DOKU KAYNAKLI
MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Ahsen ERGİNSOY**

**Danışman
Doç. Dr. Tuba Dilay KÖKENEK ÜNAL**

Yüksek Lisans Tezi

**Aralık 2020
KAYSERİ**

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KÖK HÜCRE ANABİLİM DALI

TİMOKİNONUN İNSAN ADİPOZ DOKU KAYNAKLI
MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Ahsen ERGİNSOY

Danışman
Doç. Dr. Tuba Dilay KÖKENEK ÜNAL

Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TYL-2019-9303 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Aralık 2020
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Ahsen ERGİNSOY



YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Timokinonun İnsan Adipoz Doku Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreleri Üzerine Etkisinin Araştırılması” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Ahsen ERGİNSOY

Danışman

Doç. Dr. Tuba Dilay KÖKENEK ÜNAL

Kök Hücre Bilimleri ABD Başkanı

Prof. Dr. Yusuf ÖZKUL

İmza

Doç. Dr. Tuba Dilay KÖKENEK ÜNAL danışmanlığında **Ahsen ERGİNSOY** tarafından hazırlanan “**Timokinonun İnsan Adipoz Doku Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreleri Üzerine Etkisinin Araştırılması**”adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök Hücre Bilimleri Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** Tezi olarak kabul edilmiştir.

..... /..... /2020

JÜRİ:

Danışman :Doç. Dr. Tuba Dilay KÖKENEK ÜNAL

Üye :

Üye :

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... /..... /.....

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmam sürecinde kendi bilgi ve birikimini her zaman sabırla ve güleryüzü ile paylaşan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, eğitimim boyunca iyiki dememe sebep olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Tuba Dilay KÖKENEK ÜNAL'a bu gönülbağını kurduğu için ,

Her zaman destek ve yardımları için, değerli hocalarım Doç. Dr. Z. Burçin GÖNEN ve Doç. Dr. Zuhal HAMURCU'ya,

Her zaman sabırla, sevgiyle bana destek veren, hep yanımda olan Nur Seda ŞAHİN'e Venhar Büşra ÇINAR'a Nur Sultan NURDİNOV'a ve GENKÖK Ailesi'ne,

Yaşamımın her döneminde bana inanan, yüksek lisans eğitimim süresince varlıkları ile bana güç veren, desteklerini esirgemeyen sevgili annem Nilgün ERGİNSOY'a, sevgili babam Sabahattin ERGİNSOY'a, en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Ayrıca; bu tez çalışmasına maddi destek veren Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birim'ne en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ahsen ERGİNSOY
Kayseri, Aralık 2020

TİMOKİNONUN İNSAN ADİPOZ DOKU KAYNAKLI MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Ahsen ERGİNSOY

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Kök Hücre Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Aralık 2020

Danışman: Doç. Dr. Tuba Dilay KÖKENEK ÜNAL

ÖZET

Timokinon geleneksel tıpta sıkça kullanılan Nigella Sativa (çörek otu) bitkisinde en fazla miktarda bulunan aktif bileşen olup dokuya yararlı pek çok özelliğe sahiptir. Timokinonun antidiyabetik, antiinflamatuvar, antikanserojenik ve sitoprotektif etkisi pek çok çalışmada gösterilmiştir. Kök hücreler; sınırsız çoğalabilme, kendilerini yenileyebilme, kendilerinden başka hücrelere farklılaşabilme, hasarlı dokuya verildiğinde dokuyu onarabilme özellikleri ile tanımlanan hücre tipidir. Biyolojik ve farmakolojik özellikleri üzerine yapılan kapsamlı çalışmalara rağmen insan vücudunda dokuların kendini yenilemesi için bir kaynak görevi yapan kök hücreler üzerinde timokinonun nasıl bir etki gösterdiği tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada organizma üzerinde pek çok yararlı etkisi gösterilmiş olan timokinon etken maddesinin insan adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin çoğalması ve farklılaşması üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır. Çalışmada adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücreleri farklı konsantrasyonlarda timokinon ile muamele edilerek; timokinonun hücre canlılığına, apoptoza, hücre döngüsüne ve hücre farklılaşmasına olan etkileri araştırıldı. Çalışmamız sonucunda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelerde timokinonun düşük dozlarda hücre proliferasyonunu artırdığı, apoptozu önlediği, adipojenik, kondrojenik ve osteojenik farklılaşmaya katkıda bulunduğu görüldü. Sonuç olarak timokinon mezenkimal kök hücrelerinde canlılığı artırdığı ve farklılaşmayı bozmadığı için rejeneratif tıpta da güvenle kullanılabilir bir yardımcı etken maddedir.

Anahtar Kelimeler: Timokinon; mezenkimal kök hücre; insan kaynaklı adipoz doku

THE EFFECT OF THYMOQUINONE ON HUMAN ADIPOSE TISSUE DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS

Ahsen ERGİNSOY

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences

Department of Stem Cell

Master Thesis, December 2020

Supervisor: Doç. Dr. Tuba Dilay KÖKENEK ÜNAL

ABSTRACT

Thymoquinone is an active ingredient in the *Nigella Sativa* (black seed) plant, which is frequently used in traditional medicine, and has many tissue-beneficial properties. Many studies have shown its antidiabetic effect, cytoprotective effect, anticarcinogenic effect and anti-inflammatory effect in the literature. Stem cells are the type of cells which have the ability to reproduce unlimitedly, to regenerate itself, to differentiate into cells other than themselves, and to repair tissues when administered to the damaged tissue. Despite extensive studies on the biological and pharmacological properties of thymoquinone, its effects on mesenchymal stem cells, which act as a source for tissue regeneration in the human body, is not known exactly. In this study, it is aimed to investigate the effect of the thymoquinone on the proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells originating from human adipose tissue. In this study, adipose tissue derived mesenchymal stem cells were treated with different concentrations of thymoquinone; and the effects of thymoquinone on cell viability, apoptosis, cell cycle and cell differentiation were investigated. As a result of our study, it was seen that in adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, thymoquinone increased cell proliferation, prevented apoptosis, and contributed to the adipogenic, chondrogenic and osteogenic differentiation at lower doses. As a result, thymoquinone is an auxiliary agent that can be used safely in regenerative medicine since it increases the viability of mesenchymal stem cells and does not impair differentiation.

Keywords: Thymoquinone; mesenchymal stem cell; human adipose tissue derived stem cell

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	ii
ONAY:	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER	x
TABLolar LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Çörekotu Bitkisi ve Tohumu	3
2.2. Çörek Otu Tohumunun Kimyasal Bileşimi	4
2.3. Timokinonun Fizikokimyasal Özellikleri	5
2.4. Timokinonun Toksik Etkisi	6
2.5. Timokinonun Fiziksel Yapısı	6
2.6. Timokinonun Farmakolojik Özellikleri	6
2.6.1. Timokinonun Dokuları Hasara Karşı Koruyucu Etkisi	7
2.6.2. Timokinonun Antioksidan Etkisi	7
2.6.3. Timokinonun Antidiyabetik Etkisi	8
2.7.KÖK HÜCRE	8
2.7.1. Kök Hücre Tarihçesi	9
2.7.2. Kök Hücre Sınıflandırılması	13
2.7.2.1.Totipotent Hücreler	13

2.7.2.2.Pluripotent Hücreler.....	14
2.7.2.3.İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücre (İPSC).....	14
2.7.2.4.Multipotent Hücreler	14
2.7.2.5.Oligopotent Hücreler	14
2.7.2.6.Unipotent Hücreler	15
2.7.2.7. Embriyonik Kök Hücre.....	15
2.7.2.8. Embriyonik Olmayan Kök Hücreler.....	16
2.7.2.9. Hematopoetik Kök Hücreler	16
2.7.3. Mezenkimal (Stromal) Kök Hücre	16
2.7.4. Mezenkimal Kök Hücrelerin Avantajı	17
2.7.5. Mezenkimal Kök Hücrelerin Dezavantajı	18
2.7.6.Adipoz Doku Kökenli Mezenkimal Kök Hücreler (ADMKH).....	18
2.7.7.Adipoz Doku Kökenli Mezenkimal Kök Hücrelerin Avantajları...	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1.Araştırma Planı.....	20
3.2. Hücrelerin Çözdürülmesi ve Kültüre Alınması.....	20
3.3. MKH'lerin Karakterizasyonunun Yapılması	20
3.4. ADMKH'lerin Pasajlanması ve Hücrelerin Çoğaltılması.....	21
3.5.Timokinonun (TK) Hazırlanması.....	21
3.6. Deney Planı ve Timokinon İle Muamele	22
3.7. Canlılık/Proliferasyon Analizi.....	22
3.8. Apoptoz Testi	23
3.9. Hücre Döngüsü Testi.....	23
3.10. Farklılaşma Testleri.....	24
3.10.1. Adipojenik Farklılaşma	24
3.10.2. Osteojenik Farklılaşma	25

3.10.3. Kondrojenik Farklılaşma	26
3.11. İstatiksel Analiz	27
4. BULGULAR	28
4.1. MKH'lerin Karakterizasyonu	28
4.2. Canlılık/Proliferasyon Analizi	29
4.3. Farklılaşma Testleri	30
4.3.1. Adipojenik Farklılaşma	30
4.3.2. Osteojenik Farklılaşma	30
4.3.3. Kondrojenik Farklılaşma	31
4.5. Apoptoz Testi	32
4.6. Hücre Döngüsü Testi	33
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	36
6. KAYNAKLAR	40
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR ve SİMGELER

ADMKH: Adipoz Doku Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreler

ALT: Alanin Aminotransferaz

AST: Aspartat Transaminaz

DMSO: Dimetil sülfoksit

Dk: Dakika

FBS :Fötal Bovine Serum

FDA: Amerika Gıda ve İlaç İdaresi

GMP: İyi Üretim/İmalat Uygulamaları

GVHD: Graftversus-Host Hastalığı

i.p. :intraperitonel

KiMKH: Kemik İliğinden Elde Edilen Mezenkimal Kök Hücreler

MKH: Mezenkimal Kök Hücreler

MTS : Methods For Testingand Specification

NHP: Lisanslı Doğal Sağlık Ürünleri

PBS : Phosphate Buffer Salin

pH: Power Of Hydrogen

ROS : Reaktif Oksijen Türleri

TBHP: Tert-Bütil Hidroperoksit

TK: Timokinon

Tripsin- EDTA : Etilen Diamin Tetra Asetik Asit

nM: Nanomolar

µl: Mikrolitre

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1.	Nigella Sativa L. Tohumu Uçucu Yağının Kimyasal Bileşenleri.....	4
Tablo 2.	Kök Hücre Tarihçesi.....	9
Tablo 3.	MKH Kaynağı Dokular ve MKH'lerin Farklılaştıkları Doku Tipleri	17
Tablo 4.	Timokinonun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen total apoptoz % ort± standart sapma değerleri	32
Tablo 5.	Timokinonun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen G0/G1 evresi hücre % ort± standart sapma değerleri	34
Tablo 6.	Timokinonun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen S evresi hücre % ort± standart sapma değerleri	34
Tablo 7.	Timokinonun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen G2/M evresi hücre % ort± standart sapma değerleri	34

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Çörek otu bitkisi	3
Şekil 2.	Çörek otu bitkisinin tohumu	3
Şekil 3.	Çörek otu tohumu yağı	3
Şekil 4.	TK Molekülü	5
Şekil 5.	Kök hücrelerin asimetric bölünme özellikleri	9
Şekil 6.	Totipotent Kök Hücrelerin Yeni Bir Organizmaya Dönüşmesi	13
Şekil 7.	Uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler	14
Şekil 8.	Kök Hücrelerin Totipotent, Pluripotent ve Unipotent Türleri	15
Şekil 9.	Embriyonik Kök Hücrelerin Gelişim Süreci	15
Şekil 10.	Vücutta Adipoz Doku Lokalizasyonu	19
Şekil 11.	Timokinon	21
Şekil 12.	Elisa Reader	23
Şekil 13.	Muse Cell Analyzer	23
Şekil 14.	Adipojenik Farklılaşma Kiti	25
Şekil 15.	Osteojenik Farklılaşma Kiti	26
Şekil 16.	Kondrojenik Farklılaşma Kiti	27
Şekil 17.	Adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücre karakterizasyonu ve negatif-pozitif yüzey belirteçleri	28
Şekil 18.	Timokinonun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen hücre canlılık/proliferasyon oranları	29
Şekil 19.	Timokinonun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen adipojenik farklılaşma bulguları, 10x büyütme, İnvirt mikroskop (Leica, Almanya)	30
Şekil 20.	Timokinonun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen osteojenik farklılaşma bulguları, 10x büyütme, İnvirt mikroskop (Leica, Almanya)	31
Şekil 21.	Timokinonun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen kondrojenik farklılaşma	

- bulguları.(Yeşil ile boyanan kıkırdak hücreleri ok ile gösterildi;
hücreler arasında kalan alan kıkırdak matriksi)..... 31
- Şekil 22.** Timokininun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen total apoptoz % oranları..... 33
- Şekil 25.** Timokininun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen hücre döngüsü faz % oranları..... 35



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Nigella sativa (Çörek otu), Uzakdoğu ve Ortadoğu ülkelerinde 2000 yılı aşkın süredir birçok hastalığı tedavi etmede kullanılan doğal bitkisel ilaçlar kategorisinde yer almaktadır. Timokinon (TK) ilk kez 1963 yılında El-Dakhakhany tarafından *Nigella sativa* özlerinden izole edilerek çörek otu uçucu yağında %18.4-24 oranında bulunan en önemli biyoaktif bileşen olarak tanımlanmıştır (Goyal ve ark., 2017). TK'nin antikanserojenik, antiinflamatuvar ve antidiyabetik etkisi yanında, insanlarda solunum, sinir, dolaşım, boşaltım ve sindirim sistemi gibi pek çok sistem üzerinde olumlu etki ettiği gösterilmiş; karaciğeri ve kemikleri koruyucu etkisi bulunduğu rapor edilmiştir (Khan ve ark., 2017). Sezen'in yapmış olduğu çalışmada, TK'nin insülin direnç mekanizmasını arttırdığı bilinen TNF- α (Tumor Necrosis Alpha), IL-6 (İnterlökin 6) gibi sitokinlerin miktarlarını azaltıcı etki ettiği ve bununla da olası insülin direnç mekanizmasının gelişimini engelleyebileceği gösterilmiştir. Aynı çalışma sonucunda TK'nin tüm dozlarda TNF- α seviyesini düşürücü etki gösterdiği ve bu etki sayesinde HepG2 (Liver Hepatocellular Carcinoma) hücrelerinde insülin direncinin kırılmasında terapötik bir rolü olabileceği de gösterilmiştir (Sezen, 2015). Bir başka çalışmada diabetli ratlarda TK uygulaması sonrası glukozun önemli oranda düştüğü görülmüş ve TK'nın anti-glisemik etkisi gösterilmiştir (Usta, 2014). Biyolojik ve farmakolojik özellikleri üzerine yapılan kapsamlı çalışmalara rağmen, dokuların kendini yenilemesi için bir kaynak görevi yapan kök hücreler üzerinde TK'nin nasıl bir etki gösterdiği tam olarak bilinmemektedir (Aydoğan, 2017). Organizmadaki diğer yararlı etkilerine bakarak TK'nin mezenkimal kök hücrelerini (MKH) de olumlu yönde etkileyebileceğini düşündük.

