

T.C  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İLERİ PASAJ MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN AQUAPORİN PROFİLİNİN  
ERKEN PASAJ MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI  
VE ADİPOJENİK FARKLILAŞMA VERİMİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN  
BELİRLENMESİ**

Ayşegül AYTEKİN

Kocaeli Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliği'nin

Histoloji ve Embriyoloji Programı İçin Öngördüğü

DOKTORA TEZİ

Olarak hazırlanmıştır

KOCAELİ

2019



T.C  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İLERİ PASAJ MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN AQUAPORİN PROFİLİNİN  
ERKEN PASAJ MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERLE KARŞILAŞTIRILMASI  
VE ADİPOJENİK FARKLILAŞMA VERİMİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN  
BELİRLENMESİ**

**Ayşegül AYTEKİN**

Kocaeli Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliği'nin

Histoloji ve Embriyoloji Programı İçin Öngördüğü

DOKTORA TEZİ

Olarak hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Yusufhan YAZIR

Bu Tez Çalışması Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından  
Desteklenmiştir

KOÜ BAP Proje Numarası: 2017/075

Etik Kurul Onay Numarası: KOÜ HADYEK 7/12-2015

KOCAELİ

2019

## KABUL ve ONAY

### SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

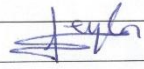
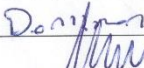



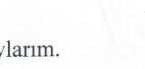
**Tez adı:** İleri pasaj mezenkimal kök hücrelerin aquaporin profilinin erken pasaj mezenkimal kök hücrelerle karşılaştırılması ve adipojenik farklılaşma verimi üzerindeki etkisinin belirlenmesi

Tez yazarı: Ayşegül AYTEKİN

Tez savunma tarihi: 1 Temmuz 2019

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yusufhan YAZIR

Bu çalışma, sınav kurumumuz tarafından Embriyoloji ve Histoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

SINAV KURULU ÜYELERİ		İMZA
ÜNVANI	ADI-SOYADI	
BAŞKAN	Prof. Dr. Süreyya CEYLAN	
ÜYE (DANIŞMAN)	Prof. Dr. Yusufhan YAZIR	
ÜYE	Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ	
ÜYE	Pof. Dr. Ayten TÜRKKANI	
ÜYE	Doç. Dr. Ünal USLU	
ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Gökhan DURUKSU	

#### Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

1.7.2019

**Prof. Dr. Sema AŞKIN KEÇELİ**

KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



vi

## ÖZET

### **İleri Pasaj Mezenkimal Kök Hücrelerin Aquaporin Profilinin Erken Pasaj Mezenkimal Kök Hücrelerle Karşılaştırılması Ve Adipojenik Farklılaşma Verimi Üzerindeki Etkisinin Belirlenmesi**

**Amaç:** Kök hücrelerin ileri ve erken pasajlarında hücre yapılarının farklılık gösterdiği bilinmektedir. Hücre yaşamında önemli rolleri olan aquaporinler (AQP), kök hücre yaşam döngüsü ve farklılaşmada önemli role sahiptir. Çalışmamızın amacı ileri pasaj kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerde (Kİ-MKH) aquaporin profilini erken pasaj ile karşılaştırmak ve adipojenik farklılaşma sonrası aquaporin değişimlerini inceleyerek farklılaşma üzerine katkısını belirlemektir.

**Yöntem:** Bu amaçla çalışmamızda Kİ-MKH'leri kullanılmıştır. Hücrelerin karakterizasyonu flow sitometri ile kök hücre yüzey belirteçleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Karakterize edilen Kİ-MKH'leri pasaj 3 (P3) ve pasaj 8 (P8)'de kontrol ve farklılaşma gruplarına ayrılarak 0., 1., 3., 7., 14. ve 21. günlerde AQP1, AQP3, AQP7, AQP9 ve AQP10 düzeyleri Real Time-PCR, ELİSA ve immunfloresan çalışmaları yapılarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Flow sitometri ile hücrelerin Kİ-MKH olduğu doğrulanmıştır. Kİ-MKH, P3 ve P8'e getirildiğinde farklılaşma başlatılmıştır ve ilerleyen günlerde AQP protein ekspresyonlarının önce yükseldiği sonra düştüğü görülmüştür. P3'teki yükselmelerin P8'e göre daha erken günlere denk geldiği gözlemlenmiştir. Gen ekspresyonu analizinde ise protein ekspresyonlarının düştüğü günlerde AQP gen ekspresyonu seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görülmüştür. Ayrıca ileri ve erken pasaj AQP profilleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur.

**Sonuç:** Çalışmamızda pasaja göre aquaporin profili Kİ-MKH'lerde ilk kez incelenmiştir. Gen ve protein ekspresyonları arasındaki karşılıklı değişimler bize AQP'lerin farklılaşma sürecine katkıda bulunduğunu göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda yaşlanma ile farklılaşma potansiyeli arasında olan ilişkiye AQP profilinin katkısı olduğu gösterilmiştir. Bu ilişkide AQP'lerin rolü hücre yaşlanmasıyla ilgili olası önlemler ve uygulanabilecek tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre, aquaporin, yaşlanma

## İNGİLİZCE ÖZET

### **Comparison of Early Passage Mesenchymal Stem Cells' Aquaporin Profile with Early Passage Mesenchymal Stem Cells and Determination of their Effect on Adipogenic Differentiation performance**

**Objective:** Cell structures are known to be different in the early and later passages of stem cells. Aquaporins (AQP), which have important roles in cell life, have an important role in stem cell life cycle and differentiation. The aim of our study is to compare the aquaporin profile of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in later passages with early passage and to determine the contribution of aquaporin changes on differentiation while investigating the changes of aquaporin after adipogenic differentiation.

**Method:** For this purpose, BM-MSCs were used in our study. Characterization of the cells was evaluated by flow cytometry using stem cell surface markers. Characterized BM-MSCs are divided into control and differentiation groups in passage 3 (P3) and passage 8 (P8) on days 0, 1, 3, 7, 14 and 21. AQP1, AQP3, AQP7, AQP9 and AQP10 levels were evaluated by Real Time-PCR, ELISA and immunohistochemistry studies.

**Results:** The cells used were bone marrow mesenchymal stem cells (BM-MSCs) confirmed by flow cytometry. BM-MSCs were brought to P3 and P8, differentiation was initiated and in the following days it was seen that AQP protein expressions were decreased after the initial rise. It was observed that the elevations in P3 corresponded to earlier days than P8. On the other hand, AQP gene expression levels were found to increase statistically significantly in gene expression analysis on the days when protein expressions fall. In addition, there were statistically significant differences in AQP profiles for both late and early passages.

**Conclusions:** In our study, the aquaporin profile related to the passage was examined for the first time in BM-MSCs. Mutual changes between gene and protein expression indicate that AQPs contribute to the differentiation process. In addition, the AQP profile has been shown to contribute to the relationship between aging and differentiation potential. The role of AQPs in this relationship may contribute to the development of possible preventive measures and treatment approaches for cell aging.

**Keywords:** Bone marrow-induced mesenchymal stem cell, aquaporin, aging

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca hiçbir konuda benden desteğini esirgemeyen, tez çalışmamda benimle birebir ilgilenen, karşılaştığım sorunların çözümünde elinden gelen yardımı gösteren değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yusufhan YAZIR'a çok teşekkür ederim. Kök hücre ile ilgili deneylerimde yol haritamı çizmeme yardım eden ve bu süreç boyunca destek olan Doktor Öğretim Üyesi Gökhan DURUKSU hocama teşekkür ederim.

Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Süreyya CEYLAN hocama hem alanımızla ilgili hem de hayatla ilgili engin bilgilerini ve tecrübelerini cömertçe bize iletmesi için çok teşekkür ederim. Prof. Dr. Melda YARDIMOĞU YILMAZ hocama tez sürecinde, öncesinde ve sonrasında her konudaki koşulsuz destekleri için çok teşekkür ederim. Prof. Dr. Serdar FİLİZ ve Prof. Dr. Süheyla GONCA'ya, Kök Hücre Anabilim Dalından, Doktor Öğretim Üyesi Gülçin GACAR ve Seda Zehra ÜNAL HALBUTOĞULLARI'na eğitimime yapmış oldukları katkılarından dolayı tüm değerli hocalarıma teşekkür ederim.

Sevgili arkadaşlarım Dr. Liridona ADİLİ OSMANİ, Arş. Gör. Ayşegül AÇIKSARI, Arş. Gör. Ahmet ÖZTÜRK, Arş. Gör. Dr. Sema KURNAZ ÖZBEK, Arş. Gör. Selenay FURAT RENÇBER, Uzm. Kübra KAVRAM, Arş. Gör. Fazilet DEDE, Arş. Gör. Dr. Tuba ŞAHİN ve Uzm. Dr. Radia DİVLEK'e yürekten teşekkür ederim.

Hayatımın her anında olduğu gibi bu zorlu süreçte de yanımda olan, sevgi ve ilgileriyle bana güç veren ve bana inanan canım annem Nuran, babam Recep ve kardeşlerim Halim Haydar ve Şule'ye, kayınvalidem Müşerref, kayınpederim Abdurrahman ve abim Kürşat'a, sevgili eşim Mehmet Hamdi ve biricik oğullarım Muhammet Fatih ve Ahmet Turan'a çok teşekkür ederim.

## TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLGİSİ

### TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLGİSİ

Tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan bilgi ve çizimler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimin bir yayından kısmen ya da tamamen aşırma olmadığını ve bir intihal programı kullanılarak test edildiğini beyan ederim.



31/05/2019

Ayşegül AYTEKİN



# İÇİNDEKİLER

<b>KABUL ve ONAY</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>İNGİLİZCE ÖZET</b>	<b>v</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>vi</b>
<b>TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLGİSİ</b>	<b>vii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>viii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>	<b>x</b>
<b>ÇİZİMLER DİZİNİ</b>	<b>xii</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	<b>xvi</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Kök Hücreler</b>	<b>2</b>
1.1.1. Kök Hücrelerin Tarihçesi, Tanımı ve Özellikleri	2
1.1.2. Kök hücrelerin sınıflandırılması	5
<b>1.2. Aquaporinler</b>	<b>14</b>
1.1.2. Aquaporin 1 (AQP1)	19
1.1.3. Aquaporin 3 (AQP3)	19
1.1.4. Aquaporin 7 (AQP7)	20
1.1.5. Aquaporin 9 (AQP9)	20
1.1.6. Aquaporin 10 (AQP10)	21
<b>1.3. Yaşlanma</b>	<b>22</b>
1.3.1. SOD1 (Süperoksit Dismutaz 1)	22
1.3.2. COL1A1 (Kollajen 1 alfa 1)	23
<b>1.4. ADİPOJENİK FARKLILAŞMA VE İLİŞKİLİ GENLER</b>	<b>23</b>
<b>2. AMAÇ</b>	<b>25</b>
<b>3. YÖNTEM</b>	<b>27</b>
<b>3.1. Hücre Karakterizasyonu- Flow Sitometri</b>	<b>27</b>
<b>3.2. Hücrelerin Çözülmesi ve Hücre Kültürü</b>	<b>27</b>
<b>3.3. Adipojenik Farklılaşma ve Oil Red O Boyaması</b>	<b>27</b>
<b>3.4. İmmünfloresan Boyama</b>	<b>28</b>
<b>3.5. Gen Ekspresyon Analizi</b>	<b>29</b>
<b>3.6. ELİSA</b>	<b>30</b>
<b>3.7. İmmünfloresan Mikrograflarda Hücre Sayımı (Boyanmanın Rakamsal Hesaplanması)</b>	<b>31</b>
<b>3.8. İstatistiksel Analiz</b>	<b>31</b>
<b>4. BULGULAR</b>	<b>32</b>

<b>4.1. İnsan Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerin Karakterizasyonu</b>	<b>32</b>
<b>4.2. Hücrelerin Kültürde Pasaj 3 ve Pasaj 8'e Getirilmesi</b>	<b>32</b>
<b>4.3. Adipojenik Farklılaşmanın Gösterilmesi</b>	<b>35</b>
4.3.1. Adipojenik farklılaşmanın faz-kontrast mikroskop ile gösterilmesi	35
4.3.2. Adipojenik farklılaşmanın Oil-Red O boyaması ile gösterilmesi	40
4.3.3. Adipojenik farklılaşmanın gen ekspresyonu ile gösterilmesi	41
<b>4.4. ELİSA (Protein Ekspresyonu) Sonuçları</b>	<b>44</b>
4.4.1. AQP1 protein ekspresyonu	44
4.4.2. AQP3 Protein Ekspresyonu	45
4.4.3. AQP7 Protein Ekspresyonu	46
4.4.4. AQP9 Protein Ekspresyonu	48
4.4.5. AQP10 Protein Ekspresyonu	50
<b>4.5. Gen Ekspresyonu Sonuçları</b>	<b>51</b>
4.5.1. AQP1 gen ekspresyonu	51
4.5.2. AQP3 Gen Ekspresyonu	53
4.5.3. AQP7 Gen Ekspresyonu	54
4.5.4. AQP9 Gen Ekspresyonu	56
4.5.5. AQP10 Gen Ekspresyonu	57
4.5.6. SOD1 Gen Ekspresyonu	59
4.5.7. Col1a1 Gen Ekspresyonu	60
<b>4.6. İmmü floresan Boyama Sonuçları</b>	<b>61</b>
4.6.1. Kontrol Grubu Fotomikrografları	62
4.6.2. Farklılaşma Grubu Fotomikrografları	67
4.6.3. İmmü floresan Mikrograflarda Hücre Sayımı (Boyanmanın Rakamsal Hesaplanması)	80
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>86</b>
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>92</b>
<b>KAYNAKLAR DİZİNİ</b>	<b>93</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>107</b>
<b>EKLER</b>	<b>109</b>

---

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADFP	: Adipoz Farklılaşma ile ilgili protein, Perilipin 2, Pilin 2
AF	: Adipojenik farklılaşma
AQP	: Aquaporin protein
Ar/R	: Aromatik arjinin
BCA	: Bisikoninik asit deneyi
Colla1	: Kollojenaz 1 $\alpha$ 1
DAPI	: 4',6-diamidino-2-fenilindol
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
EKH	: Embriyonik kök hücre
EPH	: Endotel progenitör hücreler
GFAP	: Glial fibriler asidik protein
HKH	: Hematopoetik kök hücreler
ISCT	: Uluslararası Hücresel Tedavi Derneği
İHK	: İç hücre kitlesi
iKİ-MKH	: İnsan kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre
MIP	: Major intrinsik protein
MKH	: Mezenkimal kök hücre
NKH	: Nöral kök hücreler
NPA	: Asparajin-prolin-alanin
P2	: Pasaj 2
P3	: Pasaj 3
P8	: Pasaj 8

PFA	: Paraformaldehit
ROT	: Reaktif oksijen Türleri
RT-PCR	: Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
SOD1	: Süperoksit Dismutaz 1
uPK	: Pluripotent kök hücreler
YKH	: Embriyonik olmayan kök hücreler, Yetişkin kök hücreler



## ÇİZİMLER DİZİNİ

<b>Çizim 4.1.</b> iKİ-MKH flow sitometri sonuçları.....	32
<b>Çizim 4.2.</b> P2 iKİ-MKH'lerin 2. Gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (40X büyütme).....	33
<b>Çizim 4.3.</b> P2 iKİ-MKH'lerin 3. Gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (40X büyütme).....	33
<b>Çizim 4.4.</b> P2 iKİ-MKH'lerin faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (100X büyütme).....	34
<b>Çizim 4.5.</b> iKİ-MKH'lerin P2 faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (100X büyütme).....	34
<b>Çizim 4.6.</b> P3 adipojenik farklılaşma grubu 0.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (100X büyütme). ....	35
<b>Çizim 4.7.</b> P3 kontrol grubu 0.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (200X büyütme). ....	35
<b>Çizim 4.8.</b> iKİ-MKH adipojenik farklılaşma (AF) grubu faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (200X büyütme).....	36
<b>Çizim 4.9.</b> P3 adipojenik farklılaşma grubu 7.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (400X büyütme).. ....	37
<b>Çizim 4.10.</b> P3 adipojenik farklılaşma grubu 14.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (400X büyütme). ....	37
<b>Çizim 4.11.</b> P3 adipojenik farklılaşma grubu 21.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (200X büyütme).. ....	38
<b>Çizim 4.12.</b> P8 adipojenik farklılaşma grubu 7.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (200X büyütme).. ....	38
<b>Çizim 4.13.</b> P8 adipojenik farklılaşma grubu 14.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (200X büyütme). ....	39
<b>Çizim 4.14.</b> P8 adipojenik farklılaşma grubu 21.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (200X büyütme). ....	39
<b>Çizim 4.15.</b> P3 adipojenik farklılaşma 21.gün konfokal mikroskop ile elde edilen fotomikrografi.....	40
<b>Çizim 4.16.</b> P8 adipojenik farklılaşma 21.gün konfokal mikroskop ile elde edilen fotomikrografi.....	40
<b>Çizim 4. 17.</b> Zamana göre Leptin gen ekspresyonu grafiği. ....	41
<b>Çizim 4. 18.</b> Leptin gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği. ....	42
<b>Çizim 4.19.</b> Zamana göre ADFP gen ekspresyonu grafiği. ....	43

<b>Çizim 4.20.</b> ADFP gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği.....	43
<b>Çizim 4.21.</b> AQP1 protein ekspresyonu ölçümleri.....	44
<b>Çizim 4.22.</b> AQP1 protein ekspresyonu ölçümleri çizgi grafiği. ....	45
<b>Çizim 4.23.</b> AQP3 protein ekspresyonu ölçümleri.....	46
<b>Çizim 4. 24.</b> AQP3 protein ekspresyonu ölçümleri çizgi grafiği. ....	46
<b>Çizim 4.25.</b> AQP7 protein ekspresyonu ölçümleri.....	47
<b>Çizim 4.26.</b> AQP7 protein ekspresyonu ölçümleri çizgi grafiği. ....	48
<b>Çizim 4.27.</b> AQP9 protein ekspresyonu ölçümleri.....	49
<b>Çizim 4.28.</b> AQP9 protein ekspresyonu ölçümleri çizgi grafiği. ....	49
<b>Çizim 4.29.</b> Zamana göre AQP10 protein ekspresyonu ölçümleri. ....	50
<b>Çizim 4.30.</b> AQP10 protein ekspresyonu ölçümleri çizgi grafiği.....	51
<b>Çizim 4.31.</b> Zamana göre AQP1 gen ekspresyonu grafiği.. ....	52
<b>Çizim 4.32.</b> AQP1 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği. ....	52
<b>Çizim 4.33.</b> Zamana göre AQP3 gen ekspresyonu grafiği. ....	53
<b>Çizim 4.34.</b> AQP3 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği.....	54
<b>Çizim 4.35.</b> Zamana göre AQP7 gen ekspresyonu grafiği.. ....	55
<b>Çizim 4.36.</b> AQP7 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği.....	55
<b>Çizim 4. 37.</b> Zamana göre AQP9 gen ekspresyonu grafiği. ....	56
<b>Çizim 4. 38.</b> AQP9 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği. ....	57
<b>Çizim 4.39.</b> Zamana göre AQP10 gen ekspresyonu grafiği.. ....	58
<b>Çizim 4.40.</b> AQP10 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği.....	58
<b>Çizim 4.41.</b> Zamana göre SOD1 gen ekspresyonu grafiği. ....	59
<b>Çizim 4.42.</b> SOD1 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği.....	60
<b>Çizim 4.43.</b> Zamana göre Colla1 gen ekspresyonu grafiği.....	61
<b>Çizim 4.44.</b> Colla1 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği. ....	61
<b>Çizim 4.45.</b> Kontrol grubu P3 AQP1 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	63
<b>Çizim 4.46.</b> Kontrol grubu P8 AQP1 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	63
<b>Çizim 4.47.</b> Kontrol grubu P3 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	64