Pek çok dokudan izole edilebilen MKH kendi kendilerini yenileyebilen, adiposit, kondrosit ve osteosit gibi çeşitli hücre tiplerine farklılaşabilen, multipotent stromal hücrelerdir. Rejeneratif tıpta yaygın bir şekilde kullanılmakta olan MKH'lerin

antimikrobik, antiinflamatuvar ve immünmodülatör etkileri gösterilmiştir. Bu hücreler farklı hücre tiplerine dönüştürülerek doku mühendisliğinde kullanılmaktadır. Adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin (ADMKH), kondrosit hücrelerine farklılaşabildikleri bilinmektedir. Kondrosit hücreleri rejeneratif tıpta kullanılmak üzere öncelikle eklem bölgelerinde ve diğer kıkırdak dokularda (burun, kulak, vb.) doku mühendisliğinde kullanılmak amacıyla yeni bir hücre kaynağı olabilecektir (Yaşar, 2014). Yapılan bir çalışmada TK'nin osteoblastlar üzerinde osteojenik farklılaşmayı hızlandırıcı etkide bulunduğu gösterilmiştir (Wirries ve ark, 2013). Ayrıca TK'nin antidiyabetik etkinliği pek çok çalışmada gösterilmiş olup, hücrelerde adipogenezi de uyardığı bilinmektedir (Benhaddou-Andaloussi ve ark, 2008). Hücreler üzerine etkilerini konu alan literatür bilgilerinden yola çıkarak TK'nin mezenkimal kök hücrelerin çoğalması ve/veya farklılaşması üzerinde de etkili olabileceğini varsaydık. Bu nedenle, bu tez çalışmasında esas olarak organizma üzerinde pek çok yararlı etkisi gösterilmiş olan TK maddesinin insan ADMKH'lerin çoğalması ve farklılaşması üzerindeki etkisinin araştırılmasını amaçladık. TK'nin MKH'lerin proliferasyonu ve farklılaşması üzerinde olumlu etkiler gösterdiği kanısındayız ve rejeneratif tıpta kullanımının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Çörekotu Bitkisi ve Tohumu

Nigella Sativa (Çörek Otu) *Ranunculaceae* familyasına ait, tohumlarından çoğalabilen, tek yıllık, otsu bir bitki formudur. Anavatanı Doğu Avrupa, Kuzey Afrika ve Güneybatı Asya olan çörek otu bitkisinin, günümüzde Türkiye, Hindistan, Suriye, Pakistan ve Suudi Arabistan gibi ülkelerde de büyük miktarlarda tarımsal üretimi yapılmaktadır. Çörek otu bitkisinin çiçekleri, açık pembe, beyaz, mavi veya sarı renkte olabilmektedir. Taç yapraklarının sayısı 5 ile 10 arasında değişebilmektedir. Boyu 90 santimetreye kadar uzayabilen çörek otu bitkinin meyvesi ise, içerisinde tohumlarını barındıran kapsül formundadır (Ahmad ve ark., 2013). Çörek otu bitkisinin tohumları siyah renkte ve oval biçimlidir aynı zamanda bu tohumların boyutları 2-3 milimetre arasındadır. Aromatik bir kokuya sahip olmalarına rağmen bu tohumların acı bir tadı vardır (Ayhan, 2012).



Şekil 1. Çörek otu bitkisi



Şekil 2. Çörek otu bitkisinin tohumu



Şekil 3. Çörek otu tohumu yağı

Kaynak: <https://www.frozenseeds.com>, Erişim Tarihi: 12 Ekim 2020.

Kaynak: <https://www.medikalakademi.com.tr>, Erişim Tarihi: 12Ekim 2020.

Kaynak: <https://www.medikalakademi.com.tr>, Erişim Tarihi: 17Ekim 2020.

2.2. Çörek Otu Tohumunun Kimyasal Bileşimi

Çörek otu tohumunun uçucu yağlarından çeşitli farmakolojik aktif kimyasal bileşenler olan timohidrokinon, ditimokinon, timokinon ve timolün yanı sıra; d-limonen, α ve β -pinen, p-simen, trans-anetol, nigellon ve karvakrol izole edilmiştir (Güzelsoy ve ark., 2018). Çörekotu tohumu özellikle yağ asitlerinden linolenik asit, stearik asit, palmitoleik asit, oleik asit ve araşidonik asitten oldukça zengindir. Tohumlar ayrıca karaciğerde A vitaminine dönüştürülen karoten içermekle birlikte kalsiyum, fosfor, demir ve potasyum bileşenleri açısından da oldukça zengindir (Usta ve Algın-Kaplan 2016). Nigella Sativa tohumu uçucu yağının kimyasal bileşenleri aşağıda (Tablo 1) gösterilmiştir (Kalidasu ve ark., 2017).

Tablo 1. Nigella Sativa L. Tohumu Uçucu Yağının Kimyasal Bileşenleri

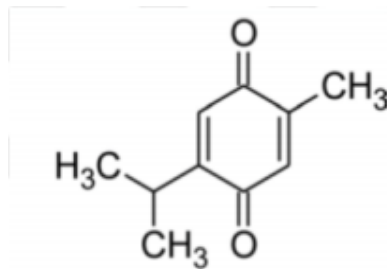
Uçucu sekonder metabolit	% Alan	Uçucu sekonder metabolit	% Alan
α -Tuyen	5,09	Asetamid, N-(2-hidroksi-3-pentenil)-	0,22
α - Pinen	1,00	Longipinen	0,61
Sabinen	0,44	Longifolen	3,24
β -Pinen	1,31	Timohidrokinon	2,40
Terpinolen	0,56	Nonil allil okzalot	0,24
p-Simen	27,80	Sulforuz asit, 2-etilhekzil izohekzil ester	0,32
α -Terpinen	5,23	1. 2,3-epoksi-gerianial	0,45
cis-4-Metoksituyan	0,44	2-metil hekzanoik asit	0,16
trans-4-Metoksituyan	3,62	4-Tridesen	0,92
2E,4Z-Dekadienal	0,14	Sitronellil n-bütirat	0,88
Terpinen-4-ol	0,21	cis-11,14-Eikosaienoik sit metil ester	0,81
(+)-Dihidrokarvon	0,58	9-Undekenal, 2,10-dimetil	11,54
Timokinon	28,70	2,6,11,15-Tetrametilhekzadeka-2,8,8,10,14-Pentaen	0,47
Karvakrol	2,44	2,4-Oktadienal, (E,E)	0,15

Kaynak: Kalidasu ve ark., 2017.

Çörek otu tohumları ve bu tohumlardan elde edilen yağ, gıda ve doğal ilaç olarak kullanıma sunulmaktadır (Ayhan, 2012). Çörek otunun özellikle Türk halkı arasında gıda maddesi olarak kullanımı oldukça yaygındır (Engels ve Brinckmann 2017). Çeşni olarak börek, peynir, ekmek gibi gıdalarda kullanılan çörek otu, aynı zamanda öğütüldükten sonra bal ile karıştırılmakta veya salatalara konularak tüketilmektedir. Avrupa Komisyonu Sağlık ve Tüketici Müdürlüğü, çörek otu yağını cilt bakım ürünü ve esans olarak listelemiştir. Günümüzde, Amerika Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) çörek otunun gıda takviyesi olarak kullanılması onaylamıştır. Kanada’da ise çörek otu tohumu ve yağı, tıbbi bileşen olarak ilaç kategorisinde olan lisanslı doğal sağlık ürünlerinde (NHP) kullanılmaktadır (Engels ve Brinckmann 2017). Bu nedenle çörek otu bitkisinin tohumları büyük bir öneme sahiptir (Ayhan, 2012). Çörek otu, Uzakdoğu ve Ortadoğu ülkelerinde 2000 yılı aşkın zamandır birçok hastalığın tedavisinde kullanılmakta olan doğal bitkisel ilaçlar arasında yer almaktadır (Goyal ve ark., 2017). Çörek otu, uzun yıllardır deri enfeksiyonları, egzama, sivilceler, sedef, yanıklar gibi çeşitli deri hastalıklarında kullanılmaktadır (Ahmad ve ark., 2013; Uras 2009; Özgüven ve ark., 2002).

2.3. Timokinonun Fizikokimyasal Özellikleri

Timokinon (TK) (2-izopropil-5-metil-1,4-benzokinon), *Nigella Sativa* uçucu yağının içerisinde en yüksek oranda bulunan biyoaktif bir moleküldür. TK’nin yapısında kinon halkasına 2 pozisyonundan bağlı bir izopropil grubu ve 5 pozisyonuna bağlı bir metil grubu bulunmaktadır (Şekil 4). TK oda sıcaklığında kristal yapıda bulunur. Rengi ise sarıdır.



Şekil 4. TK Molekülü

Kaynak: Islam ve ark., 2016.

TK molekülü, uygun koşullarda muhafaza edilmelidir. Aksi halde ışığa maruz kaldığında (2+2) sikloadisyon reaksiyonu vererek dimerleşir ve ditimokinona dönüşür. TK, hidrofobik bir moleküldür. Yağ içerisinde çözünmektedir. Asidik ortamlarda stabildir (Islam ve ark., 2016). TK ilk olarak 1963 yılında El-Dakhakhany tarafından *Nigella sativa* özlerinden izole edilerek çörek otu uçucu yağında % 18.4-24 oranında bulunan çörek otunun en önemli biyoaktif bileşeni olarak tanımlanmıştır (Goyal ve ark., 2017).

2.4. Timokinonun Toksik Etkisi

TK'nin sürekli yapılan deneysel çalışmalarında herhangi bir toksik etkisi olmaması sebebiyle geniş güvenlik sınırları içinde olduğu kabul edilmektedir (Yahyazadeh, 2017). Toksisitesinin düşük olduğu belirlenmiş ve TK'nin vücuda alınma dozunun toksisitesini etkilediği belirtilmiştir. Ancak TK'nin hücre içine girdikten sonra biyotransformasyon sonucunda reaktif oksijen radikallerinin oksidatif stresini artırdığı, yüksek dozlarının da bazı enzimleri etkilediği ve karaciğer hücrelerinde genomik hasara yol açabildiği belirtilmiştir. Ayrıca sıçanlarda intraperitoneal uygulaması sonrasında sistemik dolaşıma geçmesiyle akut pankreatite neden olduğu iddia edilmektedir (Vardar ve ark., 2018). TK'nin yüksek dozlarda verildiğinde öldürücü etki gösterebildiği gözlenmiştir (Güllü ve Avcı, 2013). Ancak klinik çalışmalarda insanlarda kullanılan aralıklarda herhangi bir yan etkisi görülmemiştir. TK'nin biyolojik ve farmakolojik özellikleri üzerine yapılan kapsamlı çalışmalara rağmen, insan vücudunda dokuların kendini yenilemesi için bir kaynak görevi yapan kök hücreler üzerinde TK'nin nasıl etki ettiği tam olarak bilinmemektedir (Alimoradi ve ark., 2018).

2.5. Timokinonun Fiziksel Yapısı

TK ışığa karşı yüksek duyarlılığa sahiptir ve ışığa maruziyette degradasyona uğramaktadır. TK artan pH'larda stabilitesi azalmakta, asidik pH'da ise minimum degradasyon görülmektedir (Güzelsoy ve ark., 2018).

2.6. Timokinonun Farmakolojik Özellikleri

TK'nin antikanserojenik, antiinflamatuvar ve antidiyabetik etkisinin yanı sıra, insanlarda dolaşım, solunum, sindirim, boşaltım ve sinir sistemi gibi pek çok sistem üzerinde birçok olumlu etkisi gösterilmiş; kemikleri ve karaciğeri koruyucu etkisi bulunduğu rapor edilmiştir (Khan ve ark., 2017). Uzak Doğu ve Orta Doğu ülkelerinde geleneksel

tıp alanında; kemoterapi alan kanser hastalarında kemoterapiyle birlikte tamamlayıcı ve alternatif tıpta kullanılabileceği bildirilmektedir. Güçlü antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkiye sahip olmasından dolayı TK'nin, oksidatif hasara, organ bozukluklarına ve dolayısıyla çeşitli hastalıkların patogenezinin sebep olan birçok çevresel toksinler ve ksenobiyotiklerin yan etkilerini minimize edebileceği de gösterilmiştir (Güzelsoy ve ark., 2018).

2.6.1. Timokinonun Dokuları Hasara Karşı Koruyucu Etkisi

Literatürde TK'nin çeşitli kimyasal maddelerden kaynaklı karaciğerde oluşan hasara karşı, farklı doz ve sürelerde TK uygulanan çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca besinsel dozda (10 ve 20 mg/kg/günlük) uygulamaların ardından karaciğer enzim Alanin Aminotransferaz (ALT), Aspartat Transaminaz (AST) aktivitelerinin etkilenmediği ve güvenli olduğu bildirilmiştir. Çeşitli etkenlere bağlı olarak gelişmiş karaciğer hasarında takviye olarak TK kullanılması ile oksidatif stres belirteçlerinde azalma, toplam antioksidan kapasitesinde artış olduğu, artan lipid peroksit, artan ALT ve AST aktivitelerinde azalma olduğuna dair bulgular, takviye olarak uygulanan TK'nin karaciğer koruyucu olarak etkili olduğunu göstermektedir (Usta ve ark., 2018).

Çörek otu yağı ayrıca kan basıncını düşürmekte ve solunumu hızlandırmakta etkilidir. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda plazma konsantrasyonunda bulunan trigliserid, kolesterol ve glukoz seviyelerinde azalma gösterdiği belirtilmiştir (Bulca, 2014).

2.6.2. Timokinonun Antioksidan Etkisi

TK'nin hepatoprotektif etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, oksidatif hasara yol açan tert-bütül hidroperoksitin (TBHP) maddesinin karaciğerdeki glutatyon seviyesini azaltan etkisini TK'nin dengelediği gösterilmiştir (Altındağ, 2018). Sıçanlarda yapılan çalışmalarda da TK'nin oksidatif hasarlara karşı önemli bir antioksidan ajan olduğu ortaya konmuştur. Dişi farelerde embriyonun serbest radikallere karşı korunduğu ve yanı sıra fiziksel gelişiminde herhangi bir hasarın olmadığı görülmüştür (Aydoğan, 2017). TK antioksidan etkilerini siklooksijenazların, membran lipid peroksidasyonunun ve lipoksijenazların inhibasyonuna neden olması ile kazanmaktadır (Yahyazadeh, 2017). Birtakım hastalıkların ROS (Reaktif Oksijen Türleri) düzeylerinin yükselmesinden kaynaklı yan etkilerini TK'nin antogonize edebildiği ve bu özelliğini de oksidatif stresi azaltarak ve antioksidan savunmayı artırarak ortaya koyduğu bildirilmektedir. Ayrıca TK'nin, süperoksit dismutaz aktivitesini arttırabildiği ve çeşitli

deneysel patolojik koşullar altında glutasyonu indükleyebildiği ve bunlarla da hücrel oksidatif stresi azaltabildiği gösterilmiştir (Yılmaz, 2018).

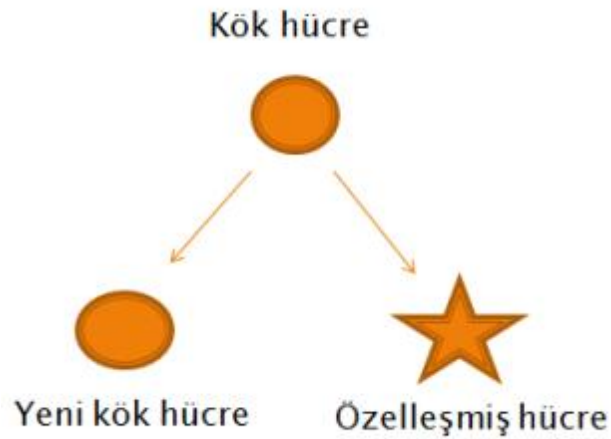
2.6.4. Timokinonun Antidiyabetik Etkisi

TK'nin gestasyonel diyabet üzerine etkisini incelemek için yapılan bir çalışmada gestasyonel diyabetik ratlarda açlık kan şekerini düşürücü ve vücut ağırlığını koruyucu etkide bulunduğu kanıtlanmıştır. TK'nin bu etkisi insülin verilen rat grubuyla karşılaştırıldığında benzer özellik gösterdiği gözlenmiştir. TK'nin, antioksidan ve anti-inflamatuar etkisiyle pankreastaki beta hücrelerinden insülin salınımını artırarak antihiperglisemik ve antidiyabetik etki sağladığı düşünülmektedir. Histopatolojik incelemede TK'nin pankreastaki adacık hücre hasarını da anlamlı bir şekilde azalttığı ve sitoprotektif etki gösterdiği ortaya konmuştur. (Karaoğlan, 2018). Streptozotosin kaynaklı diyabet üzerine TK'nin etkisini araştırmak üzere yapılan bir çalışmada da TK uygulamasının, total antioksidan seviye ve buna bağlı antioksidan madde profiline olumlu etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır (Usta ve ark., 2018).

2.7.KÖK HÜCRE

Kök hücreler; kendilerinden başka hücrelere farklılaşabilme, kendilerini yenileyebilme, sınırsız çoğalabilme, hasarlı dokuya verildiğinde dokuyu onarabilme özelliklerine sahip hücre tipidir (Tekeli, 2016). Kök hücreler yeteneklerine göre totipotent, pluripotent ve multipotent olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (Erden, 2014). Kök hücreler vücutta bulunan 200'den fazla hücre tipi için progenitör hücre olarak kabul edilen ilkel hücre tipleridir (Shikhaliyeva, 2015). Bir hücreyi kök hücre olarak tanımlamak için belirlenen řu 5 özelliği sağlamalıdır: 1) Özelleşmemiş hücrelerdir. 2) Özelleşmiş hücrelere dönüşebilmektedirler. 3) Uzun zaman bölünebilme ve kendini yenileyebilme kapasitesine sahiptirler. 4) Hasar gören dokuya nakledildiklerinde ise kaynak dokuyu işlevsel olarak yeniden çoğaltabilmektedirler. 5) *In vivo* ortamda doku hasarının olmadığı durumlarda dahi farklılaşmış kuşaklara destek sağlamaktadırlar (Cannazik ve Polat, 2014). Kök hücreler, yüksek telomeraz enzim aktivitesine sahip olan hücre tipidir. Bu özellikleri ile doğrusal kromozomlarının ucunda bulunan telomerlerin kısaltmalarını önlemekte ve bununla, kök hücrelerin yaşlanmasının ve bölünme kapasitelerinin azalmasının önüne geçilmektedir.