<b>Çizim 4.48.</b> Kontrol grubu P8 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	64
<b>Çizim 4.49.</b> Kontrol grubu P3 AQP7 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	65
<b>Çizim 4.50.</b> Kontrol grubu P8 AQP7 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	63
<b>Çizim 4.51.</b> Kontrol grubu P3 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	64
<b>Çizim 4.52.</b> Kontrol grubu P8 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	64
<b>Çizim 4.53.</b> Kontrol grubu P3 AQP10 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	65
<b>Çizim 4.54.</b> Kontrol grubu P8 AQP10 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. ....	65
<b>Çizim 4.55.</b> Farklılaşma grubu 7. gün P3 AQP1 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	66
<b>Çizim 4.56.</b> Farklılaşma grubu 7. gün P8 AQP1 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	66
<b>Çizim 4.57.</b> Farklılaşma grubu 14. gün P3 AQP1 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	67
<b>Çizim 4.58.</b> Farklılaşma grubu 14. gün P3 AQP1 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	67
<b>Çizim 4.59.</b> Farklılaşma grubu 7. gün P3 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. ....	68
<b>Çizim 4.60.</b> Farklılaşma grubu 7. Gün-2 P3 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	68
<b>Çizim 4.61.</b> Farklılaşma grubu 7. Gün P3 AQP3 ve 7. Gün P3 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	69
<b>Çizim 4.62.</b> Farklılaşma grubu 7. Gün P3 AQP3 ve 7. Gün P8 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	69
<b>Çizim 4.63.</b> Farklılaşma grubu 7. Gün P8 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. ....	70
<b>Çizim 4.64.</b> Farklılaşma grubu 7. Gün P8 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	70
<b>Çizim 4.65.</b> Farklılaşma grubu 14. Gün P3 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	71

<b>Çizim 4.66.</b> Farklılaşma grubu 14. Gün P8 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	71
<b>Çizim 4.67.</b> Farklılaşma grubu 7. Gün P3 AQP7 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	72
<b>Çizim 4.68.</b> Farklılaşma grubu 7. Gün P8 AQP7 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	72
<b>Çizim 4.69.</b> Farklılaşma grubu 14. Gün P3 AQP7 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	73
<b>Çizim 4.70.</b> Farklılaşma grubu 14. Gün P8 AQP7 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. ....	73
<b>Çizim 4.71.</b> Farklılaşma grubu 7. Gün P8 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	74
<b>Çizim 4.72.</b> Farklılaşma grubu 7. Gün P3 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	74
<b>Çizim 4.73.</b> Farklılaşma grubu 7. Gün P8 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	75
<b>Çizim 4.74.</b> Farklılaşma grubu 14. Gün P3 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	75
<b>Çizim 4.75.</b> Farklılaşma grubu 14. Gün P8 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	76
<b>Çizim 4.76.</b> Farklılaşma grubu 7. Gün P3 AQP10 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	76
<b>Çizim 4.77.</b> Farklılaşma grubu 7. Gün P8 AQP10 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	77
<b>Çizim 4.78.</b> Farklılaşma grubu 14. Gün P3 AQP10 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	77
<b>Çizim 4.79.</b> Farklılaşma grubu 14. Gün P8 AQP10 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü.....	78
<b>Çizim 4.80.</b> AQP1 immünfloresan boyama hücre sayımı (skorlama) grafiği.....	79
<b>Çizim 4.81.</b> AQP3 immünfloresan boyama hücre sayımı (skorlama) grafiği.....	80
<b>Çizim 4.82.</b> AQP7 immünfloresan boyama hücre sayımı (skorlama) grafiği.....	81
<b>Çizim 4.83.</b> AQP9 immünfloresan boyama hücre sayımı (skorlama) grafiği.....	82
<b>Çizim 4.84.</b> AQP10 immünfloresan boyama hücre sayımı (skorlama) grafiği.....	83



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. 1. Multipotent kök hücre örnekleri ve bunların köken aldığı germ tabakası çizelgesi.....	8
Çizelge 1. 2. Aquaporinlerin doku dağılımı.....	17
Çizelge 3. 1. Gen ve primer dizileri.....	31



## 1. GİRİŞ

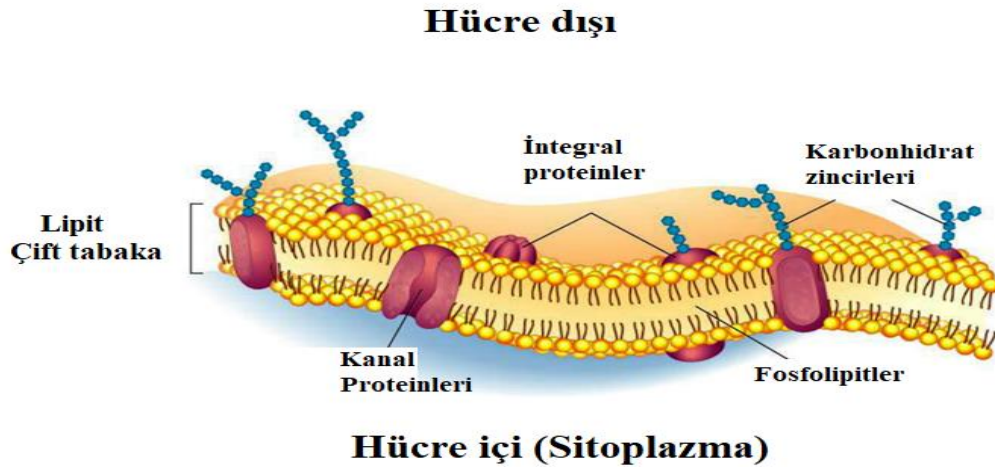
Su, yaşamı sürdüren birçok fizyolojik süreçte merkezi bir rol oynadığı için canlı organizmalar için gereklidir. Temel yaşam birimi hücre, yaklaşık %70-80 sudan oluşur. Hücreler, tüm çok hücreli organizmaların temel yapısal ve işlevsel birimleridir. İnsan vücudu 200'den fazla hücre tipinden oluşur ve bu hücre tiplerinin tamamı, bir yumurtanın bir sperm tarafından fertilizasyonu ile oluşan tek bir hücre olan zigottan köken alır. Zigot hücresi, tekrar tekrar bölünür ve fertilizasyondan yaklaşık 4 gün sonra blastokist oluşur (Moore 2016) Blastokist, fetüs ve eklerini oluşturan 150 ila 200 hücreli boşluk içeren yapıdır (Çizim1.1).



**Çizim 1.1.** Zigot, blastokist ve fetal gelişimi gösteren çizim. Kaynağı belirtilen web sitesinden uyarlanmıştır (<https://www.vectorstock.com/royalty-free-vector/stages-human-embryonic-development-vector-16332839> adresinden alınmıştır).

Her hücre tipi, kendi büyüklüğüne ve işine uygun bir yapıya sahiptir. Benzer işlevselliğe sahip hücreler dokular oluşturur ve dokular organ oluşturmak üzere düzenlenir. Hücrelerde ortak olarak bulunan yapılar; nükleus, sitoplazma ve hücre membranıdır.

Hücre membranı; hücrenin fonksiyon görmesi ve hayatta kalması için gerekli olan birçok fizyolojik ve biyokimyasal aktiviteye aktif olarak katılan dinamik çift tabakalı bir yapıdır. Plazma zarının toplam kalınlığı yaklaşık 8 ila 10 nm arasındadır. Membran; fosfolipit, kolestrol, protein moleküllerinden oluşmaktadır (Çizim 1.2). Fonksiyonlarına göre membran proteinleri altı ana kategori şeklinde tanımlanmışlardır: Pompalar, kanallar, reseptör proteinleri, enzimler, yapısal proteinler, bağlayıcı proteinlerdir. Aquaporinler membranda bulunan kanal proteinleridir. Hücrelere özellikle su olmak üzere gliserol, üre gibi maddelerin giriş çıkışını sağlayarak hücre yaşamsal döngüsünde birçok fonksiyonda rol alırlar. İnsan organizması için rolleri çok önemlidir.



**Çizim 1.2.** Hücre membranı şematik gösterimi web sayfasından uyarlanmıştır (cell homeostasis - cell membrane processes - maeda hs ap biology review marathon).

## 1.1. Kök Hücreler

### 1.1.1. Kök Hücrelerin Tarihçesi, Tanımı ve Özellikleri

Kök hücre terimi, 1909'da Berlin'de bir kongrede Rus histolog Alexander Maksimov tarafından bilimsel kullanım için önerilmiştir (Konstantinov 2000). Hematopoetik kök hücrelerin (HKH) varlığından söz ederek, HKH'nin lenfosit farklılaşarak lenfosit morfolojisiyle görüldüğünü, kan boyunca çoğalabileceği ve farklılaşabileceği mikro ekolojik nişlere geçebileceğini öne süren ilk kişi o olmuştur (de Almeida ve diğ. 2011).

Günümüzde kök hücre biyolojisi, hasar görmüş veya kaybedilmiş dokuları sağlıklı bir şekilde yenilenmiş doku ile değiştirerek daha iyi sonuçlar elde etmeyi ümit eden bilimin en etkileyici alanlarından biridir (Sanchez-Lara ve diğ. 2012). Kök hücreler, hücre bölünmesi yoluyla kendilerini uzun süre yenileme potansiyeline sahiptir ve belirli fizyolojik veya deneysel koşullar altında, özel işlevlere sahip hücreler haline gelebilirler (Stem Cell Basics I. | stemcells.nih.gov n.d.).

Kök hücreler; farklı hücre tiplerine dönüşme potansiyeline ve kendisini yenileyebilme gücüne sahip olan hücrelerdir. Özelleşmemiş ya da farklılaşarak özel işlevler kazanmamış, ana hücrelerdir. Vücutta buldukları yere göre veya farklılaşma potansiyellerine göre sınıflandırılabilirler (Can 2014). Kendini yenileme, farklılaşma ve klon oluşturabilme yeteneği kök hücre tanımını oluştururken kullanılan en önemli kök hücre özellikleridir (Smith ve diğ. 2001). Rejeneratif tıp uygulamalarında tercih edilen kök hücreler, görece fazla miktarda bulunurlar, kolay elde edilebilirler, birçok hücre tipine farklılaşarak çoğalabilirler, transplantasyon için güvenli ve etkin bir şekilde kullanılabilirler (Can 2008, Fortier 2005).

Kök hücreler, hem kendi yedek hücrelerini oluştururlar hem de yenilenecek dokunun ihtiyacı yönünde farklılaşarak yeni hücrelere dönüşürler. Zigot ilk totipotent kök hücre olup bölünerek blastokisti meydana getirmektedir. Blastokistte bulunan hücreler çoğalarak ve farklılaşarak embriyoyu ve eklerini oluşturur. Blastokist iç hücre kitlesinde (İHK) yer alan hücrelere embriyonik kök hücre (EKH) adı verilir ve bu hücreler embriyonun tamamını oluşturabilirler (pluripotent). Embriyo gelişimi ile fetal dönemde ve sonrasında EKH bulunmamaktadır. Onun yerine yağ dokusu, kemik iliği gibi bölgelerde embriyonik olmayan kök hücreler bulunmaktadır.

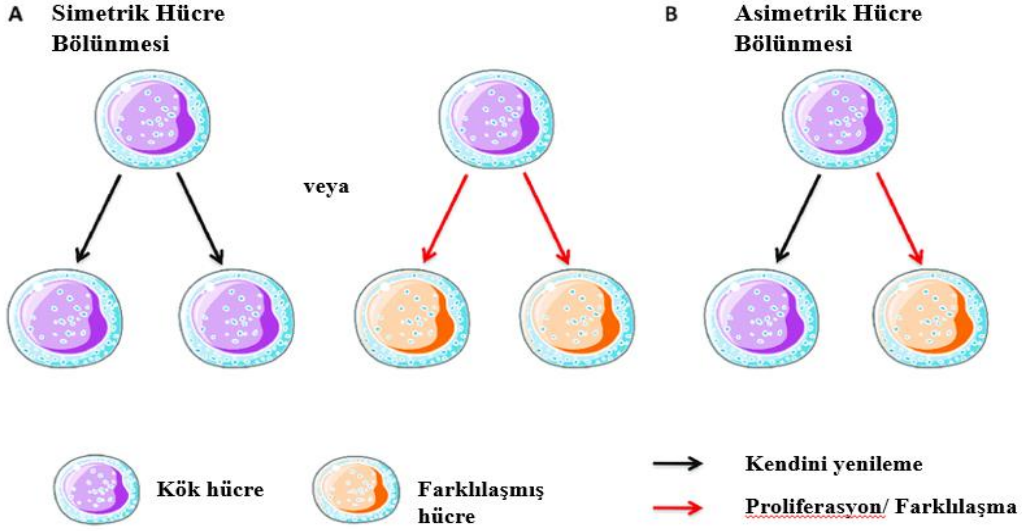
#### **Kök hücreler özellikleri;**

- Dokularda az sayıda bulunurlar,
- Yaşam boyu belli oranda bölünürler ve bölündükçe sayılarını korurlar,
- Bölündüklerinde ortaya çıkan iki yavru hücreden en az birisi kök hücre olarak mevcut hücre havuzuna katılır,
- Çoğunlukla bölünerek geçici (transit) hücreleri oluştururlar. Bu hücreler kısa süre içinde, dokuya özgü farklılaşmış hücreleri oluşturmak üzere farklılaşma yolağına girerler,
- Doku yaralanması sonrasında artsa da bölünme hızları genellikle yavaştır. Eğer yaralanmanın veya doku kaybının şiddeti çok ise, kendi hücre havuzlarının yenilenmesi için bölünme hızlarını artırırlar,
- Yaşla birlikte sayılarının azalmasına rağmen dokularda bulunan en kalıcı ve yaşam süresi en uzun olan hücrelerdir,

- Büyüme faktörlerine ve sinyal modülatörlerine duyarlılıkları yüksektir ve hızlı cevap verirler, sinyal yollarını (TGF, Notch, Wnt ve JAK/Stat gibi) aktif bir şekilde kullanırlar,
- Kök hücrelerin büyük bir kısmı hücre bölünme fazının G<sub>0</sub> fazında sessiz olarak beklerler. Embriyonik kök hücreler ve yetişkinlerde bulunan geçici hücreler bu süreci hızlı geçer ve hücre hücre bölünme siklusunu hızlı tamamlarlar,
- Diğer hücrelere oranla farklı kromatin örüntüsüne sahiptirler. DNA metilazlar veya histon deasetilazların transkripsiyon baskılayıcıları tarafından veya Groucho ailesi proteinleri tarafından sağlanan özgün DNA düzenlenişi kök hücrelere özgün DNA özelliği kazandırır,
- Tüm kök hücreler strese karşı dayanıklıdır. Bu özelliklerini çoklu ilaç direnci taşıyıcıları (multidrug resistance transporters), özgün protein katlanma mekanizmaları ubikutin ve detoksifikasyon sistemleriyle başarırlar (Can 2014).

Kök hücrelerde kendini yenileme, kök hücre havuzunu yenilemesi anlamındadır. Kök hücre havuzunun tükenmemesi için hücre bölünmesi sırasında bölünen kök hücrenin en az bir yedek ortaya çıkarıyor olması ve kök hücre havuzuna ekliyor olması gerekir. Ama, yüksek farklılaşma potansiyeline sahip kök hücreler bile bölündüğü zaman iki farklı hücre fenotipi meydana gelir; hücre fenotiplerinden biri kök hücre yedek özelliklerindeyken diğeri sonraki aşamaya farklılaşır. Bu bölünme türüne asimetrik bölünme ismi verilir (Watt ve Forrester 2006) (Çizim 1.3).

Farklılaşma potansiyeli hücrenin gelişim aşamasıyla ilişkilidir ve hiyerarşik olarak sınıflandırılabilir. Farklılaşma ileri ve geri farklılaşma olarak ikiye ayrılır; gelişimin doğal süreci incelendiğinde görülen kök hücrenin somatik hücreye doğru farklılaşmasına ileri farklılaşma olarak tanımlanırken, farklılaşmaya başladığı yere veya kök hücreye doğru farklılaşması dediferansiyasyon (geriye doğru farklılaşma) olarak tanımlanır. Daha sonraki kısımlarda detaylı bahsedilecek olan uyarılmış pluripotent kök hücreler (uPK) dediferansiyasyona örnektir (Can 2014).



**Çizim 1. 3.** Kök hücre bölünmesi. Laperrousaz (2015)'ten uyarlanmıştır.

Kök hücrelerin en önemli özelliklerinden klon oluşturma kabiliyeti, bir kök hücreden birden çok kök hücre oluşturabilmesidir. Kök hücrelerin stabil farklılaşmış hücrelerin kaynağı olup olamayacağını doğrulamak için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar, embriyonik gelişim ve çoğalma sırasında doku oluşumunu indüklemeye kapasitelerini, diğer tüm dokuları oluşturmak için farklılaşma ile doğruladıklarını göstermiştir. (Chamberlain ve diğ. 2007, d'Aquino ve diğ. 2009a, Rosario M Isasi ve Knoppers 2006, LUISI ve diğ. 2007).

### 1.1.2. Kök hücrelerin sınıflandırılması

Kök hücreler, kendini yenileme ve farklı hücre türlerini farklılaşma kapasitesine sahip farklılaşmamış hücre grubudur. Kök hücrelerin hiyerarşisi, farklılaşma potansiyellerine göre belirlenir. Embriyonik kök hücreler maksimum farklılaşma potansiyeline sahiptirler. Hiyerarşide alt kısımlara inildikçe farklılaşma potansiyeli azalmaktadır. Mesela, dokuya özel kök hücreler en alta yakındır ve çok sınırlı farklılaşma kapasitesine sahip hücrelerdir.

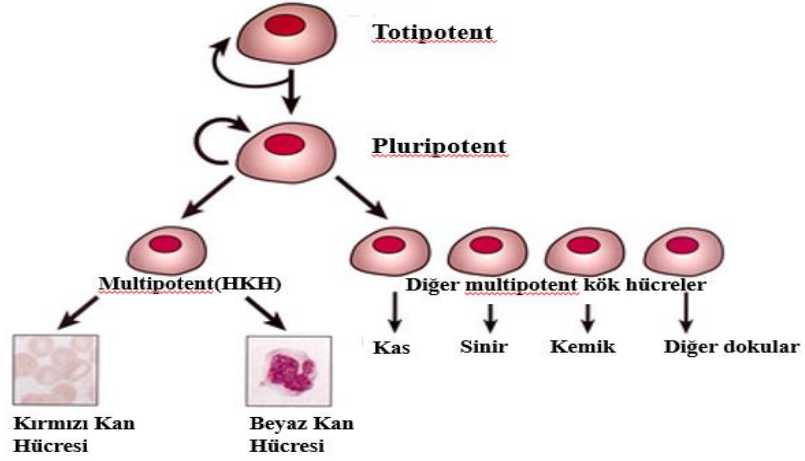
Bu kök hücrelerin dışında, normal dokuya özgü kök hücrelerin özelliklerine sahip olan ve ağırlıklı olarak tümörlerin nüksetme ve metastazına neden olan kanser kök hücreleri olarak adlandırılan özel bir tür kök hücre vardır.

Kök hücreler elde edildiği kaynağa göre veya farklılaşma potansiyeline göre sınıflandırılmıştır.