Kök hücreler, bölünmeler esnasında bir taraftan öncü hücrelere dönüşecek hücreleri üretirlerken bir taraftan da kendi yedeklerini oluşturmaktadırlar (Terzi ve Güran, 2012).



Şekil 5. Kök hücrelerin asimetrik bölünme özellikleri

Kaynak: Reya ve ark., 2001 ss:17.

Böylece organizmadaki kök hücre havuzu, yaşam boyunca sabit büyüklükte kalmaktadır. Kök hücrelerin dışında, hücre dışı matriks bileşenleri, salgı proteinleri ve komşu hücreler tarafından oluşturulan mikro çevre (niş), hücrenin bulunduğu durumu ve kök hücre sayısını kontrol altında tutmaktadır (Terzi ve Güran, 2012).

2.7.1. Kök Hücre Tarihçesi

Tablo2. Kök Hücre Tarihçesi

1860	Embriyonun gelişim süreci ve kemik iliğinin mikroskopik incelenmesiyle kök hücre ifadesi ilk kez bilimsel makalelerde yer almıştır.
1878	İlk kez vücut dışında memeli yumurtalarını dölemek için denemeler yapılmıştır.
1920	Tavuklarda tüm kan hücrelerinin kaynağına öncü olan hücrelerin varlığı gösterilmiştir.
1950-1960	Kan ve deri hücrelerinin yenilenmesi için ilk defa ergin kök hücre ifadesi kullanılmıştır.
1956	Kemik iliği nakli insanlarda ilk kez gerçekleştirilmiştir.
1958	Kurbağa yumurtaları içine çekirdek transfer edilerek embriyonik potansiyelde yeniden programlanmış erişkin kurbağa hücrelerinden çekirdekler elde edilmiştir.
1959	Fare çalışmalarıyla kemik iliğinde yerleşik kan kök hücreleri bulunmuştur. ABD’de tavşanlarda tüp bebek yoluyla üretilen hayvanlar ile ilgili ilk yayın yapılmıştır.

1960	İnbred farelerde testislerin teratokarsinomlarının embriyonik germ hücrelerinden köken aldığı gösterilerek embriyonik karsinom hücrelerinin, kök hücrelerin bir türü olabileceği belirtilmiştir.
1961	Fare kemik iliğinden transplante edilebilecek kök hücrelerin var olduğu tespit edilerek özellikleri belirlenmiştir. Bu kök hücrelerin sayımı için ilk koloni yöntemleri oluşturulmuştur.
1968	<i>İn vitro</i> ortamda ilk kez insan yumurtası döllendirilmesi gerçekleştirilmiştir.
1969	Hücre ayırma teknolojisi ilk kez kemik iliğindeki kök hücrelerin elde edilmesi için kullanılmıştır.
1970	Kök hücreler farelerin embriyonik gelişiminde incelenmek üzere fare blastosistine enjekte edilen embriyonik kök hücre sonucu kimerik fare elde edilmiştir.
1974	Teratomlar gibi normal dokuların geliştirilmesine fare embriyonik kanser hücrelerinin de faydalı olabileceği gösterilmiştir.
1975	Düşüklerden sonra elde edilen fetal dokuların çalışmalarda kullanılabilmesi için 'Etik Danışma Kurulu' ve 'Yönergesi'tasarlanmıştır.
1978	İnsan kordon kanında transplante edilebilecek özellikteki kök hücrelerin varlığı bulunmuştur. Louise Brown (İngiltere'nin ilk tüp bebeği) doğmuştur.
1980	Fare embriyosundan ilk kez kök hücre edilmiştir. Candice Reed (Avustralya'nın ilk tüp bebeği) doğmuştur.
1981	Fare blastosist iç hücre kütesinden embriyonik kök hücreler elde edilmiştir. Farelere embriyonik kök hücreler enjekte edilerek teratom oluşumuna sebep oldukları gözlemlenmiştir. Elizabeth Carr (ABD'nin ilk tüp bebeği) doğmuştur.
1984-1988	Pluripotent klonal hücreler geliştirilmiştir. Retinoik asite maruz bırakılan klonlanmış insan teratom hücrelerinin nöron türevi hücreler ve diğer hücre türlerine farklılaştırılması gerçekleştirilmiştir.
1988	Fanconi anemi tanısı almış bir vakaya ilk kez kord kanı transplantasyonu işlemi yapılmıştır.
1989	Her üç germ yaprağından köken alan dokuları veren insan embriyonel karsinom hücrelerinin klonal hattı türetilmiştir. Bu türetilen hücreler anöploidi özelliindedir. Bu anöploidi özellikteki hücrelerin <i>in vitro</i> ortamda kendiliğinden farklılaşma potansiyellerinin sınırlı olduğu belirtilmiştir.

	İnsan embriyonik karsinoma hücre klonlarının davranışları fare embriyonik kök hücrelerinden ya da embriyonik karsinoma hücrelerinden farklı bulunmuştur.
1992	Yetişkin insan beyinde nöral kök hücrelerin varlığı tespit edilmiştir.
1994	<i>İn Vitro</i> Fertilizasyon ile üreme amaçlı insan blastosisti oluşturulmuş ve hasta tarafından bağışlanmıştır. Blastosist iç hücre kütleli kültrü ortamında yaşatılmıştır, periferde trofoblast benzeri hücreler ve ayrıca kök hücre benzeri hücreler üretilmiştir. Hücreler kromozom yapılarını korumuştur; kültür ortamındaki hücrelerin birçoğu kök hücre benzeri morfolojiyi korurken aynı zamanda iç hücre kütlelerinin bazı hücreleri fibroblastlara farklılaşmıştır. Bu kültürler iki pasaj halinde korunmuştur. Kanser kök hücreleri ile kanser hücreleri ilk defa ayrıştırılmıştır. Korneal kök hücreleri ile kornea hasarlı hastaların tedavileri başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.
1996	İlk kez bir memeli klonlanmıştır. Bir yetiştikinden alınan somatik hücre ile klonlanan ilk memeli Dolly dünyaya gelmiştir.
2000	İnfertilite tedavisi almakta olan çiftler tarafından bağışlanan blastosist iç hücre kütlelerinden insan embriyonik kök hücreleri üretilmiştir. Embriyonik kök hücreler <i>in vitro</i> ortamda uzun süre çoğaltılmıştır. Hücreler normal karyotiplerini korurlarken her üç ana germ tabakasından köken alan somatik hücre soylarına kendiliğinden farklılaşarak immün yetmezliği olan farelere enjekte edildiğinde teratomlar oluşturmuşlardır.
2001	İlk ortak kök hücre araştırma ağı oluşturulmuştur. Yetişkin deri dokusunda dermal kök hücreler keşfedilmiştir.
2003	İnsandaki beyin tümörlerinden kanser kök hücreleri izole edilmiştir.
2004	İnsan embriyonik kök hücreleri tarafından ilk kez dopaminerjik hücreler üretilmiştir.
2005	İnsan Embriyonik Kök Hücre Araştırmaları Yönergesi yayınlanmıştır. İlk kez insan kemik kanser kök hücreleri tespit edilmiştir. Lasker Ödülü'nü kök hücreleri ilk tanımlayan çalışmaları yapan James Till ile Ernest McCulloch almıştır.
2006	İndüklenmiş pluripotent kök hücreler ilk kez fare

	derisinden elde edilen ergin kök hücrenin tekrar programlanması ile elde edilmiştir. İndüklenmiş pluripotent kök hücreler ile embriyonik kök hücrelerin benzer karakteristik özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir.
2007	Yamanaka ve Thomson birbirinden bağımsız olarak indüklenmiş pluripotent kök hücreleri üretmişlerdir. Tıp Fizyoloji Nobel Ödülü'nü farelerde germline modifikasyonunu sağlayan buluşlarıyla Mario Capecchi, Martin Evans ile Oliver Smithies almışlardır. Memeli intestinal kök hücrelerinin ilk kez fiziksel tanımlanması ve lokalizasyonu yapılmıştır. İnsan kolon kanser kök hücrelerinin ilk kanıtlarına ulaşılmıştır.
2008	Gairdner Ödülü'nü nöral kök hücrelerin keşfi ile Samuel Weiss almıştır.
2009	Lasker Ödülü'nü nükleer reprogramlamadaki keşifleriyle John Gurdon ile Shinya Yamanaka almıştır. Uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler minimal rezidüel genomik değiştirmelerle oluşturulmuştur.
2010	İlk kez hücre terapisinde embriyonik kök hücrelerin kullanılmasına izin verilmiştir. Spinal kord hasarlarının tedavileri için ilk kez insan embriyonik kökenli klinik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. mRNA transfeksiyonu gerçekleştirilerek indüklenmiş pluripotent hücreler oluşturulmuştur.
2011	Kök hücrelerden suni bronşlar ve trakea oluşturulmuştur.
2012	Nobel Tıp Fizyoloji Ödülü erişkin hücrelerin yeniden pluripotent kök hücre haline dönüştürülmesi çalışmalarını ile John Gurdon ve Shinya Yamanaka'ya verilmiştir.
2014	Ergin kök hücrelerden ilk kez embriyonik kök hücreler elde edilmiştir (2014. http://www.irc.ca/2014/09 , Erişim Tarihi: 17 Ekim 2020). Kordon kanındaki kök hücrelerin çoğalmasını sağlayabilecek olan UM171 molekölü keşfedilmiştir (2014. http://www.sciencesetavenir.fr , Erişim Tarihi: 17 Ekim 2020). Plazma dokusunu oluşturabilme yeteneği olan yeni kök hücre tipi STAP hücreleri Yoshiaki Sasai tarafından keşfedilmiştir

	(2014.Santelog.http://www.santelog.com, Erişim Tarihi: 17 Ekim 2020).
2015	Kök hücreler kalbi onarmak için uyarılmıştır. Epilepsi için sinir sistemini geri düzenlemek hedefiyle kök hücre terapileri yapılmıştır. Kök hücrelerin uyarılması ile beyindeki metastaz yok edilmeye çalışılmıştır. Kök hücreler ile mini akciğerler elde edilmiştir.
2020	COVID-19 tanısı almış kişilerin mezenkimal kök hücreler ile tedavide edilebileceği ortaya konmuştur (Liang ve ark., 2020).

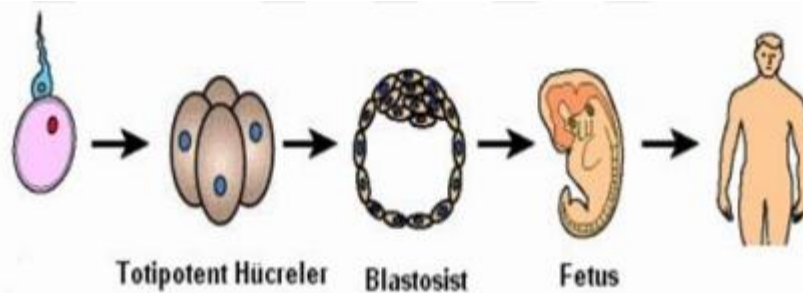
Kaynak: 2012.Les cellules souches.http://www.sciencesessonne.fr, Erişim Tarihi: 19 Ekim 2020; 2012.TheAtlantic.http://www.theatlantic.com, Erişim Tarihi: 19 Ekim 2020.

2.7.2. Kök Hücre Sınıflandırılması

Kök hücreler farklılaşabilme yeteneklerine göre; totipotent, pluripotent, multipotent, oligopotent ve unipotent kaynaklarına göre ise; embriyonik ve erişkin tip kök hücreler, olmak üzere gruplandırılmaktadırlar (Bongso ve Fong 2009; Hosseinkhani ve Hosseinkhani 2009).

2.7.2.1.Totipotent Hücreler

Embriyo, embriyo sonrası tüm doku ve organlar ile birlikte embriyo dışı membranların ve organların kaynağını oluşturan kök hücre türleri olarak bilinmektedir (Sobhani ve ark., 2017)



Şekil 6. Totipotent Kök Hücrelerin Yeni Bir Organizmaya Dönüşmesi

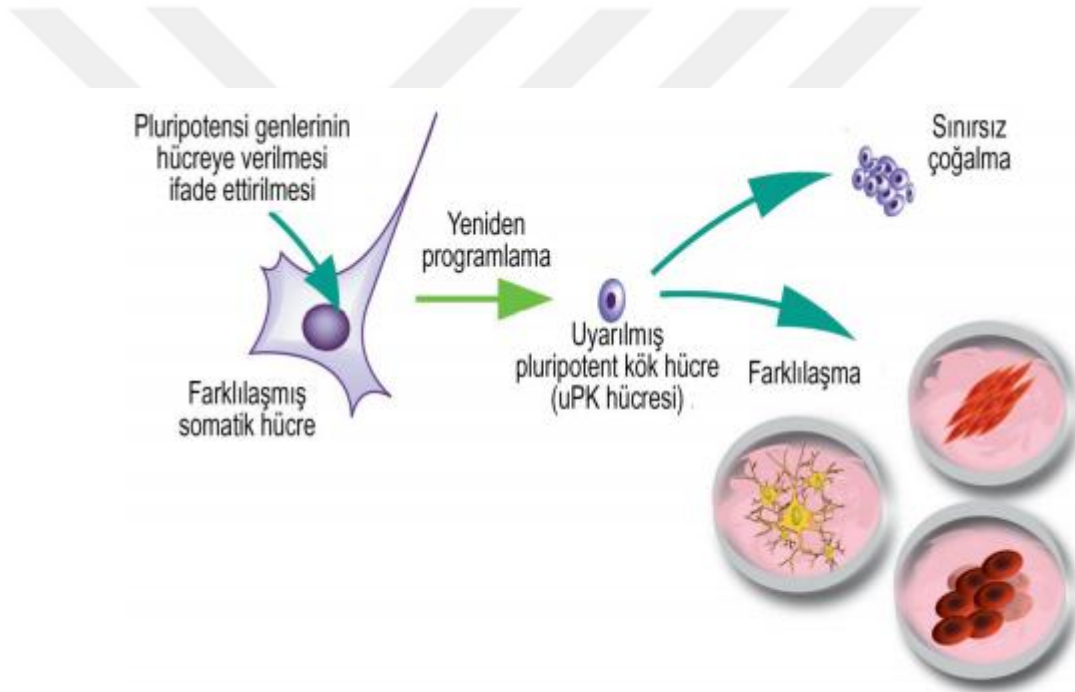
Kaynak: Savaş 2016 ss: 5.

2.7.2.2.Pluripotent Hücreler

Blastositin iç tabakasındaki hücreler olarak bilinmektedir. Tüm vücut hücrelerinin köken aldığı her üç germ yaprağı (mezoderm, endoderm, ektoderm) hücrelerine dönüşebilme kabiliyeti olan hücrelerdir. Fakat bu hücreler trofoblastları oluşturamamaktadır.

2.7.2.3.İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücre (İPSC)

Genellikle erişkin somatik hücrelerden geriye farklılaştırma ile pluripotent hale dönüştürülmüş hücrelerdir. İndüklenmiş pluripotent kök hücreler, pluripotent hücrelerin farklılaşma kapasitelerine sahiptirler (Sobhani ve ark., 2017).



Şekil 7. Uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler

Kaynak: Çekiç 2019 ss: 15.

2.7.2.4.Multipotent Hücreler

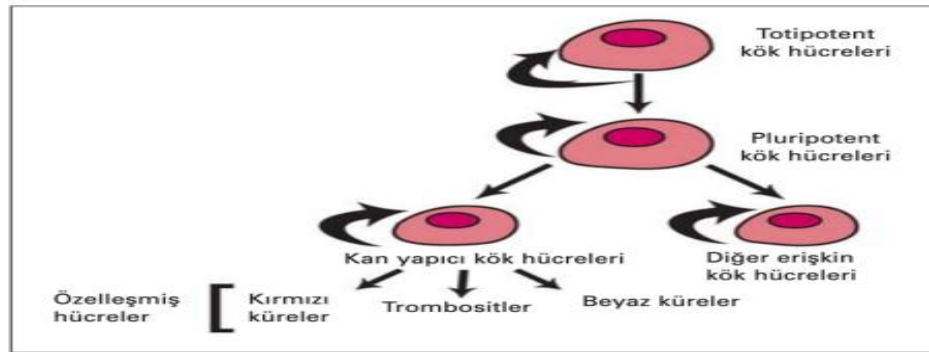
Tek bir doku veya germ tabakasının hücrelerine farklılaşabilen kök hücreler olarak tanımlanmaktadır.