### Farklılaşma potansiyeline göre kök hücreler;

Kök hücreler farklılaşma potansiyeline göre totipotent, pluripotent, multipotent, oligopotent veya unipotent olarak sınıflandırılır (Çizim 1.4).

## KÖK HÜCRE HİYERARŞİSİ



**Çizim 1.4.** Farklılaşma potansiyeline göre kök hücrelerin hiyerarşik gösterimi. (<https://aricsgeneticsstudyguide.weebly.com/stem-cells--differentiation.html> adresinden uyarlanmıştır (Stem Cells & Differentiation - Genetics Stuff))

- **Totipotent Kök Hücreler**

En az farklılaşmış hücrelerdir ve sadece gelişimin morula aşamasına kadar mevcuttur. Hem embriyonik hem de ekstraembriyonik dokularda farklılaşarak fonksiyonel organizmanın tamamını oluşturabilir (Brivanlou ve diğ. 2003).

- **Pluripotent Kök Hücreler**

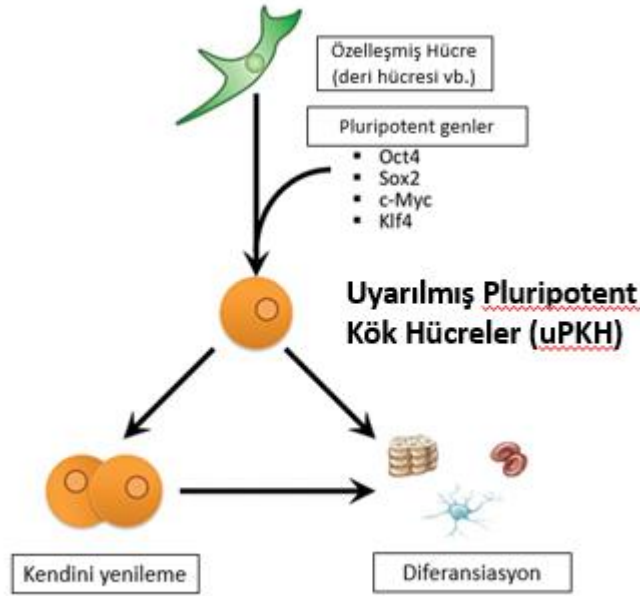
Hiyerarşide totipotent kök hücrelerin altında yer alır. Bu hücreler vücudun tüm dokularını ve organlarını oluşturan üç germ tabakasına (ektoderm, endoderm ve mezoderm) farklılaşabilirler ancak ekstraembriyonik dokulara farklılaşma potansiyelini yitirmişlerdir (P. De Miguel ve diğ. 2010).

Pluripotent kök hücreler ilk olarak blastokistin iç hücre kütesinden izole edilmiştir (Evans ve Kaufman 1981). Bu hücreler embriyonik kök hücreler olarak adlandırılmıştır. Oct4, Sox2 ve Nanog transkripsiyon faktörleri pluripotent hücreleri tanımlamak için kullanılmaktadır (Liang ve diğ. 2008, Wang ve diğ. 2012). İnsan embriyonik kök hücreleri, farklılaşmanın indüklenmesi olmadan uzun süre besleyicisiz ve serumsuz kültür ortamında muhafaza edilebildiği görülmüştür (Ludwig ve diğ. 2006).

Prof. Shinya Yamanaka, 2006 yılındaki keşfi ile pluripotent kök hücreleri elde etmek için yeni bir yöntem ortaya koymuştur (Takahashi ve Yamanaka 2006). Bu pluripotent kök hücreler “uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler (uPKH)” olarak isimlendirilmiştir. uPKH, pluripotent EKH'ye yakından benzemektedir.

### • Uyarılmış Pluripotent Kök Hücreler

Pluripotent kök hücreler embriyolardan (EKH) veya epigenetik yeniden programlama yoluyla (uPKH) elde edilebilmektedir. Epigenetik yeniden programlama üç şekilde yapılabilir; Somatik hücre nükleer transferi, hücre füzyonu ve tanımlanmış transkripsiyon faktörleri kümesinin ektopik ekspresyonu. 2006 yılında Yamanaka transkripsiyon faktörleri kümesinin ektopik ekspresyonu ile dokuya özgü somatik hücreleri pluripotent kök hücelere farklılaştırabildiğini gösterdiği uPKH teknolojisini tanıtmıştır (Takahashi ve Yamanaka 2006) (Çizim 1.5). Bu keşfi için, 2012 yılında Fizyoloji ve Tıp Nobel ödülünü almıştır. uPKH teknolojisi, insan embriyonik kök hücrelerinin kullanımıyla ortaya çıkan tüm etik kaygıları ortadan kaldırmıştır. Ek olarak, hastaya özgü pluripotent kök hücrelerin türetilmesini ve farklılaştırılmış uPKH'nin nakli immün reddi olmadan gerçekleştirilebilmesini kolaylaştırmıştır. Kişiselleştirilmiş rejeneratif tıp, uPKH teknolojisinin kullanımını bulduğu başka bir alandır.



**Çizim 1.5.** Uyarılmış pluripotent kök hücre çizimi. ISSCR (International stem cell research) tarafından hazırlanan el kitabından uyarlanmıştır (2019).

### • Multipotent kök hücreler

Her dokuda bulunur ve üç germ tabakasından herhangi birinin türevidir. Gelişim, doku rejenerasyonu, doku homeostazı ve savunma, multipotent kök hücrelerin başardığı kilit rollerdir. Dermis, sinoviyal sıvı, periosteum, kemik iliği, yağ dokusu, Wharton jeli, göbek kordon kanı ve periferik kan (Augello ve diğ. 2010), multipotent kök hücrelerin yaygın



olarak izole edildiği doku örneklerine birkaç örnektir. Multipotent kök hücreler üç germ tabakasından köken almaktadır (Çizelge 1.1).

**Çizelge 1.1.** Multipotent kök hücre örnekleri ve bunların köken aldığı germ tabakası çizelgesi.

<b>Germ tabakası orjini</b>	<b>Multipotent kök hücreler</b>
<b>Endoderm</b>	Pulmoner epitelyal kök hücreler, gastrointestinal sistem kök hücreleri, pankreatik kök hücreler, hepatik oval hücreler ve prostat bezi kök hücreleri
<b>Mezoderm</b>	Hematopoetik kök hücreler, mezenkimal kök hücreler, kemik iliği kök hücreleri, kardiyak kök hücreler, kaslardaki satellit hücreler
<b>Ektoderm</b>	Nöral kök hücreler, dental pulpa kök hücreleri, nöral krest kök hücreler, kıl folikülü kök hücreleri

- **Oligopotent kök hücreler**

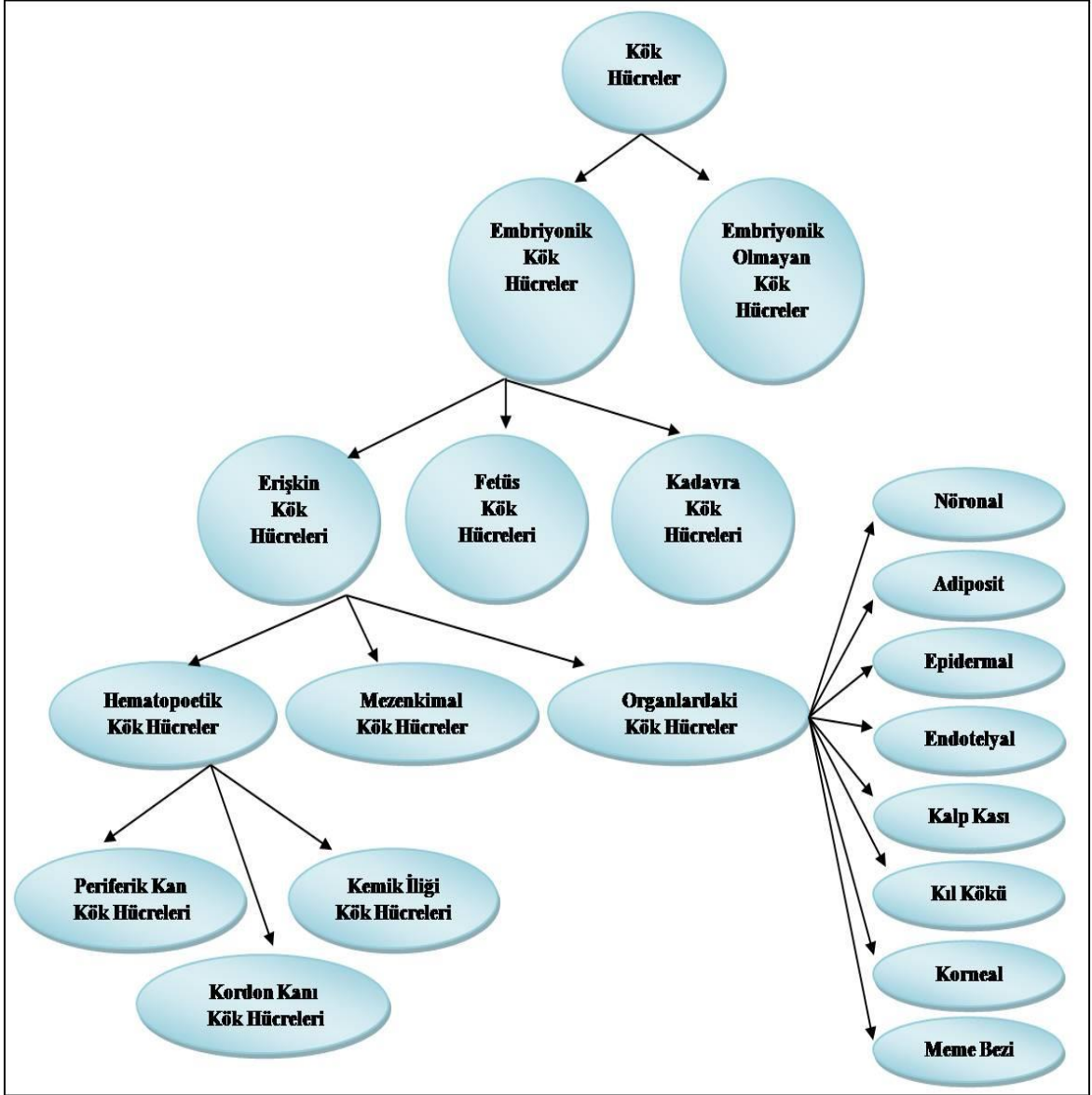
Multipotent kök hücrelerin altında yer alır ve belirli bir doku içinde iki-üç soy farklılaştırabilir ve oluşturabilir. Oligopotent kök hücreler, domuzların oküler yüzeyinde tanımlanmıştır ve kornea ve konjonktival hücrelere farklılaşabilmektedir (Majo et al. 2008). Bronkoalveolar kanal bağlantı hücreleri, bronşiyol epiteli ve alveoler epiteline farklılaştığı için oligopotent olarak adlandırılır (Kim ve diğ. 2005). Nöral krista kaynaklı kök hücreler de bunlara örnektir.