2.7.2.5.Oligopotent Hücreler

Sadece birkaç hücre tipine farklılaşabilen kök hücreler olarak bilinir (lenfoid ve miyeloid kök hücreler gibi).

2.7.2.6.Unipotent Hücreler

Tek bir hücre tipine dönüşebilen kök hücrelere unipotent hücreler denilmektedir (Sobhani ve ark., 2017).

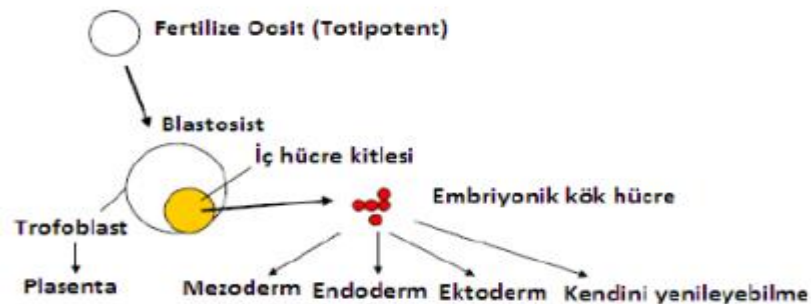


Şekil 8. Kök Hücrelerin Totipotent, Pluripotent ve Unipotent Türleri

Kaynak: . Ertepe- Küçükgöde 2019 ss: 4.

2.7.2.7. Embriyonik Kök Hücre

Blastosist aşamasındaki embriyonun iç hücre kitlesinden elde edilen pluripotent kök hücrelere embriyonik kök hücre denilmektedir. embriyonik kök hücreler *in vitro* olarak döllenmiş, ihtiyaç fazlası embriyolardan ya da istemli sonlandırılan gebeliklerden elde edilebilmektedir (Ertepe- Küçükgöde, 2019).



Şekil 9. Embriyonik Kök Hücrelerin Gelişim Süreci

Kaynak: Savaş 2016 ss:7.

2.7.2.8. Embriyonik Olmayan Kök Hücreler

Organizmada çoğu dokuda bulunabilen ve bulunduğu organın, dokunun özelleşmiş hücrelerine farklılaşabilen kök hücre türleridir. Temel görevleri buldukları dokudaki hasarın onarılması ve bütünlüğünün korunmasıdır. Hematopoetik, mezenkimal ve diğer doku kök hücrelerini içermektedirler (Ertepe- Küçükgöde, 2019).

2.7.2.9. Hematopoetik Kök Hücreler

Hematopoetik kök hücreler kendilerini yenileyebilme ve farklılaşabilme yeteneğine sahip olan klonojenik hücrelerdir. İnsan organizmasında eritrositler, miyeloid hücreler ve trombositler kemik iliğindeki kök hücreler tarafından başlatılan matürasyon ve farklılaşma süreci sonrasında oluşmaktadır. Uygun uyaranlarla diğer dokulara da (adipositler, pankreatik hücreler, kardiyak miyositler, endotel hücreleri vb.) farklılaşabilme yeteneğine sahip multipotent hücrelerdir (Reya ve ark., 2001; Govindan ve ark., 2012).

2.7.3. Mezenkimal (Stromal) Kök Hücre

Mezenkimal kök hücreler (MKH), tüm dokulardan elde edilebilen ve yalnızca mezenkimal kaynaklı olanlara değil adiposit, kondrosit, osteosit gibi çeşitli hücre hatlarına farklılaşabilen multipotent stromal hücrelere denilmektedir. MKH'lerin embriyonik kök hücreler gibi teratom oluşturma riskleri yoktur (Erdal ve Seçkin, 2017). MKH'lerin yetenekleri kesin değildir. Buldukları her ortama göre yetenekleri değişebilmektedir (Akgün, 2016). Kemik iliği MKH'lerin ana kaynağıdır. Bunun yanı sıra MKH'ler kemik iliği dışında birçok dokudan elde edilebilmektedir. Diş pulpası, kas dokusu, kemik ve maksillofasial dokular, karaciğer, lipoaspirasyon materyalleri, plasenta, kordon stroması, kordon kanı, amniyon sıvısı, periferik kan, sinovial sıvıdan adezyon özellikleri sayesinde ayrıştırılarak çoğaltılabilmektedirler. MKH'ler günümüzde endometriyum ve adet kanından da izole edilmektedir (Gözen ve ark., 2015). Uluslararası Hücrel Tedavi Birliği'nin belirlediği kriterlere göre MKH'ler yüzeylerinde kendilerine CD105, CD90 ve CD73 proteinleri ifade edebilirken hematopoietik belirteçler olan CD11b, CD79, CD45, CD34, CD19, CD14, HLA-DR proteinlerini ifade edemezler. MKH'ler yüzeyinde Majör Histokompatibilite Kompleksi (MHC) Sınıf I molekülünü ifade edebilirler, fakat MHC Sınıf II'yi ifade edemezler. Bu özellikleriyle hipoinmünojenik olarak kabul edilirler, dolayısıyla otolog kullanımı ve hatta allojenik kullanımı da mümkün olmaktadır (Genç, 2018). Rejeneratif tıp

uygulamalarında yaygın olarak kullanılan MKH'lerin antimikrobik, antiinflamatuvar ve immünmodülatör etkileri gösterilmiştir (Mushahary ve ark., 2018).

Özellikle ADMKH'ler esmer ve beyaz yağ dokudan izole edilmektedir. Bu yöntem sınırsız sayıda hücre elde edilebilir olması ve yanı sıra pahalı olmaması nedeniyle tercih edilmektedir. MKH'ler aynı zamanda keratinositlerin ve fibroblastların kök hücreleridir. Bu hücrelerin en önemli özellikleri, çeşitli büyüme faktörlerinin salınımı ile farklı grup hücre çeşitlerine dönüşebilmeleridir (Kara-Akpınar ve Kandi, 2018). ADMKH, Diabetes Mellitus (DM), kalp hastalığı, osteoartrit, yumuşak doku rejenerasyonu, yüz ve meme ameliyatları sonrasında yeniden yapılandırma çalışmaları gibi alanlarda uygulanmaktadır. Kardiyomiyopati (kalp kası hastalığı) ve miyokard infarktüsü (kalp krizi), MKH, Graftversus-Host Hastalığı, mesane fonksiyon kaybı ve otoimmün hastalıkları tedavisi, kanser tedavisi, karaciğer hastalığı, kıkırdak kusurları, optik sinir yenilenmesi, omurilik yenilenmesi ve diyabet tedavisi için klinik ve preklinikte kullanılmaktadır (Murat, 2018).

Tablo 3. MKH Kaynağı Dokular ve MKH'lerin Farklılaştıkları Doku Tipleri

MKH'nin Elde Edildiği Başlıca Yetişkin Doku Tipleri	MKH'nin Farklılaşabildiği Başlıca Hücre / Doku Tipleri
Adipoz doku	Kas, kıkırdak, sinir, kemik, tendon
İskelet kası	Sinir, kıkırdak, tendon, çizgili ve düz kas, kemik
Kemik iliği	Kas, kıkırdak, sinir, kemik, adipoz, tendon
Saç folikülü	Düz kas, beyin, adipoz, deri
Karaciğer, amniyotik sıvı, pankreas, kornea, Retina	Sinir, tendon, kıkırdak, kemik, v.b.
Plasenta	Kemik, kemik iliği, kas, kıkırdak, sinir
Beyin	Sinir, kas

Kaynak: Zuk ve ark., 2002.

2.7.4. Mezenkimal Kök Hücrelerin Avantajı

MKH'lerin ya da progenitör hücrelerin öncelikli kaynağı kemik iliği olarak düşünülmektedir. Ancak sayısı gün geçtikçe artan diğer dokulardan da bu hücrelerin elde edilebilecek olduğu gösterilmiştir. Yetişkinlerde dermis, kemiklerin dış zarı, adipoz

doku, damarların adventisya tabakası ve periodontal ligament dokusundan MKH'ler elde edilebilmektedir (Ateş, 2016). MKH'ler klinik kullanımda birçok avantaja sahiptir. Bunlardan bazıları, konnektif doku kökenli olmalarından dolayı stromal destek sağlayarak ilgili doku hücrelerinin gelişimine ve fonksiyonuna katkı sağlamaları; farklılaşma yeteneklerinin fazla olması; hasarlı hücre ile füzyon yeteneği olması; çözünebilen faktörleri (büyüme faktörleri, kemokinler, sitokinler gibi) salgılayarak hasarlı hücre/doku onarımına katkı sağlamaları; migrasyon özellikleri nedeniyle hasarlı dokuya ulaşabilmeleridir. Ayrıca MKH'lerin klinik kullanımı sırasında insan doku antijeni doku uyumunun şart olmaması, haploidentik ve hatta tamamen insan doku antijeni uyumsuz bireylerden dahi MKH hazırlanabilmesi diğer önemli avantajıdır. MKH'ler gen transferi kolaylığı sağlamaları ve dayanıklı olmaları gerekçeleriyle gen tedavisi için de uygun bulunmaktadır. Enzimler (ör. Lizozomal enzim) salgılayarak kalıtsal hastalıklardaki enzim defektlerinin yerine koyulabilme potansiyelleri de MKH'lerin avantajları arasında sayılabilir (İşbirlioğlu, 2015).

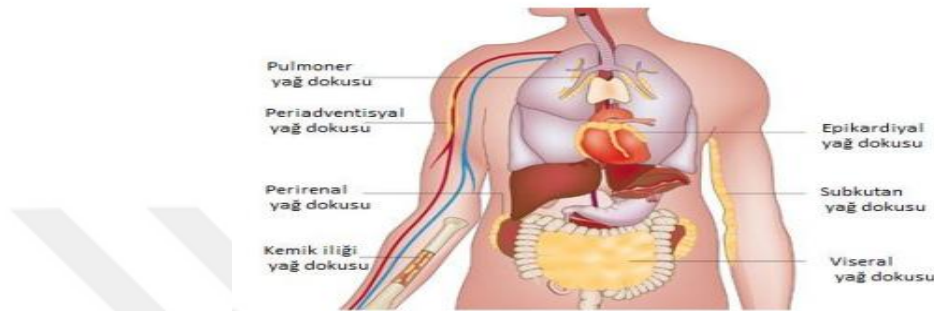
2.7.5. Mezenkimal Kök Hücrelerin Dezavantajı

MKH'lerin en önemli dezavantajı sayılarının çok az olması sebebiyle *in vitro* kültür ortamında haftalarca süren kültürlerde çoğaltılması gereğidir (İşbirlioğlu, 2015). Uzun süren kültür ortamlarında, MKH'lerde meydana gelebilecek hücrenel veya moleküler değişimlerin (onkojenik transformasyon, telomer kısalması, mikroorganizma kontaminasyonu, v.b.) *in vivo*'daki etkilerine dair kesin veriler olmasa bile olası sakıncalar (enfeksiyonlar, kanser gelişimi, v.b.) bilim insanları tarafından endişeyle karşılanmaktadır. İkinci dezavantajı ise, kültürde çoğaltılan hücrelerin hastalarda kullanılmasının uygun bulunması için tüm işlemlerin kabul edilmiş Uluslar Arası standartlarda (GMP, İyi Üretim Uygulamaları) yürütülmesi zorunluluğudur. Bu koşulları sağlayabilecek gerekli alt yapıya sahip laboratuvar sayısı ise oldukça kısıtlıdır. Üçüncü sırada ise, MKH'lerin kültür ortamında çoğaltılmasında kullanılan ürünlerin (serum, v.b.) klinik kullanıma uygun özelliklere sahip olmasında yaşanan zorluklara yer verilmektedir (Erden, 2014).

2.7.6. Adipoz Doku Kökenli Mezenkimal Kök Hücreler (ADMKH)

ADMKH; tipik MKH özelliği taşıyan, plastiğe yapışarak çoğalan, multipotent farklılaşma yetisine sahip hücreler olarak tanımlanmaktadır (Can, 2014). ADMKH erişkin tip kök hücrelere aittirler ve bu nedenle yapılan deneysel ve klinik uygulamaları

embriyonik kök hücrelere göre etik ve yasal tartışmaların dışında kalmıştır. Embriyonik kök hücreler kadar esnek farklılaşma kabiliyetine sahip değildir. Ancak buna karşın ADMKH yağ, sinir, kıkırdak, kas ve kemik dokularına dönüşebilmektedirler (Zuk ve ark., 2001; .Zuk ve Ark., 2002).



Şekil 10. Vücutta Adipoz Doku Lokalizasyonu

Kaynak: Savaş 2016 ss: 10

2.7.7. Adipoz Doku Kökenli Mezenkimal Kök Hücrelerin Avantajları

Atık adipoz dokularından kolay ve tekrarlanabilir biçimde elde edilebilmeleri ve enzime dayalı, karmaşık basamaklar gerektirmeyen izolasyon yöntemleri nedeniyle, bu hücreler kök hücre çalışmalarında birçok avantaja sahiptir (Akgün, 2016). ADMKH kemik iliğinden elde edilen mezenkimal kök hücreler (KiMKH) ile karşılaştırıldıklarında doku kültüründeki davranışları, büyüme hız ve paternleri, morfolojileri ve hücre yüzey profilleri bakımından büyük oranda benzerlikleri olduğu dikkat çekmektedir. İki hücre grubu da farklı anatomik lokalizasyonlardan elde ediliyor olmalarına karşın stromal kökenli (cilt altı yağ dokusu ve kemik iliği yağ dokusu) olmaları sebebiyle bu durum olağan karşılanmaktadır. Bu durum ele alındığında ADMKH'lerin fazla miktarda bulunmaları, kolay elde edilebiliyor olmaları ve geniş alana yayılmış olmaları onları KiMKH'lere kıyasla daha avantajlı hale getirmektedir (Aksu ve Çalış, 2015). Bu hücreler farklı hücre tiplerine dönüştürülebilme özelliğine sahiptirler ve böylece doku mühendisliğinde kullanılmaktadırlar. MKH'leri istenen hücre tiplerine farklılaştırmak için uygulanan çeşitli protokoller mevcuttur. Bazı kimyasal ve fiziksel uygulamaların MKH'lerin farklılaşmasını uyardığı ya da geciktirdiği bilinmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Planı

Bu tez çalışması, Erciyes Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (Karar No: 2019/44) ve Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (Proje Kodu: 9303) onayı ile Betül Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)'nden elde edilen insan adipoz doku kökenli mezenkimal kök hücreler üzerinde gerçekleştirildi.

3.2. Hücrelerin Çözdürülmesi ve Kültüre Alınması

-196°C'lik azot tankından alınan insan kaynaklı ADMKH'ler hızlı bir şekilde 37°C'lik su banyosunda (Memmert Su banyosu) çözdürüldü. Biyogüvenlik kabin (Telstar Clean Air) içinde santrifüje hazırlandı. 300 g.'de 5 dk boyunca santrifüj (Hettich, Rotina 380, Almanya) edildi. Süpernatant uzaklaştırılarak pellet yeniden süspense edildi. Pipetaj sonrası 25 cm²'lik flaska (TPP, İsviçre) ADMKH'ler ekildi. Flask 37°C, % 5 CO₂ içeren inkübatöre kaldırıldı (Sanyo CO₂ İnkübatör, Model: MCO-19AIC (UV), Sanyo Electric, Co., Ltd., Japonya).