- **Unipotent kök hücreler**

Sadece tek bir hücre tipine farklılaştığı bilinen kök hücrelerdir. Progenitör (öncül) hücreler olarak da isimlendirilir. Osteoprogenitör hücreler, kondroprogenitör hücreler, hepatosit progenitör hücreler unipotent kök hücreye örnektir.

### **Kaynağına göre kök hücreler;**

Kök hücreler temelde elde edildikleri kaynağına göre embriyonik kök hücreler ve embriyonik olmayan kök hücreler olmak üzere ikiye ayrılırlar (Çizim 1.6). Pluripotent kök hücreler olan embriyonik kök hücreler, embriyonun blastokist aşamasında iç hücre kitlesinden elde edilmektedir. Embriyonik olmayan kök hücreler ise; erişkin kök hücreler, fetal kök hücreler, kadavra kök hücreleri, göbek kordonu ve plasenta kök hücreleridir (Can, 2014) .



**Çizim 1.6.** Elde edildikleri kaynaklara göre kök hücre sınıflandırması. İnan S., Özbilgin K. (2009) Sağlıkta Birikim, Cilt 1 Sayı 5'ten alınmıştır.

- **Embriyonik kök hücreler**

Embriyonun blastokist aşamasında (4-5 günlük) iç hücre kitlesinde yer alan, pluripotent kök hücrelerdir. İlk defa 1981 yılında Evans ve arkadaşları tarafından 3.5 günlük fare embriyosu blastokist iç hücre kitlesinden izole edilmişlerdir (Evans ve Kaufman 1981). 1998 yılında Thomson ve arkadaşları, IVF ile elde edilen ve araştırma için aile tarafından bağışlanan taze veya donmuş embriyolarla çalışma yapılmıştır. Blastokist aşamasında insan EKH elde edilmiştir (Thomson ve diğ. 1998).

Üç germ tabakasına da farklılaşabilirler. Embriyonik kök hücrelerin in vitro koşullarda farklılaşmadan çoğalmaları için uygun kültür ortamının sağlanması gereklidir. Uygun besi ortamı ve kültür şartları sağlandığında, indüklenerek farklılaşmasının istenilen yönde kontrol

edilebilmektedir (Tekeli ve diğ. 2016).

- **Embriyonik olmayan kök hücreler (Yetişkin kök hücreler, YKH)**

YKH ayrıca stromal hücreler olarak da adlandırılır. Yetişkin kök hücreler, fetal kök hücreler, kadavra kök hücreleridir. Yetişkin kök hücreler üzerinde en çok çalışılan kök hücrelerdir. Yetişkin kök hücreleri içinde hematopoetik ve MKH'ler en çok çalışılanlar olup multipotent özellik gösterirler. Diğer unipotent yetişkin kök hücreleri beyinde, kardiyovasküler sistemde, kas ve iskelet sisteminde, sinir sisteminde, gastrointestinal sistemde, epitel dokuda, testiste, ovaryumda, kemik iliğinde, karaciğerde, yağda, retinada, memede bulunan dokulara özgü kök hücreler ve koku kök hücreleridir (Caplan 1991, Kim ve diğ. 2000, Murrell ve diğ. 2005, Tekeli ve diğ. 2016). Bu yetişkin kök hücre tiplerinden bazıları aşağıda detaylı olarak tartışılmıştır.

- **Hematopoetik kök hücreler (HKH)**

Hematopoetik kök hücreler, 1963'te Becker ve arkadaşları tarafından keşfedilen ilk tip yetişkin kök hücrelerdir (Becker ve diğ. 1963). Bu hücreler kemik iliğinde bulunur ve kendilerini yenileyebilir ve izole edilebilirler (Lanza ve diğ. 2001). Asimetrik hücre bölünmesi geçirerek yeni bir kök hücre üretebilecekleri gibi farklı hücre tiplerine de dönüşebilirler. Kemik iliğinden elde edilen hücrelerle yapılan bir çalışmada, kan hücrelerine ek olarak, beyinde kas ve nöron benzeri hücrelere farklılaşabildiğini öne sürmektedir (Hasetine 1999). Kemik iliği en az üç çeşit kök hücre içermektedir: HKH'ler, keşfedilen ilk çeşit olup her kan hücresi tipine farklılaşabilmektedir. Birkaç yıl sonra keşfedilen ikinci çeşit kemik iliği mezenkimal kök hücreleridir (Kİ-MKH); bunlar kemik, kıkırdak, yağ ve lifli bağ dokusu üretebilen karma bir hücre popülasyonudur (Chun ve diğ. 2007, Sharon ve Puleo 2008). Üçüncü çeşit hücreler ise endotel progenitor hücreler (EPH) olarak bilinir ve yara iyileşmesi, ekstremitte iskemisi, postiyokardiyal enfarktüs sendromu, arteriyoskleroz ve tümör gelişimi sırasında postnatal neovaskülarizasyonda rol alan periferik kan mononükleer hücre popülasyonu içerirler (Kim ve diğ. 2000, Reubinoﬀ ve diğ. 2000). Hematopoietik kök hücrelerin göze çarpan özellikleri, kemik iliğinde sürekli kendi kendini yenileme kabiliyetleri ve tüm kan hücrelerine farklılaşma yetenekleridir. HKH normalde kemik iliğinde bulunur, ancak bazı koşullar altında diğer dokulara yerleşmek için kandan dokulara geçerler. Ayrıca fetal karaciğerde, dalakta, plasenta kanında ve göbek kordonunda bulunurlar. Yapılan birkaç çalışmada HKH'lerin karaciğer benzeri bir hücre fenotipine dönüşebileceği ortaya konmuştur (da Silva Meirelles ve diğ. 2008b, Wakayama ve diğ. 1998). Işınlanmış farelerle yapılan bir çalışmada ise nakledilen HKH'lerin, sadece çeşitli kan

hücreleri tiplerine (embriyonun mezoderm tabakası) değil, aynı zamanda akciğerde, bağırsakta (endoderm tabakası) ve derideki (ektoderm tabakası) epitel hücre fenotiplerine de dönüştüğü gösterilmiştir (Betthausen ve diğ. 2000). Bazı bilim adamları, daha önceki gelişim aşamalarında, farklı dokulardan gelen HKH'lerin kendi kendini çoğaltma yeteneklerinin büyük olduğunu, farklı homing ve yüzey özellikleri gösterdiğini ve bağışıklık sistemi tarafından reddedilme olasılığının düşük olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, terapötik transplantasyon için kullanılabilirler (Solter 2000) ve hayat kurtarıcı rejeneratif tedaviler için potansiyelleri gelecekte büyük ölçüde genişletilebilir.

- **Mezenkimal kök hücreler (MKH)**

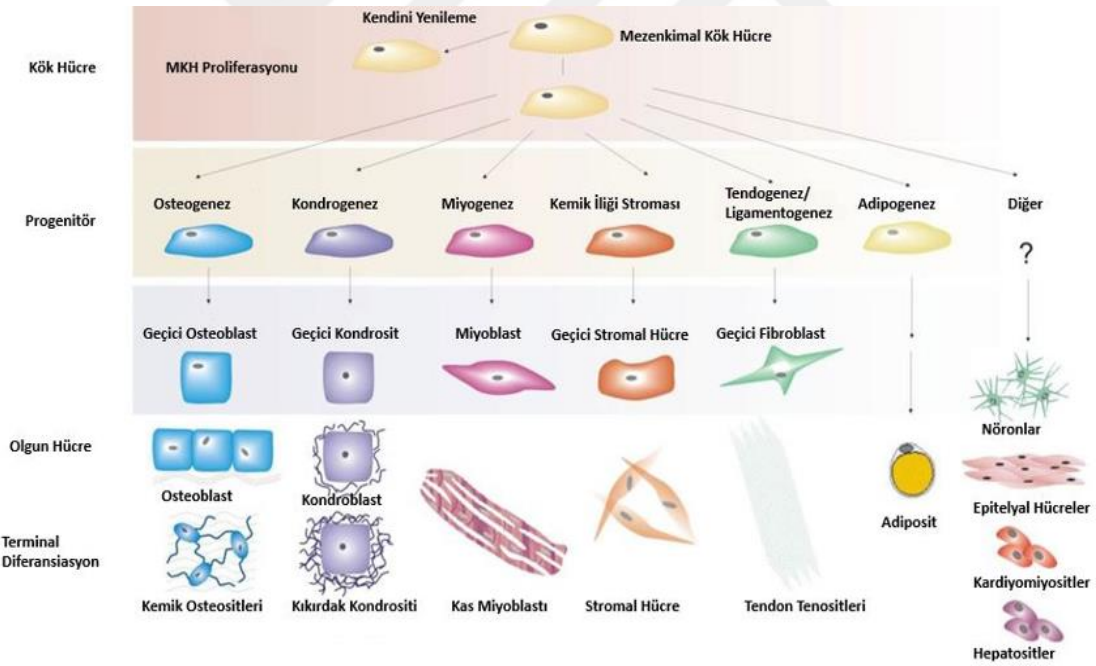
Kemik iliğinde mezenkimal progenitör hücrelerin varlığı, on dokuzuncu yüzyılın sonlarından itibaren, tavşan iliğinin heterotopik nakillerinde osteojenik potansiyeli gösteren ilk kişi olan Goujon (GOUJON 1869)' un çalışmaları ile belgelenmiştir ve daha sonra, Baikow (Baikow 1870) tarafından yapılan nakil deneylerinde doğrulanmıştır. 1970 yılında yapılan bir çalışmada fare kemik iliği stroması başka bir dokuya nakledilmiş ve burada bu hücrelerinin yağ, kıkırdak, kemik ve retikulum hücrelerine dönüşebildiği gösterilmiştir (Pittenger ve diğ. 1999). Böylece kemik iliğinde hematopoetik olmayan öncü hücrelerin var olduğu anlaşılmıştır. 1990'larda, Caplan MKH'lerin klinik çalışmalarını yayınlayıp “mezenkimal kök hücreler (MKH)” ile popüler olurken (Caplan 1991, Tabata 2008) bazı araştırmacılar hala bunlara kök hücre olarak kabul etmemeyi tercih etmiştir (Ballas ve diğ. 2002, Yoo ve diğ. 2011).

Uluslararası Hücresel Tedavi Derneği (ISCT) Mezenkimal ve Doku Kök Hücre Komitesi, 2005'te (McCulloch ve Till 1964) yayınlanan MKH'ler için tanımladığı özelliklere göre tek tip bir terminoloji önermiştir: birinci olarak, MKH'ler standart kültür koşullarında plastiğe yapışabilir olmalıdır; ikincisi, yüzey moleküllerinden CD105, CD73 ve CD90 gibi yüzey belirteçlerinin pozitif, CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79a, CD19 ve HLA-DR yüzey belirteçlerinin negatif olması gerekir; üçüncüsü, in vitro olarak osteoblastlara, adipositlere ve kondroblastlara farklılaşabilmeleri gerekmektedir (Caplan ve Bruder 2001, Horwitz ve diğ. 2002, Phinney ve Prockop 2007). MKH osteoblastlar, adipositler ve kondroblastlara ek olarak, miyositler, tendositler ve ligament hücreleri dahil olmak üzere çok çeşitli özelleşmiş hücreler farklılaştığı gösterilmiştir (Jiao ve Chen 2008, Taupin 2006) (Çizim 1.7). MKH' ler vücudun farklı yerlerinde, örneğin kemik iliğinde, perisitler gibi kan damarlarının çevresinde, yağda, deride, kaslarda, dişlerde ve diğer yerlerde bulunur (Jensen ve diğ. 2008, Jiao ve Chen 2008). Yakın zamana kadar, yetişkin kök hücrelerin sadece çeşitli hücrelerin

olgun fenotiplerine farklılaştığına inanılıyordu, ancak MKH soyları içinde, kondrositlerin osteoblastlara ve adipositlere farklılaştırabildiklerini ve fenotiplerini osteoblastlara değiştirebildikleri gösterilmiştir. Bu bulgular MKH'lerin plastisitesi göstermiştir (Altman ve diğ. 2014, Crisan ve diğ. 2008, Nagano 2003, Weiner 2008). "Plastisite" terimi, bir yetişkin dokusundan türetilen bir kök hücrenin, başka bir dokusundan farklılaştırılmış bir hücre tipine farklılaşma kabiliyetini ifade eder (Devine 2002, Jiang ve diğ. 2002). Bu süreç "ortodoks olmayan farklılaşma" veya "trans farklılaşma" olarak adlandırılır (Caplan 2007, da Silva Meirelles ve diğ. 2008). Bununla birlikte, birçok örnek, MKH'lerin, hepatosit benzeri hücreler gibi endodermal bir fenotipe farklılaşabildiğini göstermiştir (Duan ve diğ. 2007, Luttun ve diğ. 2006, Mimeault ve Batra 2008). Ek olarak, MKH'lerin, retina pigment epitel hücreleri (Ikeda ve diğ. 2008, Nolen-Walston ve diğ. 2008), sebace kanal hücreleri (in 't Anker ve diğ. 2004), cilt epitel hücreleri (Wilson ve diğ. 2011) ve böbrek içindeki tübüler epitel hücreleri gibi epitel hücrelerine farklılaştığı gösterilmiştir (Mizuno 2010). Kemik iliği naklindeki donör kemik iliği hücreleri, endotel (Choi 1998, Lin ve diğ. 2000), karaciğer (Petersen ve diğ. 1999, Theise ve diğ. 2000), pankreas adacık beta hücreleri (Ianus ve diğ. 2003, Lee ve Stoffel 2003), kalp (Quaini ve diğ. 2002), beyin (Priller ve diğ. 2001), tip II pnömositler (Krause ve diğ. 2001), böbrek (Poulsom ve diğ. 2001), glomerüler mesangial hücreler (Masuya ve diğ. 2003) ve diğer organlara (Krause ve diğ. 2001) farklılaşma potansiyeline sahip multipotent kök hücreleri içerir. Yetişkin kök hücrelerin genellikle, kültürde büyütüldüklerinde farklılaşmamış bir durumda tutulması, izole edilmesi ve saflaştırılması zor olduğu ve farklılaşmamış bir durumda tutulması zor olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, yetişkin kök hücrelerin vücut dışında büyütülmesi için yöntemler geliştirmek, şu anda daha ileri klinik uygulamalarda hedeflenen kök hücre araştırmalarının önceliklerinden biridir.

**Kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler (Kİ-MKH)**, çeşitli hücrelere farklılaşabilen majör multipotent mezenkimal kök hücre gruplarından biridir (Hattori ve diğ. 2006; Keilhoff ve diğ. 2006, Oswald ve diğ. 2004). Kİ-MKH' nin görevleri sitokinler, çeşitli büyüme faktörleri, ekstraselüler matriks proteinleri gibi maddeleri sentezlemek, düzenlemek, hücre-hücre etkileşimleri düzenlemek ve hematopoeze doğrudan ve dolaylı olarak destek olmaktır (Tekeli ve diğ. 2016, Tocci ve Forte 2003). Kemik iliği kaynaklı MKH' ler günümüzde kemik iliği aspirasyonu ile ficol veya perkollun yoğunluk gradiyentinden faydalanarak toplanan mononükleer hücrelerin plastik yüzeye yapışarak çoğaltılması ve pasajlanmasıyla ya da manyetik boncuklar kullanılarak floresan aktive hücre ayırma (FACS) ile yapılan taramayla elde edilirler (Harel ve Harel 2013, Tekeli ve diğ.

2016). Bu hücrelerin; interlökin 1 alfa, interlökin 1 beta, interlökin 6, 7, 8, 11, 14, 15, hepatosit büyüme faktörü, LIF, FGF, tümör nekrozis faktörü gibi kemokin ve sitokinleri sentezleyerek ve düzenleyerek hematopoeze destek olmaktadır. *İn-vitro* olarak çoğalabilirler ve immün ayrıcalıklı özelliklere sahip olabilirler (Anjos-Afonso ve diğ. 2004, Nauta ve Fibbe 2007, Pittenger ve diğ. 1999). Farklılaşma yeteneklerinin fazla olması, migrasyon özellikleri, hasarlı dokunun tamirine yardımcı olması, genetik geçmişlerinin kararlı olması, tümör oluşturma riskinin diğer kök hücre türlerine göre düşük olması gibi nedenlerle Kİ-MKH 'lerin birçok hastalığı tedavi etmek için güçlü bir aday araç olduğu düşünülmektedir (Nauta ve Fibbe 2007, Tekeli ve diğ. 2016). Klinik öncesi çalışmalar Kİ-MKH'lerin nörolojik bozukluklar üzerinde yararlı etkilerini göstermiştir (Jing ve diğ. 2014). Kİ-MKH'ler sinir rejenerasyonunu (Wang ve diğ. 2009) kolaylaştırır, diyabetik nöropatiyi (Shibata ve diğ. 2008), multipl sklerozu (Bai ve diğ. 2009) geliştirir ve inme sonrası fonksiyonel iyileşmeye yardımcı olur (Chen ve diğ. 2001).

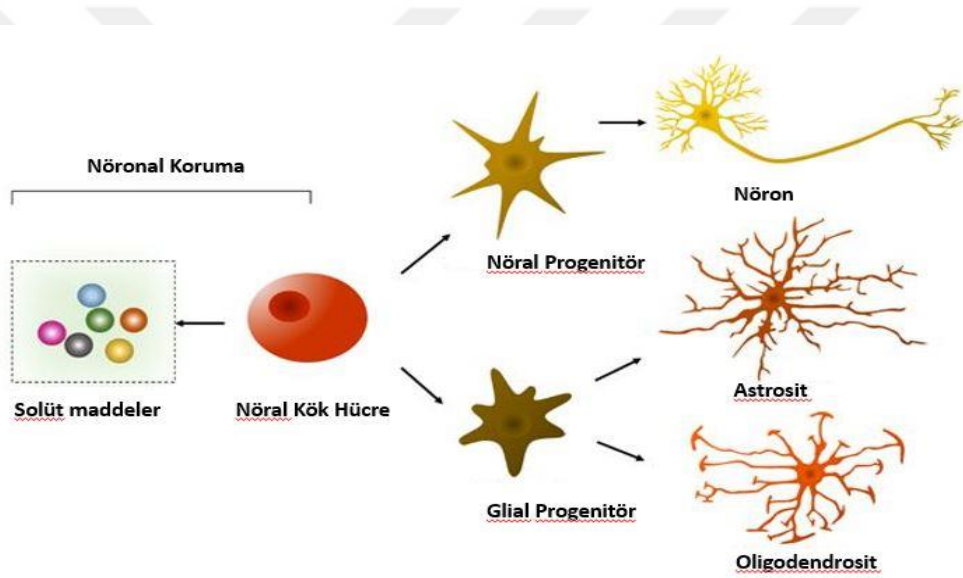


**Çizim 1.7.** Mezenkimal kök hücre farklılaşma potansiyeli çizimi. Caplan ve Bruder (2001)'den uyarlanmıştır.

- **Nöral kök hücreler**

Nöral kök hücreler (NKH) üç ana hücre tipine farklılaşabilir: nöronlar, astrositler ve oligodendrositler (Kehat ve diğ. 2001) (Çizim 1.8). Beynin ventriküler bölgesinde tespit