3.3. MKH'lerin Karakterizasyonunun Yapılması

Uluslararası Hüresel Terapi Derneği tarafından MKH fenotipini belirlemek için standart olarak kabul edilen CD34, CD45, CD73, CD90 ve CD105 hücre yüzey belirteçleri kullanıldı (Dominici ve ark., 2006). MKH akım sitometri tanımlama kiti (BD, ABD) kullanılarak protokole uygun olarak antikorlar ile inkübe edildi. Protokolde belirtilen talimatlara göre hücreler, ortak MKH belirteçlerinin ifadesi için akış sitometrisi ile incelendi. MKH'lerin değerlendirilmesinde İnsan MKH Analiz Kiti (BD, ABD) kullanıldı. Üretici firmanın vermiş olduğu talimatlara göre hücreler önceden konjuge antikorlarla boyandı. Kısaca, ADMKH' ler 1x 10⁶ hücre konsantrasyonunda 10 dakika süre ile spesifik olmayan bağlanmayı azaltmak amacıyla BD™ Accutase™ Hücre Ayırma Solüsyonu ile inkübe edildi. Daha sonra, MKH-pozitif belirteçler (CD90-FITC, CD105-PerCP-Cy5.5, CD73-APC) ve negatif belirteçler (CD45-PE, CD34-PE,

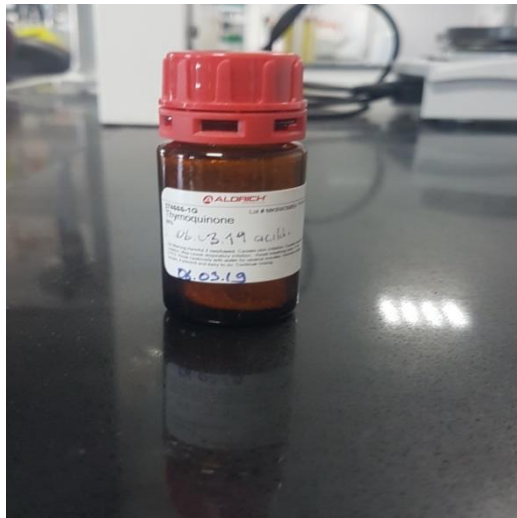
CD11b-PE, CD19-PE, HLA- için antikor kokteyli DR-PE) hücrelere eklendi. 22° C' de 20 dakika inkübasyonunun ardından, fazla antikorları çıkarmak için hücreler BD Pharmingen™ Blot Tamponu (PBS-Cell Wash) ile yıkandı ve BD Pharmingen™ Blot Tamponu (PBS-Cell Wash) içerisinde 300-500 ul'de tekrar süspanse edildi. Ardından akım sitometri cihazında (Beckman Coulter Novios, ABD) görüntülenerek MKH varlığı ve karakterizasyonu yapıldı.

3.4. ADMKH'lerin Pasajlanması ve Hücrelerin Çoğaltılması

Hücreleri flasktan kaldırmak için Tripsin- EDTA (Etilen diamin tetra asetik asit) (Gibco, Kanada) ile muamele edildi. Hücreler %80 doluluk oranına ulaşıncaya tripsinizasyon prosedürüne göre pasajlama işlemi yapıldı. Hücre bu işlem sonunda bir üst pasaja çıkmış oldu ve bu prosedüre göre hücre çoğaltma işlemine devam edildi.

3.5. Timokinonun (TK) Hazırlanması

Toz halinde satın alınan TK'den (Sigma, 274666) 16,4 mg tartılarak, 1000µl (mikrolitre) DMSO (Dimetil sülfoksit) (Sigma, Almanya) içerisinde çözdürüldü. Stok solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan stok solüsyonundan çalışmalarda kullanılmak üzere çalışma solüsyonu hazırlandı.



Şekil 11. Timokinon

3.6. Deney Planı ve Timokinon İle Muamele

İşlemler biyogüvenlik kabini içerisinde, 96'lık steril kuyucuklu tabaka kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir kuyucuğa 5×10^3 hücre ekildi. Kuyucuklu tabakanın tabanında hücrelerin çoğalması için 3 gün etüvde bekletildi. Ardından MTS analizi için kontrol, DMSO ve TK konsantrasyonları (40nM, 50nM, 100nM, 200nM, 300nM, 400nM, 500nM, 600nM) ile 10 grup oluşturuldu. 24 saat inkübe edildi ve MTS testi için ölçümleri yapıldı. Apoptoz ve diferansiyasyon testleri kontrol, DMSO ve düşük, orta, yüksek TK konsantrasyonlarında (50nM, 100nM, 200nM, 300nM,) gerçekleştirildi. TK diferansiyasyon süresi boyunca (kontrol grubu hariç) 3 günde bir mediyuma katıldı.

3.7. Canlılık/Proliferasyon Analizi

Tetrazolyum tuzlarının elektron alarak indirgenmeleri, formazan adı verilen yapıya dönüşmelerini sağlayarak, renk değişikliğini beraberinde getirmektedir. Tetrazolyum halkası ancak aktif mitokondri tarafından kırılabilen ve böylece renk reaksiyonu yalnızca canlı hücrelerde görünmektedir. Ölü hücreler ise tetrazolyum bileşiklerini indirgeme yeteneklerini kaybeder ve böylece herhangi bir renk değişimine neden olmazlar. Bu değişimin, *in vitro* ortamda yalnızca canlı hücreler tarafından yapılabilmesi, tetrazolyum bileşiklerini biyolojik anlamda oldukça önemli kılmaktadır. Tetrazolyum tuzları MTT, XTT, MTS olarak farklı gruplara ayrılır. Biz çalışmamızda MTS testini (Methods For Testing and specification) kullandık. Tetrazolyum bileşikleriyle yapılan proliferasyon testleri, üç aşamadan meydana gelmektedir. İlk aşamada hücreler belirli bir süre araştırılan sitotoksik maddeye maruz bırakılmaktadırlar. İkinci aşamada ise toksik madde uzaklaştırılarak tetrazolyum bileşiği hücrelere eklenmektedir ve ortalama 1-4 saat boyunca inkübe edilmektedir. Bu esnada canlı hücreler ilgili bileşikler indirgenip renk değişimini gerçekleştirmektedir. Son aşamada ise renk değişimi spektrofotometrik yöntemle ölçülerek canlı/ölü hücre sayısı belirlenmektedir. Çalışmamızda kullanılan proliferasyon testi, MTS proliferasyon testi kit (MTS Powder Glomax) protokolüne uygun olarak yapıldı. 5×10^3 hücre ekildi. Hücre %70 konfluensiye ulaştıktan sonra 24. saatte belirlenen dozlarda ilaç uygulandı. Protokole göre kit içeriğinden çıkan MTS/PMS solüsyon 2:1 oranında hazırlanarak hücrelerin üzerine 20µl eklendi ve 3 saat karanlıkta inkübasyona bırakıldı. Sonrasında örneklerin absorbansı Glomax Multi ELISA (Promega, ABD) 450nm'de okundu.



Şekil 12. Elisa Reader

3.8. Apoptoz Testi

Deney biyogüvenlik kabin içinde, 6'lık steril kuyucuklu tabaka kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir kuyucuğa 3×10^3 hücre ekildi. Kuyucuklar 2 kere 1ml(millitre) PBS ile yıkandı. 1 ml tripsinde 3dk bekletildi. Hücreler kaldırıldı. 200 mikrolitre FBS ile inhibe edildi. 300g'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant aspire edildi. 100 mikrolitre PBS, 100 mikrolitre apoptoz kiti (Muse Annexin V Cell Death Kit, ABD) eklendi. 20 dk karanlıkta inkübe edildi Muse cihazında ölçüm yapıldı.



Şekil 13. Muse Cell Analyzer

3.9. Hücre Döngüsü Testi

Deney biyogüvenlik kabin içinde, 6'lık steril kuyucuklu tabaka kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir kuyucuğa 3×10^3 hücre ekildi. Kuyucuklar 2 ml PBS ile 2 kere yıkandı. 1ml tripsin ile kaldırıldı. 200 mikrolitre FBS ile inhibe edildi. 300g'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant aspire edildi. 1ml PBS ile yıkandı. 300ml Cold ETOH eklendi. -20°C 'de overnight bırakıldı. 300 g'de 5dk santrifüj edildi. Süpernatant aspire

edildi. 1ml PBS ile yıkandı. Süpernatant aspire edildi. 200 mikrolitre hücre döngüsü kiti (Muse Cell Cycle Kit, ABD) eklendi. Yarım saat karanlıkta inkübe edildi. Muse cihazında ölçüm yapıldı.

3.10. Farklılaşma Testleri

3.10.1. Adipojenik Farklılaşma

Bu test TK'nin ADMKH'lerin adipojenik farklılaşma sonucunda oluşturdukları yağ damlacıklarına olan etkisini belirlemek için yapıldı. Bu amaçla 3.Pasaja gelmiş hücreler 6 kuyucuklu tabaka kaplarına kuyucuk başına 1×10^4 hücre/cm² olacak şekilde ekildi. Hücreler %90-95 yoğunluğa ulaşıncaya üzerindeki kültür besiyeri çekilerek adipojenik farklılaşmayı indüklemek için adipojenik farklılaştırma besiyeri ile değiştirildi. Bunun için MKH adipojenik indüksiyon besiyeri kiti (PT-3102B, Lonza MD, ABD) ve adipojenik devam besiyeri kiti (PT-3102A, Lonza MD, ABD) kullanıldı. İlk olarak hücreler 3 gün boyunca indüksiyon besiyeri ile kültüre edildi. Bu ticari besiyeri içeriğinde 170 ml Adipojenik İndüksiyon Besiyeri, 2 ml İnsan İnsülini (rekombinant), 4 ml L-Glutamin, 20 ml MCGS, 1 ml Dekametazon, 0,4 ml İndometasin, 0,2 ml IBMX (3-isobutil-1-metil-ksantin), 0,2 ml GA-1000 bulunmaktadır. Sonraki üç gün adipojenik devam besiyeri ile kültüre edildi. Bu ticari besiyeri içeriğinde ise, 170 ml Adipojenik Devam Besiyeri, 20 ml MCGS, 4 ml L-Glutamin, 2 ml İnsan İnsülini (rekombinant) ve 0,2 ml GA-1000 bulunmaktadır. Bu döngü üç günde

bir yeni besiyeri ile değiştirilerek 21 gün boyunca bu şekilde tekrarlandı. TK diferansiyasyon süresi boyunca kültürde 3 günde bir (kontrol grubu hariç) mediyuma eklendi. Daha sonra insan ADMKH'lerin adipojenik farklılaşması sonucu oluşan yağ damlacıkları Adipo Red Assay Kit (PT-7009, Lonza, ABD) kullanılarak gösterildi. Kit protokolüne göre, 6 kuyucuklu kültür kapları içerisinde farklılaşan yağ damlacıklarının yerinden oynamaması için besiyeri yavaşça çekildi. PBS ile iki kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 140µl/kuyucuk olacak şekilde Adipo Red kit boyası eklendi. Hücreler oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. Ardından İvert mikroskop (Leica DMI 3000, Leica Microsystems, Almanya) altında yağ damlacıkları turuncu-kırmızı renkte gözlemlendi.



Şekil 14. Adipojenik Farklılaşma Kiti

3.10.2. Osteojenik Farklılaşma

Bu test ile TK'nin ADMKH'lerin osteojenik farklılaşması sonucunda hücre içerisinde oluşan kalsiyum depolarına olan etkisi belirlendi. Bunun için 3.pasaja gelmiş hücreler 6 kuyucuklu tabaka kaplarına kuyucuk başına 1×10^4 hücre/cm² olacak şekilde ekildi ve hücreler %90-95 yoğunluğa ulaşıncaya besiyeri osteojenik farklılaştırma besiyeri (PT 3002, Lonza, ABD) ile değiştirildi ve hücreler osteojenik olarak farklılaşması için uyarıldı. Besiyeri haftada en az iki kere değiştirilerek bu işlem 21 gün boyunca tekrarlandı. TK diferansiyasyon süresi boyunca her mediyum değişiminde (kontrol grubu hariç) yeni mediyuma eklendi. 21 gün sonunda hücrelerdeki kalsiyum depolarının morfolojik olarak invert mikroskopta görüntülenebilmesi için %1'lik Alizarin Red boyası (A5533, Sigma-Aldrich, ABD) kullanıldı. Boyama işlemi için hücreler üzerinde bulunan farklılaşma besiyeri çekilerek hücreler iki kez PBS ile yıkandı. Kuyucuk başına %70 metanolden 2-3 ml eklendi. 5 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. PBS ile üç kez yıkanarak her bir kuyucuğa %1 lik Alizarin Red ilave edildi. 20 dk oda sıcaklığında inkübe edildi ve İvert mikroskop altında görüntüledi.



Şekil 15. Osteojenik Farklılaşma Kiti

3.10.3. Kondrojenik Farklılaşma

Bu test ile üç boyutlu farklılaştırma sonucu oluşan kıkırdak yapı taşı agregan proteoglikanları gösterildi. 3. pasaja gelmiş hücreler her tüpte 3×10^5 hücre olacak şekilde 15 ml'lik konik tüp içerisine alındı ve santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında süpernatant atılarak kondrojenik farklılaşma besiyeri (PT-3003, Lonza, ABD) eklendi. Besiyeri içeriğinde; 185 ml Kondrojenik Farklılaştırma Bazal Besiyeri, 2 ml ITS+ tamamlayıcı, 2 ml Prolin, 2 ml Sodyum prüvat, 4 ml L-Glutamin, 2 ml Askorbat, 1 ml Deksametazon, 0,2 ml GA-1000, $2 \mu\text{g}$ TGF- β 3 bulunmaktadır. Haftada en az iki kez besiyeri değiştirilerek 21 gün boyunca hücreler kondrosite dönüşmesi için uyarıldı. TK diferansiyasyon süresi boyunca değiştirilen mediyuma (kontrol grubu hariç) eklendi. Oluşan proteoglikanları görüntülemek için kondrojenik pelletler konik falkondan alınarak kriyomatriks içerisine gömüldü.



Şekil 16. Kondrojenik Farklılaşma Kiti

Alcian Blue Boyama

Kriyomatriks içine gömülen kırık dokularından 7µm kalınlığında alınan frozen kesitler, 10 dk oda koşullarında bekletildikten sonra asetonda 10 dk fikse edildi. PBS (Phosphate Buffer Saline) ile 2 kez 5 dk yıkanan kesitler etanol asetik asit (2:1) içinde 5 dk bekletildi. Daha sonra kesitler distile su ile 2 kez 5 dk yıkandı. Yıkama aşamasından sonra Alcian blue'de 10 dk bekletildi. Alcian blue ile boyanan kesitler distile su ile 2 kez 5 dk yıkanarak su bazlı kapatıcı ile kapatıldı.

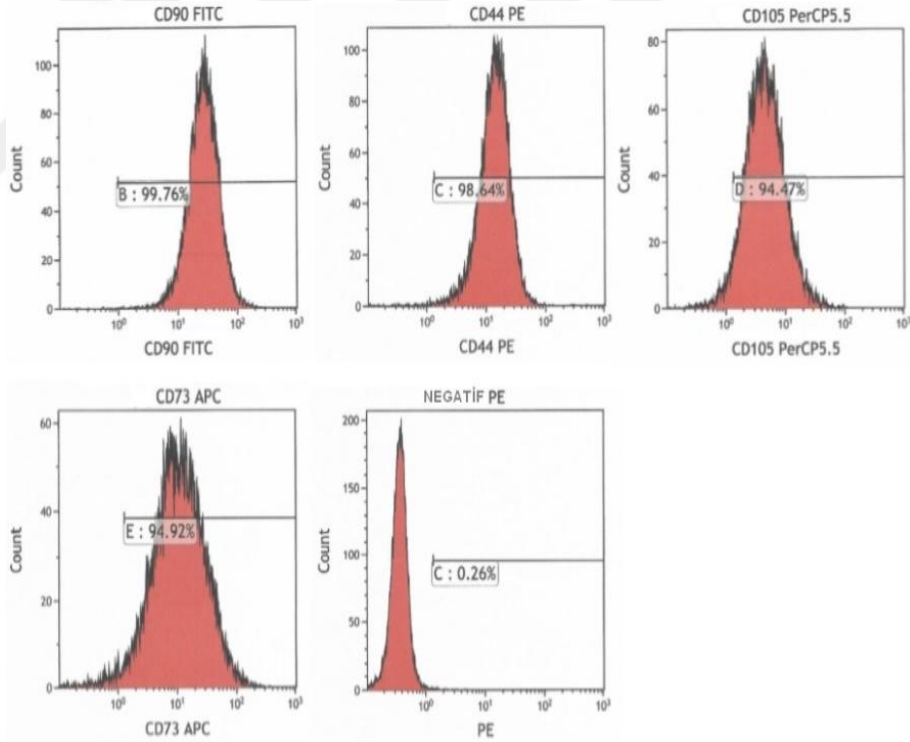
3.11. İstatiksel Analiz

Çalışmanın istatiksel analizleri GraphPad Prism V8.02 programı kullanılarak yapıldı. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verildi. İkili karşılaştırmalarda t testi, çoklu karşılaştırmalarda ise ANOVA testi kullanıldı. $P < 0.05$ 'in altındaki değerler anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. MKH'lerin Karakterizasyonu

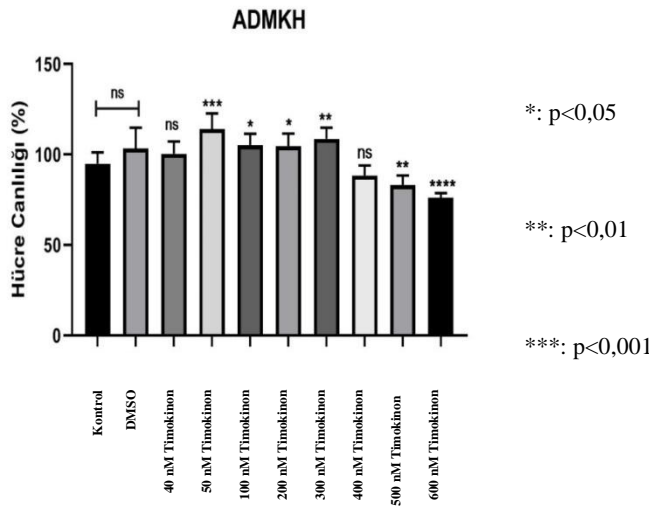
Yapılan akım sitometri ile karakterizasyon sonucu ADMKH'lerin negatif kokteyl olan CD19, CD34, CD45, CD11b, HLA-DR yüzey belirteçlerini eksprese etmezken (%0.26); CD44 (%98,64), CD73 (%94,92), CD90 (99,76), CD105 (94,47) yüzey belirteçlerini eksprese ettiği belirlendi. Mezenkimal kök hücrelerin çözülerek kültüre alınmasının immünofenotipik karakterini değiştirmediği tespit edildi.



Şekil 17. Adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücre karakterizasyonu ve negatif-pozitif yüzey belirteçleri

4.2. Canlılık/Proliferasyon Analizi

TK'nin hücre canlılığı üzerindeki etkisini tesbit edebilmek için yapılan MTS proliferasyon deneyinde kontrol grubu ile DMSO grubu karşılaştırıldığında gruplar arasında herhangi bir fark bulunamadı ($p=0,1251$). Farklı konsantrasyonlarda TK eklenen hücre gruplarımız kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 40nM TK eklenen grupta anlamlılık görülmedi ($p= 0,1598$). Kontrol grubu ile 50nM TK eklenen grup karşılaştırıldığında anlamlı fark bulundu ($p= 0,0007$). Kontrol grubu ile 100nM TK eklenen grup karşılaştırıldığında anlamlı fark bulundu ($p= 0,0155$). Kontrol grubu ile 200nM TK eklenen grup karşılaştırıldığında anlamlı fark bulundu ($p= 0,0239$). Kontrol grubu ile 300nM TK eklenen grup karşılaştırıldığında anlamlı fark bulundu ($p= 0,0047$). Kontrol grubumuz ile 400nM, 500nM, 600nM TK konsantrasyonları karşılaştırıldığında hücre canlılığında azalma olduğu gözlemlendi (P değerleri sırasıyla: 0,0791; 0,0028; $<0,0001$). 50nM konsantrasyonda TK'nın anlamlı olarak hücre canlılığını artırdığı gözlemlendi. Konsantrasyonlarımızda 50nM, 100nM, 200nM ve 300nM TK dozlarının hücre canlılığını artırdığı gözlemlendi ve bu sebeple sonrasında yapılacak diğer deneylerimizde bu konsantrasyonların uygulanmasına karar verildi.

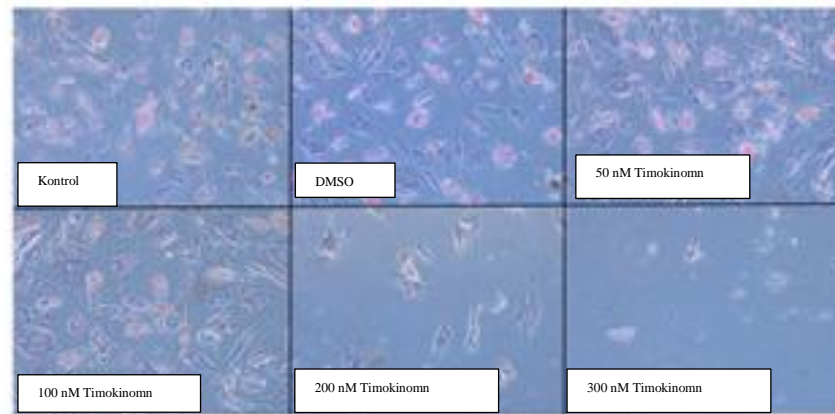


Şekil 18. Timokininun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen hücre canlılık/proliferasyon oranları

4.3. Farklılaşma Testleri

4.3.1. Adipojenik Farklılaşma

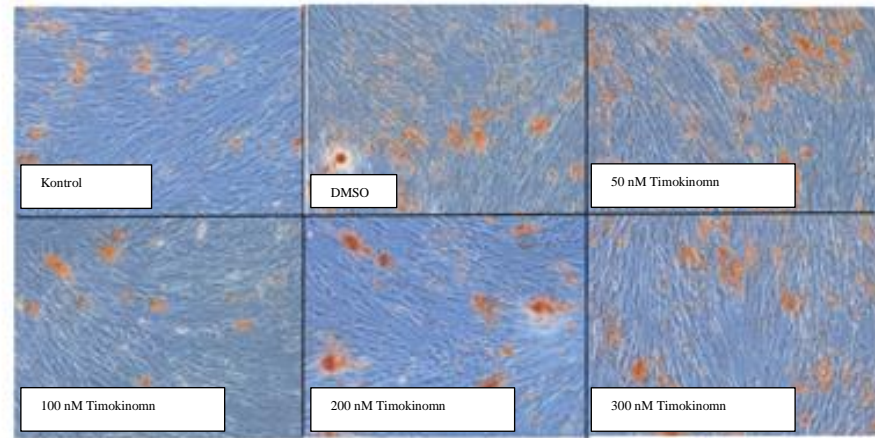
Yağ damlacıkları hücrelerin kendinden adipojenik farklılaşmaya gittiğini belirtmektedir. Çalışmamızda TK'nin düşük dozlarında adipojenik farklılaşmanın korunduğu ancak yüksek konsantrasyonlar farklılaşmanın bozulduğu tespit edildi. Görüntülemelerde 10x büyütme, İvert mikroskop kullanıldı.



Şekil 19. Timokinonun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen adipojenik farklılaşma bulguları, 10x büyütme, İvert mikroskop (Leica, Almanya)

4.3.2. Osteojenik Farklılaşma

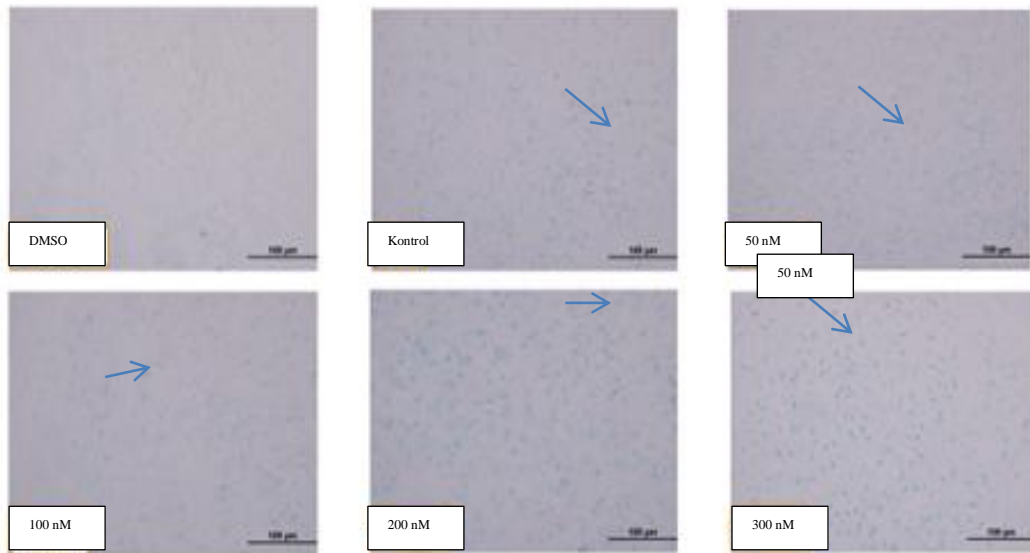
Çalışmamızda osteojenik farklılaştırma deneyinde 21 günün sonunda TK eklenen tüm gruplarda osteojenik farklılaşmanın korunduğu ancak; hücrelerin 50nM ve 300nM TK etkisinde kontrole göre daha yoğun bir şekilde kalsiyum depoziti oluşturduğu gözlemlendi. Görüntülemelerde 10x büyütme, İvert mikroskop kullanıldı.



Şekil 20. Timokinonun farklı dozlarda adipöz doku kaynaklı mezenkimal kök hücelere uygulanması sonucu elde edilen osteojenik farklılaşma bulguları, 10x büyütme, İnvirt mikroskop (Leica, Almanya)

4.3.3.Kondrojenik Farklılaşma

Kondrojenik farklılaşma deneyi sonunda TK eklenen gruplarda kondrojenik farklılaşmanın kontrole göre daha belirgin olduğu görüldü. Yüksek konsantrasyonlara çıkıldıkça kondrojenik farklılaşmada artış gözlemlendi.



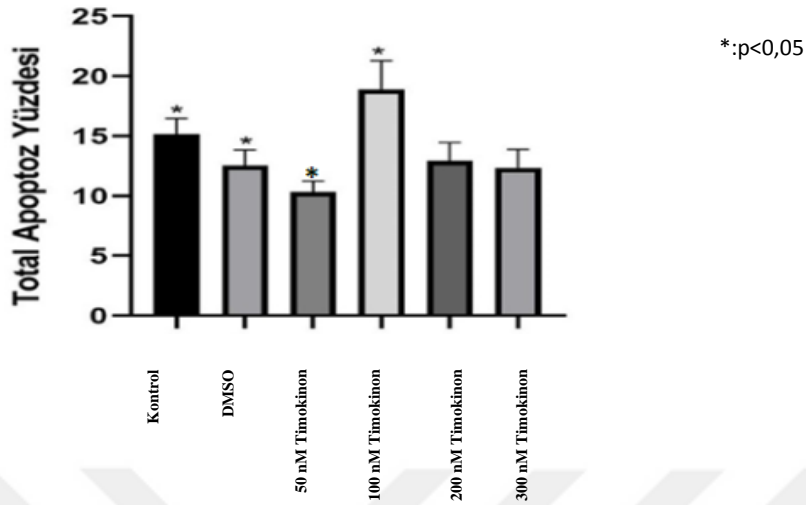
Şekil 21. Timokinonun farklı dozlarda adipöz doku kaynaklı mezenkimal kök hücelere uygulanması sonucu elde edilen kondrojenik farklılaşma bulguları.(Yeşil ile boyanan kırıktrak hücreleri ok ile gösterildi; hücreler arasında kalan alan kırıktrak matriksi)

4.5. Apoptoz Testi

Yapılan istatistik analizinde gruplar arası yapılan karşılaştırmada erken, geç ve total apoptoz yüzdeleri ortalama±standart sapma olarak verildi. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada erken apoptoz yüzdesi en düşük 50nM TK uygulanan grupta en yüksek ise 100nM TK uygulanan grupta bulundu ($P<0.05$). Total apoptoz yüzdesi gruplar arası karşılaştırmada en yüksek 100nM TK grubunda bulunmuş olup gruplar arası anlamlı fark bulundu ($P<0.05$). Gruplar arası yapılan karşılaştırmada 50nM TK uygulanan grupta total apoptoz yüzdesinin anlamlı şekilde azaldığı; ancak 100 nM TK uygulanan grupta da anlamlı şekilde arttığı bulundu ($P<0.05$).

Tablo 4. Timokinonun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen total apoptoz % ort± standart sapma değerleri

Örnekler	Total Apoptoz % ort± Standart Sapma
Kontrol	15,15±1,07
DMSO	12,53±1,07
50nM Timokinon	10,31±0,75
100nM Timokinon	18,9±1,93
200nM Timokinon	12,93±1,23
300nM Timokinon	12,35±1.25



Şekil 22. Timokininun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücelere uygulanması sonucu elde edilen total apoptoz % oranları

4.6. Hücre Döngüsü Testi

Yapılan istatistiksel analizde gruplar arası yapılan karşılaştırmada hücre döngüsü yüzdeleri ortalama±standart sapma olarak verildi. Gruplar arası yapılan karşılaştırmada G0/G1 fazında kontrol grubu ile farklı TK ilave edilen her bir grup arasında anlamlı fark bulundu ($P<0.05$). DMSO ve 50nM TK grubu ile DMSO ve 200nM TK grupları arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$). S fazında ise sadece kontrol grubu ile 300nM TK grubu arasında anlamlı fark bulundu.

G2/M fazında DMSO grubu ile 50nM, 100nM, 200nM ve 300nM TK grupları arasında fark bulunurken, kontrol grubu ile DMSO, 50nM, 100nM, 200nM ve 300nM TK grupları arasında anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 5. Timokinonun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen G0/G1 evresi hücre % ort± standart sapma değerleri

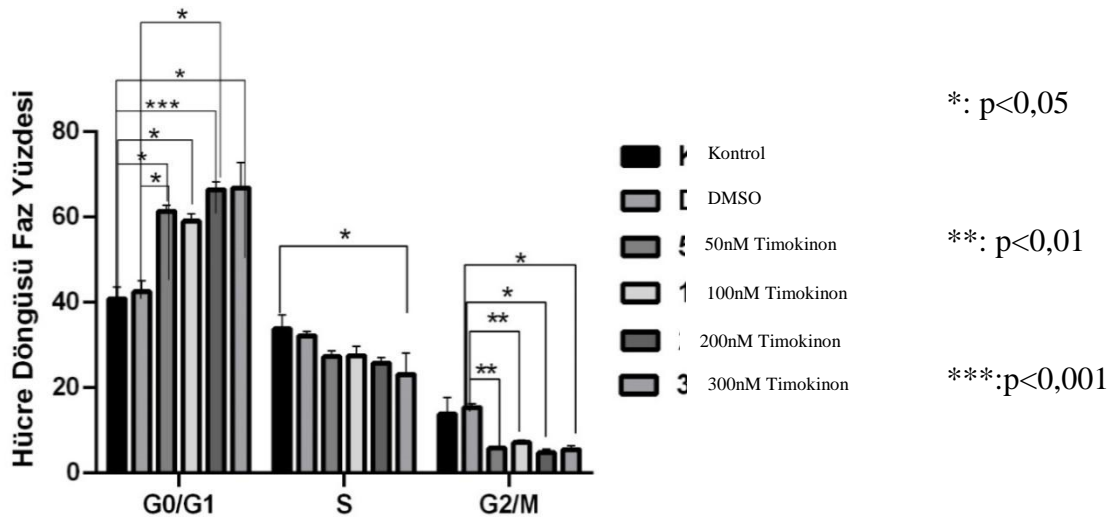
Örnekler	G0/G1 Evresi Hücre % ort± Standart Sapma
Kontrol	40,83±2,23
DMSO	42,46±2,12
50nM Timokinon	61,36±1,17
100nM Timokinon	59,06±1,39
200nM Timokinon	66,4±1,57
300nM Timokinon	66,83±4,91

Tablo 6. Timokinonun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen S evresi hücre % ort± standart sapma değerleri

Örnekler	S Evresi Hücre % ort± Standart Sapma
Kontrol	35,7±0,6
DMSO	32,65±0,65
50nM Timokinon	26,9±2,55
100nM Timokinon	27,5±2
200nM Timokinon	25,7±0,5
300nM Timokinon	25±0,9

Tablo 7. Timokinonun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelere uygulanması sonucu elde edilen G2/M evresi hücre % ort± standart sapma değerleri

Örnekler	G2/M Evresi Hücre % ort± Standart Sapma
Kontrol	13,83±3,16
DMSO	15,36±0,7
50nM Timokinon	5,8±0,40
100nM Timokinon	7,2±0,45
200nM Timokinon	4,76±0,65
300nM Timokinon	5,5±0,77



Şekil 25. Timokininun farklı dozlarda adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücelere uygulanması sonucu elde edilen hücre döngüsü faz % oranları

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Timokinon çörek otu uçucu yağında bulunan en önemli biyoaktif bileşen olarak tanımlanmıştır (Goyal ve ark., 2017). Literatürde TK'nın sitoprotektif etki, antiinflamatuvar etki, antidiabetik etki ve antikanserojenik etki gibi dokuya yararlı pek çok özelliğe sahip olduğu ortaya konmuştur. Kök hücreler; sınırsız çoğalabilme, kendilerini yenileyebilme, kendilerinden başka hücelere farklılaşabilme, hasarlı dokuya verildiğinde dokuyu onarabilme özellikleri ile tanımlanan hücre tipidir (Tekeli, 2016). TK'nın biyolojik ve farmakolojik özellikleri üzerine yapılan kapsamlı çalışmalarda dokuya yararlı bir etken madde olduğu gösterilmesine rağmen, kök hücreleri üzerindeki etkisi henüz tam anlamıyla açıklığa kavuşturulmamıştır (Alimoradi ve ark., 2018).

TK'nın glial hücrelerde proliferasyon/apoptoz üzerine etkisi ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada akrilamit ile muamele edilen hücrelerde önce verilen TK'nın C6 hücrelerinde akrilamitin toksik etkilerini azaltarak otofajik, oksidatif, apoptotik ve morfolojik açıdan koruma sağladığı ortaya konmuştur (Kaçar 2020). Bu çalışmada C6 hücrelerinin canlılığının akrilamit verilmesiyle %62 oranında azalırken önceden TK verilmesiyle %85'e kadar arttığı gözlenmiştir. TK'nın akrilamit ile indüklenen apoptozu engellediği ve akrilamit toksisitesine karşı koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir (Kaçar 2020). Bizim çalışmamızda da TK'nın MTS'de kök hücrelerin proliferasyonunu artırdığı, ayrıca düşük dozda apoptozu da önleyerek hücrelerin daha uzun süre canlı kalmasına sebep olduğu gözlemlendi. Ayrıca bölünme üzerine olumsuz etkisinin olmadığı da görüldü. Buradan yola çıkarak, kök hücelere zarar verebilecek durumlarda TK'nın bu etkisiyle kök hücreleri de koruyabileceğini düşünüyoruz. Alhebshi ve arkadaşlarının (2013) çalışmalarında ise 72 saat boyunca verilen TK'nın primer nöron kültüründe amiloid- β kaynaklı nörotoksositeye karşı koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir (Alhebshi ve ark., 2013). Amiloid- β kaynaklı nörotoksositeye karşı TK'nın koruyucu etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise nörotoksosite oluşturulmadan önce verilen TK'nın amiloid- β

kaynaklı apoptozu engellediği gösterilmiştir (Ismail ve ark., 2013). Fouda ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada ise insan lenfosit kültüründe benzo(a)piren ve mitomisin C kaynaklı genotoksisiteye karşı verilen TK'nin doza bağlı koruyucu etkide bulunduğu gösterilmiştir (Fouda ve ark.,2014). Mousavi ve arkadaşları da TK'nin, aç bırakılarak strese sokulan feokromositoma hücrelerinde koruyucu etki oluşturduğunu ortaya koymuştur (Mousavi ve ark., 2010). Bir başka çalışmada ise Radad ve arkadaşları TK'nin primer mezensefalik hücre kültüründe 1-metil-4-metilfenilpiridinyum kaynaklı dopaminerjik hücre ölümüne karşı nöroprotektif etkisi gösterdiğini bulmuşlardır (Radad ve ark., 2015). Biz de çalışmamızda özellikle 50nM konsantrasyonda uygulanan TK'nin, anlamlı olarak hücre canlılığını artırdığını gözlemledik. Ayrıca gruplar arası yapılan karşılaştırmada 50nM TK uygulanan grupta apoptoz yüzdesinin de anlamlı şekilde azaldığını ($P<0.05$) ve hücre döngüsünün de olumsuz yönde etkilenmediğini bulduk. Bu sonuçlar da göstermektedir ki TK dokuda hem kök hücrelerin canlılıklarını artırarak hem de apoptoza uğramalarını engelleyerek hücre yenilenmesine katkıda bulunmaktadır. TK ile *in vivo* yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. TK'nin hem sisplatinin hem de amikasinin oluşturduğu ototoksiteye karşı intraperitoneal uygulandığında etkili olduğu gösterilmiştir (Sağıt ve ark, 2013; Aksoy ve ark., 2015). Bununla birlikte literatürde kanser hücreleri ile yapılan çalışmalarda TK'nin normal hücrelerde canlılığı artırıp apoptozu azaltırken, kanser hücrelerinde hücre canlılığını azaltıp apoptozu artırdığı ortaya konmuştur. Meme kanseri hücre hatları ile yapılan çalışmalarda TK'nin triple negatif meme kanserlerinde proliferasyonu, migrasyonu ve koloni oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (Ünal ve ark., 2020). Ayrıca kolon kanserlerinde kanser hücrelerinin tedavi ajanlarına olan hassasiyetini de artırdığı gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2016). Bu nedenlerden dolayı TK'nin hem kanser hücreleri üzerindeki toksik etkisi bulunması hem de ilaçların etkinliğini artırıcı etki göstermesi sebebiyle tedavide kullanılabileceği öne sürülmektedir (Imran ve ark., 2018). Tüm bu çalışmalarda TK'nin sağlıklı hücrelerde çoğalmayı artırdığı ve hücreleri olası toksik etkilerden koruduğu, hastalıklı hücrelerde ise apoptozu artırarak hücre canlılığını azalttığı gösterilmiştir. TK'nin bu koruyucu etkilerini kök hücreler üzerinden mi yaptığı konusunda literatürde herhangi bir bilgi bulunmama ile birlikte son zamanlarda yayınlanan bir çalışmada farelerden elde edilen kemik iliği kökenli MKH'lerde TK'nin antioksidan ve immunregülatör etkisi ortaya konmuştur. Söz konusu çalışmada bizim çalışmamızla da uyumlu olarak yüksek

dozlarda TK'nin hücre proliferasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Rezanei ve ark., 2020). Ancak bizim çalışmamızda TK'nin daha düşük dozları da kullanılmış olup TK'nin düşük dozlarda MKH'laren proliferasyonunu artırıcı etkisi de ortaya konmuştur. Literatürde TK'nin insan kaynaklı kök hücreler üzerindeki etkisi ile ilgili olarak sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamız bu yönüyle literatürde önemli bir araştırma konusunun kapısını aralamaktadır.

Yapılan bir çalışmada TK'nin osteoblastlar üzerinde osteojenik farklılaşmayı hızlandırıcı etki ettiği gösterilmiştir (Wirries ve ark., 2013). Söz konusu çalışmada TK'nin erken, orta ve geç dönemlere ait farklılaşma belirteçlerinin ekspresyonunu artırdığı dolayısıyla farklılaşma sürecinin erken aşamasından son aşamasına kadar çeşitli seviyelerde müdahale için kullanıma uygun olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, TK toksik olmaması sebebiyle büyük potansiyel taşıyan umut verici bir doğal tedavi ajanı olarak kabul edilirken osteoporozun önlenmesinde ve tedavisinde kullanımında yan etkilerinin az olduğu ya da hiç olmadığı da gösterilmiştir (Wirries ve ark., 2013). Yapılan *in vivo* bir çalışmada da benzer sonuçlar ortaya konmuştur. Arslan ve ark, sistemik olarak uygulanan TK'nin ratlarda ameliyat sonrası kemik yapımını belirgin şekilde artırdığını ve kontrol grubuna kıyasla defektlerin tamamında kapanma görüldüğünü belirtmişlerdir (Arslan ve ark, 2017). Bu çalışmalar TK'nin hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak kemik yapımını aktive ettiğini ortaya koymaktadır; ancak bunu nasıl yaptığı tam olarak bilinmemektedir. Mendi'nin yaptığı bir çalışmada TK'nin kök hücrelerin osteojenik farklılaşmasına etkisi araştırılmıştır. Diş pulpasından elde edilen mezenkimal kök hücreleri ile yapılan bu çalışmada TK'nin kök hücreleri osteojenik farklılaşma yönünde uyardığı ve farklılaşmayı artırdığı ortaya konmuştur (Mendi, 2018). Bununla birlikte söz konusu çalışmada TK'nin osteojenik farklılaşma üzerindeki etkisi net olarak gösterilirken adipojenik ve kondrojenik farklılaşmaya olumlu etkisi gösterilememiştir. Bizim çalışmamızda ise ADMKH'lerde TK'nin etkisi araştırılmış olup söz konusu çalışmaya benzer şekilde TK uygulanan gruplarda daha yoğun bir şekilde kalsiyum depoziti olduğu ve osteojenik farklılaşmanın kontrol grubuna kıyasla arttığı gözlenmiştir. Arslan ve arkadaşlarının çalışmasının aksine bizim çalışmamızda ADMKH'lerde TK'nin kondrojenik farklılaşmayı da doza bağlı olarak artırdığı gözlemlendi. Osteoblast ve kondroblastlar, ortopedide yeni üretilen biyomalzemelerin biyolojik etkilerini incelemeye kullanılmaktadır. MKH'ler, özellikle bağ doku kökenli hücrelere kolayca farklılaşma özelliğinden dolayı kemik, kırıkta defektleri onarımı

için uygun gözükmetedir. TK'nin de kemik ve kırıldak defektleri üzerine olumlu etki gösterdiği zaten bilinmektedir (Yaşar, 2014). Biz de çalışmamızda TK'nin ADMKH'lerin osteojenik ve kondrojenik farklılaşması üzerine olumlu etkisini ortaya koyduk. Böylece TK'nin rejeneratif tıp uygulamaları alanında da kullanılabilme potansiyeli taşıdığına dikkat çekiyoruz.

İnsandaki farklı MKH kaynakları kullanılarak yapılan bir çalışmada; adipoz doku, göbek kordon-warthon jeli, kıl folikülü, süt ve 20 yaş dışı kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin farklılaşma potansiyelleri karşılaştırıldığında ADMKH'lerin adipojenik farklılaşmada en iyi sonucu verdiği, bunun da soya özgü faktörlerin soya özgü farklılaşmayı desteklemesi şeklinde açıklanabileceği belirtilmiştir (Erman, 2018). Literatürde TK'nin bir yandan matür adipositlerde lipid içeriğini ve hücre boyutunu azaltarak sağlıklı adipositleri koruduğu belirtilirken; immatür hücrelerde adipogenez uyardığı bildirilmektedir (Licari ve ark, 2019; Shen ve ark, 2020; Benhaddou-Andaloussi ve ark, 2008). Bizim çalışmamızda da TK'nin adiposit farklılaşmasına düşük dozlarda olumsuz herhangi bir etkisinin olmadığı bilakis TK uygulanan gruplarda daha fazla yağ damlacıkları oluştuğu gözlemlendi.

Sonuç olarak timokinonun adipoz doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinin çoğalmasına ve farklılaşmasına etkisini araştırdığımız çalışmamızda timokinonun kök hücrelerinin çoğalmasını artırdığı; ve hücrelerin adipojenik, kondrojenik ve osteojenik farklılaşmasına olumsuz bir etkisinin olmayıp aksine farklılaşmayı desteklediğini ortaya koyduk. Bu yönüyle hem kök hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını uyarıcı etkisi hem de hücreleri koruyucu etkisi sebebiyle; yapılacak daha ayrıntılı çalışmaların da katkısıyla birlikte timokinonun mezenkimal kök hücrelerinin rejeneratif tıp uygulamalarında önemli bir kullanım alanına sahip olabileceğini düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

- 2012.Les cellules souches.<http://www.sciencesessonne.fr/%3FLes-cellules-souches>. Erişim Tarihi: 19 Ekim 2020.
- 2012.TheAtlantic.<http://www.theatlantic.com/health/archive/2012/12/2013-year-of-the-stem-cell/266574/>. 19 Ekim 2020.
2014. <http://www.irc.ca/2014/09/percee-mondiale-une-nouvelle-moleculepermettant-daugmenter-les-greffes-de-cellules-souches/>. 17 Ekim 2020.
2014. <http://www.sciencesetavenir.fr/sante/20140130.OBS4442/une-nouvelleme>. 17 Ekim 2020.
- 2014.Santelog.http://www.santelog.com/modules/connaissances/actualites-santerecherche.php?mot_rech=souche&zone_rech=titre. 17 Ekim 2020.
- Ahmad I, Muneer KM, Tamimi IA, Chang ME, Ata MO, & Yusuf N. Thymoquinone supresses metastasis of melanoma cells by inhibition of NLRP3 inflammasome. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2013; 270, 70-76.
- Akgün I. Mezenkimal Kök Hücre. *FNG & Bilim Tranplant Dergisi*, 2016; 1(1):29-32.
- Aksoy F, Doğan R, Özturan O, Tuğrul S, Veyseller B, Özer OF, Pektaş A. An Evaluation of the Protective Effects of Thymoquinone on Amikacin-Induced Ototoxicity in Rats. *Clin Exp Otorhinolaryngol*, 2015; Dec;8(4):312-9.
- Aksu AE, Çalış M. Yağ Dokusundan Elde Edilen Mezenkimal Kök Hücreler ve Stromal Vasküler Fraksiyon Konsepti. *Türkiye Klinikleri J Plast Surg-Special Topics*, 2015; 4(3).
- Alhebshi AH, Gotoh M, & Suzuki I. Thymoquinone protects cultured rat primary neurons against amyloid β -induced neurotoxicity. *BBRC*, 2013; 433(4), 362-367.
- Alhebshi AH, Odawara A, Gotoh M, & Suzuki I. Thymoquinone protects cultured hippocampal and human induced pluripotent stem cells-derived neurons

- against alpha-synuclein-induced synapse damage. *Neurosci Lett*, 2014; 570, 126-131.
- Alimoradi E, Sisakhtnezhad S, Akrami H. Thymoquinone Influences The Expression Of Genes Involved In Self-Renewal and Immunomodulatory Potential Of Mouse Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells *In Vitro*. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2018; 216-224.
- Altındağ F. Prenatal Uygulanan Diklofenak Sodyum ve Timokinonun Postnatal Sıçan Testis Histolojisine Etkilerinin Stereolojik Yöntemlerle Araştırılması, Doktora Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van 2018.
- Arslan AH, Tomruk CÖ, Meydanlı EG, Özdemir İ, Çapar GD, Kütan E, Yılmaz A and Ülker GMY Histopathological evaluation of the effect of systemic thymoquinone administration on healing of bone defects in rat tibia, *Biotechnol Biotechnol Equip*, 2017; 31:1, 175-181.
- Ateş U. Kök Hücreyi Tanıyalım. *FNG & Bilim Tıp Transplant Dergisi*, 2016; 1(1):19-28.
- Aydoğan T. Timokinon Tedavisinin Sporadik Alzheimer Modeli Oluşturulmuş Sıçan Beyin Dokusundaki Mikrona ve Mrna Ekspresyonu Üzerindeki Etkisinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2017.
- Ayhan B. *Nigella sativa* L. bitkisi üzerine fitoterapötik çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2012.
- Benhaddou-Andaloussi A, Martineau LC, Spoor D, et al. Antidiabetic Activity Of *Nigella Sativa* Seed Extract In Cultured Pancreatic Cells, Skeletal Muscle, And Adipocytes. *Pharm Biol*, 2008; 46:96-104.
- Bongso A, & Fong CY. Human embryonic stem cells: their nature, properties, and uses. In *Trends in Stem Cell Biology and Technology* Humana Press, 2009; 1-17.
- Bulca S. Çörek Otunun Bileşenleri ve Bu Yağın ve Diğer Bazı Uçucu Yağların Antioksidan Olarak Gıda Teknolojisinde Kullanımı. *ADÜ ZİRAAT DERG*, 2014; 11(2) : 29 – 36.
- Can A. Kök Hücre Biyolojisi, Türleri ve Tedavide Kullanımları. Akademisyen Tıp Kitapevi. Ankara 2014.
- Cannazık O, Polat B. Kök Hücre ve Veteriner Hekimlikte Uygulama Alanları. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg*, 2014; 9(3): 198-205.

- Çekiç D. Yağdan Elde Edilen Mezenkimal Kök Hücrelerin Yağ Hücrelerine Diferansiyasyonu ve Proliferasyonu Üzerine Kitosan Doku İskelesinin Etkisi, Uzmanlık Tezi, Mersin Üniversitesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Mersin, 2019.
- Dominici MLBK, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Krause, DS, & Horwitz EM. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytherapy*, 2006; 8(4), 315-317.
- Engels G, Brinckmann J. Nigella sativa family: Ranunculaceae. *The Journal of ABC*, 2017; 114, 8-16.
- Erdal Y, Seçkin UD. Klinik Çalışmalar Açısından Güncel Mezenkimal Kök Hücre Uygulamaları. *FNG & Bilim Tıp Transplant. Dergisi*, 2017; 2(2): 52-55.
- Erden S. Kök Hücreler ve Klinikte Kullanımları. *Journal of New Results in Engineering and Natural Science*, 2014; (3): 1-8.
- Erden S. Kök Hücreleri ve Klinik Uygulamaları. *JRENS*, 2014; (3), 1-8.
- Erman G. Farklı İnsan Dokularından Elde Edilen Mezenkimal Kök Hücrelerin Farklılaşma Potansiyellerinin İmmünofenotipik Ve Gen Ekspresyon Düzeyinde İncelenmesi, Bilim Uzmanlığı Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2018.
- Ertepe- Küçükgöde G. Kök Hücre Ürünündeki CD34+ Hücre Alt Grupları ve Engraftman İle İlişkisi, Tıpta Uzmanlık, Ankara Üniversitesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, 2019.
- Fouda AMM, Daba MHY, & Yousef-Ahmed AR. Antigenotoxic effects of thymoquinone against benzo [a] pyrene and mitomycin C-induced genotoxicity in cultured human lymphocytes. *Research in Immunology: An International Journal*, 2014; 535279.
- Genç D. Dental Folikül Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerin (Df-Mkh) Ev Tozuna Duyarlı Astım Hastalarından Elde Edilen Naive T Lenfositlerin *In Vitro* Th1 Ve Th2 Farklılaşması Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2018;3.
- Govindan R, Kumar V, Sisodia S, & Mallick PJ. Molecular interactions in stem cell homing and bone marrow transplantation therapy. *Int J Pharm*, 2012;3(4), 210-3.

- Goyal SN, Prajapati CP, Gore PR, Patil CR, Mahajan UB, Sharma C, Talla SP, Ojha SK. Therapeutic potential and pharmaceutical development of thymoquinone: a multitargeted molecule of natural origin. *FRONT PHARMACOL*, 2017; 8, 656.
- Gözen A, Ünsal SŞ, Gökalp MA. Ortopedide Mezenkimal Kök Hücre Uygulamaları. *VAN TIP DERG*, 2015; 22(2): 131-137.
- Güllü EB, Avcı G. Timokinon: Nigella Sativa'nın Biyoaktif Komponenti. *Kocatepe Vet J*, 2013; 6(1): 51 – 61.
- Güzelsoy P, Aydın S, Başaran N. Çörek otunun (Nigella sativa L.) aktif bileşeni timokinonun insan sağlığı üzerine olası etkileri. *J Lit Pharm Sci*, 2018; 7(2), 118-135.
- Hosseinkhani H, & Hosseinkhani M. Tissue engineered Scaffolds for stem cells and regenerative medicine. In *Trends in Stem Cell Biology and Technology Humana Press*, 2009; 367-387.
- <https://www.frozenseeds.com/products/black-cumin-seeds-nigella-sativa>. Erişim Tarihi: 12 Ekim 2020.
- <https://www.medikalakademi.com.tr/corek-otu-nedir-faydalari-nelerdir-hangi-hastalıklara-iyi-gelir/>. Erişim Tarihi: 12 Ekim 2020.
- Imran M, Rauf A, Khan IA, Shahbaz M, Qaisrani TB, Fatmawati S, Abu-Izneid T, Imran A, Rahman KU, Gondal TA. Thymoquinone: A novel strategy to combat cancer: A review, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018;106: 390-402.
- Islam MT, Sultana N, Riaz TA, Ferdous J, Guha B, Mohagon S, ... & de Carvalho Melo-Cavalcante AA. Thymoquinone is knocking at the door of clinical trial. *International Archives of Medicine*, 2016; (9).
- Ismail N, Ismail M, Mazlan M, Latiff LA, Imam MU, Iqbal S, & Chan KW. Thymoquinone prevents β -amyloid neurotoxicity in primary cultured cerebellar granule neurons. *Cell Mol Neurobiol*, 2013; 33(8), 1159-1169.
- İşbirlioğlu T. Adipoz Kökenli Mezenkimal Kök Hücre Dizilerinin Geliştirilmesi, İmmünofenotipik Karakterizasyonu ve Farklılaşma Özelliklerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2015.
- Kaçar S. Akrilamitin C6 Sıçan Glioma Hücreleri Üzerindeki Toksik Etkisine Karşı Timokinon ve Kuersetinin Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Eskişehir

- Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, 2020.
- Kalidasu G, Reddy GS, Kumari SS, Kumari AL, Sivasankar A. Secondary volatiles and metabolites from *Nigella sativa* L. seed. *I J N P Res.* 2017; 8(2):151-158.
- Kara-Akpınar Y, Kandi B. Saç Hastalıklarında Kök Hücre Tedavileri. *Türkiye Klinikleri J Dermatol*, 2018; 28(1):8-12.
- Karaoğlan MY. Deneysel Gestasyonel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Timokinonun Leptin Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü ve Kan Şekeri Düzeylerine Etkisi İle Uterus ve Pankreas Dokusu Değişikliklerinin İnsülin İle Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Trabzon 2018.
- Khan MA, Tania M, Fu S, & Fu J. Thymoquinone, as an anticancer molecule: from basic research to clinical investigation. *Oncotarget*, 2017; 8(31), 51907.
- Koşar İ, & Özel A. Çörek otu (*Nigella Sativa* L.) çeşit ve popülasyonlarının karakterizasyonu: Tarımsal özellikler. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 2008; 22(4), 533-543.
- Körkoca A. Gebelikte Uygulanan Diklofenak Sodyum Ve Timokinonun Postnatal 4 ve 10 Haftalık Sıçan Ovaryum Preantral Follikül Sayısına Etkilerinin Stereolojik Yöntemle Araştırılması, Doktora Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van, 2018.
- Liang B, Chen J, Li T, Wu H, Yang W, Li Y, ... & Yang, M. Clinical remission of a critically ill COVID-19 patient treated by human umbilical cord mesenchymal stem cells: A case report. *Medicine*, 2020; 99(31).
- Licari M, Raffaele M, Rosman ZF, Schragenheim J, Bellner L, Vanella L, et al. Beneficial Effects of Thymoquinone on Metabolic Function and Fatty Liver in a Murine Model of Obesity. *J Food Nutri Sci*, 2019; 9: 751.
- Mendi A. "Nigella sativa oil could induce osteogenic differentiation of dental pulp mesenchymal stem cells: clinical nutrition for dentistry". *Food Health* 2018;4: 19-24.
- Mousavi SH, Tayarani-Najaran Z, Asghari M, & Sadeghnia HR. Protective effect of *Nigella sativa* extract and thymoquinone on serum/glucose deprivation-induced PC12 cells death. *Cell Mol Neurobiol*, 2010; 30(4), 591-598.
- Murat A. Obez ve Obez Olmayan Fare Modellerinde Adipoz Doku Orjinli Mezenkimal

- Kök Hücrelerin Senesense Olan Yatkınlıklarının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2018.
- Mushahary D, Spittler A, Kasper C, et al. Isolation, Cultivation, And Characterization Of Human Mesenchymal Stem Cells. *Cytometry* 2018 Jan;93(1):19-31.
- Nergiz C, & Ötleş S. Chemical composition of *Nigella sativa* L. seeds. *Food Chemistry*, 1993; 48, 259-261.
- Özgüven M, Kırpık M, Range P, & Koller WD. Halk hekimliğinde çörekotu (*Nigella Sativa* L.)'nun yeri ve tarımı ile bileşimi üzerine araştırmalar. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2002; 17, 27-32.
- Radad K, Hassanein K, Al-Shraim M, Moldzio R, & Rausch WD. Thymoquinone ameliorates lead-induced brain damage in Sprague Dawley rats. *EXP TOXICOL PATHOL*, 2014; 66(1), 13-17.
- Reya T, et al., Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 2001; 414(6859): p.105-11.
- Rezaei N, Sardarzadeh T, Sisakhtnezhad S. Thymoquinone promotes mouse mesenchymal stem cells migration *in vitro* and induces their immunogenicity *in vivo*. *TAAP*, 2020; 387: 114851.
- Sağıt M, Korkmaz F, Akçadağ A, Somdaş MA. Protective effect of thymoquinone against cisplatin-induced ototoxicity. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2013; Aug;270(8):2231-7.
- Savaş ŞN. Adipoz Doku Kökenli Mezenkimal Kök Hücrelerin (Ad-Scs) Kültürasyonunda ve Adipositlere Farklılaştırılmasında Trombositten Zengin Plazmanın (Prp) Etkinliği, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir, 2016.
- Sezen S. Timokinon (Tq)' Un İnsan Hücre Hattı Modelinde İnsülin Sinyal Yolaklarına Etkilerinin Moleküler Düzeyde Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2015.
- Shen HH, Peterson SJ, Bellner L, Choudhary A, Levy L, Gancz L, Sasson A, Trainer J, Rezzani R, Resnick A, Stec DE, Abraham NG. Cold-Pressed *Nigella Sativa* Oil Standardized to 3% Thymoquinone Potentiates Omega-3 Protection against Obesity-Induced Oxidative Stress, Inflammation, and Markers of Insulin Resistance Accompanied with Conversion of White to Beige Fat in Mice. *Antioxidants (Basel)*. 2020; Jun 4;9(6):489.

- Shikhaliyeva İ. Mezenkimal Kök Hücrelerin Osteojenik Farklılaşmasının Bor Katkılı Hap-kaplı Kitosan Doku İskelelerinde İncelenmesi, Yüksek lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2015:9.
- Sobhani A, Khanlarkhani N, Baazm M, Mohammadzadeh F, Najafi A, Mehdinejadi S, & Aval FS. Multipotent stem cell and current application. *Acta Med Iran*, 2017; 6-23.
- Tekeli S, Naghavi EA, Gökçe B, Sır G, Yiğittürk G, Çavuşoğlu T, & Uyanıkgil Y. Kök hücreler; mezenkimal kök hücreler ve güncel klinik uygulamaları. *İst. Bilim Üniv. Florence Nightingale transplant. derg.*, 2016; 1(2), 72-83.
- Terzi YK, Güran Ş. Kök Hücre Biyolojisi ve Hematolojik Malignitelere Kök Hücrenin Rolü. *CMJ*, 2012; (34): 235-241.
- Uras Ş. *Nigella Sativa L. (Ranunculaceae) bitkisi üzerinde farmakognozik araştırmalar*, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin 2009.
- Usta A, Dede S, Çetin S. Deneysel Diyabetli Ratlarda Timokinon Uygulanmasının Doku Total Oksidan ve Antioksidan Düzeyine Etkisi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 2018; 13(1): 84-91.
- Usta A. Deneysel Diyabetli Ratlarda Timokinon Uygulanmasının Nükleer Faktör Kappa B (Nf-Kb) ve DNA Hasarı Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van 2014.
- Usta C, Algın-Kaplan A. Kardiyovasküler Hastalıklara Çörekotu (*Nigella Sativa*) İle Fitoterapötik Yaklaşım. *Ankara Akupunktur*, 2016; 4(1): 15-21 3.
- Ünal TD, Hamurcu Z, Delibaşı N, et al. Thymoquinone Inhibits Proliferation and Migration of MDA-MB-231 Triple Negative Breast Cancer Cells by Suppressing Autophagy and Beclin-1 and LC3. *Anticancer Agents Med Chem*, 2020.
- Üstün G, Kent L, Çekin N, & Civelekoğlu H. Investigation of the technological properties of *Nigella sativa* (black cumin) seed oil. *J Am Oil Chem Soc*, 1990; 67(12), 958-960.
- Vardar DÖ, Mollahaliloğlu S, & Öztaş D. Fitoterapide kullanılan bazı fitokimyasalların toplum sağlığına etkilerinin değerlendirilmesi. *JHSM*, 2018; 1(4), 95-105.
- Wirries A, Schubert AK, Zimmermann R, et al. Thymoquinone Accelerates Osteoblast Differentiation And Activates Bone Morphogenetic Protein-2 And Erk

Pathway. *Int Immunopharmacol.* 2013; 15(2):381-6.

- Yahyazadeh A. Elektromanyetik Alanın Sıçan Testislerindeki Etkilerine Karşı Timokinon ve Luteolin'in Koruyuculuğunun Stereolojik ve Histokimyasal Yöntemlerle Araştırılması, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun 2017.
- Yaşar D. Adipoz Doku Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerden Kondrosit Farklılaşması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2014.
- Yılmaz S. Serviks Kanser Hücre Hattında Timokinonun Sisplatin Sitotoksitesine Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2018.
- Zhang L, Bai Y, Yang Y. Thymoquinone chemosensitizes colon cancer cells through inhibition of NF- κ B. *Oncol Lett.* 2016; Oct;12(4):2840-2845.
- Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tis-sue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13(12):4279-9.
- Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, Daniel AU, Huang JI, Mizuno H, Alfonso Z, Fraser JK, Benhaim P, Hedrick MH. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *MBoC*, 2002; 13: 4279-4295.
- Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, FutrellJW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*, 2001; 7(2):211-28.

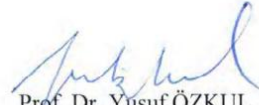
Sayı: 68742022- 604.01.02-0296
Konu: Değerlendirme ve Onay

31/01/2019

Sayın; Dr. Öğr. Üyesi Tuba Dilay KÖKENEK ÜNAL;

"Timokinonun İnsan Adipoz Doku Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücreleri Üzerine Etkisinin Araştırılması" başlıklı projenizin Merkezimiz Kök Hücre biriminde gerçekleştirilmesi uygun bulunmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.


Prof. Dr. Yusuf ÖZKUL
Merkez Müdürü

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU (2011 - KAEK-80)

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Timokinonun İnsan Adipoz Doku Kaynaklı Mezekimal Kök Hücreleri Üzerine Etkisinin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLEN DİRİLEN BELGELER	BELGE ADI	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	BELGE ADI	Acıklama
		SIGORTA
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	
	ILAN	
	YILLIK BİLDİRİM	
	SONUÇ RAPORU	
	GÜVENLİK BİLDİRİMLERİ	
	DİĞER	

KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2019/44	Tarih : 23.01.2019
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Sema Kader KÖSE

Unvanı / Adı Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyeti	Araştırma ile İlişki	Katılım (*)	İmza
Prof. Dr. Sema Kader KÖSE	Tıbbi Biyokimya	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ahmet ÖZTÜRK	Haik Sağlığı	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Murat Sipahioğlu	iç Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Güven Kahrıman	Radyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Kemal ÖZYURT	Dermatoloji	Kayseri Eğitim Hast.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Emin Murat CANGER	Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi	E.Ü. Diş Hek. Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Mehmet DOLANBAY	Kadın Hast. ve Doğum	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Fatih KARDAŞ	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Serpil TAHERİ	Tıbbi Biyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Zafer Gezer	Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Gökmen ZARARSIZ	Biyoistatistik	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN	Fizyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Av. Serhat ÜSTÜNEL	Avukat	Hukuk Müşaviri	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Ecz. Şükran TERZİ	Eczacı	Serbest Eczacı	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Sevtap Koçer	Sivil Üye	Serbest	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

* Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Sema Kader KÖSE
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU (2011 - KAEK-80)

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Timokinonun İnsan Adipoz Doku Kaynaklı Mezekimal Kök Hücreleri Üzerine Etkisinin Araştırılması		
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU				
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	ERCIYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
	AÇIK ADRES	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı / Melikgazi/KAYSERİ		
	TELEFON	0 352 437 49 10 - 11		
	FAKS	0 352 437 52 85		
	E-POSTA	sukriye@erciyes.edu.tr		
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR / SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI / ADI / SOYADI	Dr.Öğr.Üyesi Tuba Dilay Kokenek Ünal		
	KOORDİNATÖR SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Patoloji		
	KOORDİNATÖR / SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi, Kayseri		
	VARSA İDARİ SORUMLU ÜNVANI/ ADI SOYADI			
	DESTEKLEYİCİ			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ ÜNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMCİLCİSİ			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>	
FAZ 4		<input type="checkbox"/>		
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>		
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>		
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>		
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>		
Diğer ise belirtiniz	Yüksek Lisans Tezi			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEKMERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOKMERKEZ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

Etik Kurul Başkanının
Ünvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Sema Kader Köse
İmza:




Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır

TİMOKİNONUN İNSAN ADİPOZ DOKU KAYNAKLI MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

% 10	% 9	% 5	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	paperzz.com İnternet Kaynağı	% 2
2	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	% 2
3	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
4	smartrans.hemosoft.com İnternet Kaynağı	% 1
5	www.thd.org.tr İnternet Kaynağı	% 1
6	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
7	e-dergi.atauni.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	GÖZEN, Abdurrahim, ÜNSAL, Seyyid Şerif and GÖKALP, Mehmet Ata. "Ortopedide Mezenkimal	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Ahsen ERGİNSOY

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 08.09.1994- ALTINDAĞ

Medeni Durumu: Bekar

Tel: 05522142839

email: aergnsy@gmail.com

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Merkezi
TALAS/KAYSERİ P.K.38039

EĞİTİM

Derece

Kurum

Mezuniyet Tarihi

Lisans

Nuh Naci Yazan Üniversitesi; Beslenme ve Diyetetik

2017

YABANCI DİL

İngilizce