edilmiş olan NKH'ler, nöroblastları, öncül hücreleri ve astrositleri içerir. Hepsi, bu hücrenin tanımlanmasına izin veren GFAP (glial fibril asidik protein) ve glikoprotein CD133 gibi proteinleri eksprese eder. Lateral ventriküllerde (ependimal hücreler) çoğu NKH sessizdir ve aktif bölünme gerçekleştirmez. NKH'ler, sinir öncüllerinin spesifik bir belirteci olan nestini eksprese eder. Ayrıca, hipokampüsün NKH'leri beyin hafıza fonksiyonunda önemli bir rol oynamaktadır. NeuN ve kalbindin gibi nöronal markerleri eksprese ederler (Levenberg ve diğ. 2002). NKH'ler glial benzeri hücrelere farklılaşabilmektedir (Assady ve diğ. 2001). Bunların, endişe, depresyon, hafıza bozulması ve bazı beyin tümörleri gibi beyin hastalıklarını iyileştirme potansiyeline sahip olduğuna inanılmaktadır (Alison ve Islam 2009). Ayrıca, bu hücrelerin omurilik yaralanmalarına bağlı paralizilerin tedavisinde kullanılabilecekleri söylenmektedir (Itskovitz-Eldor ve diğ. 2000, Wilmut ve diğ. 1997).



**Çizim 1.8.** Nöral kök hücre farklılaşması şematik çizimi. Tang ve diğ. (2017)'den uyarlanmıştır.

## 1.2. Aquaporinler

Membran geçirgenliği 1950'lerden itibaren tanımlanmaya başlanmıştır. Çözünmüş moleküllerin zarda bulunan 'porlar' (gözenekler) yoluyla kütle akışı olarak geçişi ozmoz olarak tanımlanmış ve çözünmüş molekülün geçirgenlik ve ozmotik etkisinin bariyerin yapısına bağlı olduğunu anlaşılmıştır (Mauro 1957). 1950'lerde eritrosit ve böbrek tubül geçişlerinin (permeasyonunun) araştırmalarına dayanarak, suyun hızlı hareketine izin veren bu porları membran proteinlerinin oluşturduğu düşünülmektedir (Preston ve diğ. 1993). Bununla birlikte, bu proteinlerin fonksiyonu aquaporinlerin keşfine kadar anlaşılamamıştır ve

aquaporinlerin keşfi ile membran geçirgenliğinin değerlendirilmesi değişmiş ve suyun hareketinin çözülmüş maddelerden bağımsız olabileceği anlaşılmıştır.

Peter Agre ve ekibi, eritrositler ve böbrek proksimal tübülerinden hücre membran iskeletiyle ilişkili (Denker ve diğ. 1988) yeni 28 kDa bir integral membran proteinini izole edip saflaştırmıştır. Başlangıçta, hücre iskeletiyle hücre membranı arasındaki bağlantıya dahil olduğu düşünülmekteydi. NH<sub>2</sub> amino asit dizisinin, lensin 26 kDa Major İntrensek Proteini (MIP) ile % 37 benzeştiği ve özdeşleştiği görüldüğünde bunun *gap-junction* bölgelerinin özel bir bileşeni olduğu düşünülmüştür (Gorin ve diğ. 1984). Daha sonra yapılan bazı çalışmalarda 28 kDa protein ile farklı türlerden MIP kanal ailesinin diğer üyeleri arasında amino asit sekans özdeşlikleri (benzerliği) tespit edilmiştir (Pao ve diğ. 1991, Smith ve Agre 1991), homo-tetramerik kompleks yapısında 28 kDa proteinin varlığını doğrulamıştır.

Preston ve Agre'nin 1991 yılında yaptıkları çalışmada, 269 amino asit kalıntısının (rezidüsünün) amino asit sekansı (dizisi) analiz edilmiştir ve eDNA'yı izole etmişlerdir (Preston ve Agre 1991). Şu anda CHIP28 (28 kDa'lık kanal benzeri integral membran proteini) olarak adlandırılan 28 kDa'lık bir yapı tanımlamışlardır (Denker ve diğ. 1988, Preston ve diğ. 1992, Preston ve Agre 1991).

Su kanallarının keşfedilmesindeki başarısı için Peter Agre, iyon kanalları üzerindeki yapısal ve mekanik çalışmaları nedeniyle ortak olarak Roderick MacKinnon'a da verilen 2003 yılı Kimya Nobel Ödülü'nü almıştır.

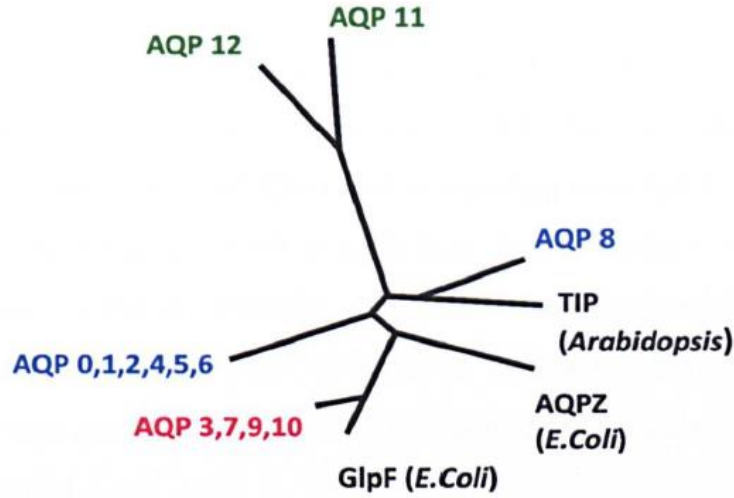
AQP proteinlerinin suyun biyolojik zarlar boyunca pasif taşınması ile ilişkisini kesin olarak doğrulamakla kalmadı, aynı zamanda birçok araştırmacının da ilgisini çekmiştir ve bunun sonucunda da aquaporin ile ilgili araştırmalarda bir patlamaya neden olmuştur. AQP1'in keşfedilmesinden önce, su taşınması ile ilgili oldukları bilinmese de aynı protein ailesinden; *Escherichia coli* gliserol kolaylaştırıcısı (Richey 1972) ve sığır mercek lifinin ana iç proteini gibi diğer proteinler (Gorin ve diğ. 1984) bilinmekteydi.

Agre ve diğ. Tarafından 1993'te "Aquaporin" isminin verilmesinden bugüne kadar, hayvan, bitki ve mikroorganizmalar dahil olmak üzere tüm yaşam formlarında organizmalarda binbeşyüzün üzerinde aquaporin keşfedilmiştir (Agre ve diğ. 1993, Gupta ve diğ. 2012). Memelilerde çeşitli fizyolojik işlevlerde yer alan on üç aquaporin izoformu (AQP0 - AQP12) bulunmuştur. Filogeni ağacı Çizim 1.9' da gösterilmektedir (Krane ve Goldstein 2007).

Hidropati grafikleri ve primer sekanslara dayanarak, üç sınıf aquaporin vardır. Birinci sınıf, **ortodoks AQP**' leri içerir (AQP0, AQP1, AQP2, AQP4, AQP5, AQP6 ve AQP8),



AQP6 hariç bunlar ağırlıklı olarak su seçici AQP'lerdir (AQP6 klor iyon kanalıdır). Ayrıca AQP8 su dışında hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) de geçirgendir (Yasui ve diğerleri, 1999). İkinci sınıf AQP'ler AQP3, 7, 9 ve 10' u içeren su ve üre, gliserol, hatta arsenit gibi nötr çözünen maddelerin geçişine izin veren **aquagliseroporinlerdir** (Agre ve diğ. 2002, Ishibashi ve diğ. 2009, King ve diğ. 2004). Üçüncü sınıf AQP'ler, AQP11 ve AQP12' yi içerir; en son keşfedilen AQP'lerdir ve bu yüzden daha az anlaşılmişlardır. Farklı NPA motiflerine sahiptirler, "süperaquaporinler" olarak adlandırılırlar ve Çizim 1.9 da gösterildiği gibi diğerlerine göre farklı bir alt gruptadırlar (Ishibashi ve diğ. 2009). Su geçirgenliği düşük ancak gliserol, amonyak, borik asit ve silikon gibi substratlara geçirgenliği yüksek olan birçok yeni aquaporin ailesinin keşfedilmesiyle birlikte, "aquaporin" (su taşınan por) isminin yanıltıcı olduğu anlaşıldı. Bunun ışığında, pek çok araştırmacı bu sıradışı aquaporinleri sınıflandırmak için aquagliseroporin ve süperaquaporin gibi terimler önermişlerdir (Ishibashi 2006, Kayingo ve diğ. 2001, Nozaki ve diğ. 2008, Rojek ve diğ. 2008). Memelilerde bulunan bu aquaporinlerin vücutta buldukları yerler değişkenlik göstermektedir (Çizelge1.2).



**Çizim 1.9.** İnsan aquaporin filogeni ağacı; 1. Sınıf – mavi, 2. Sınıf – kırmızı, 3. Sınıf – yeşil olarak gösterilmiştir. Ishibashi ve diğ. (2009)' dan uyarlanmıştır.

Jung ve arkadaşları aquaporin yapısının "Kum Saati modeli" ni önerdi (Jung ve diğ. 1994). Ek olarak, yüksek çözünürlüklü aquaporin yapıları, her bir monomerin membran boyunca bir gözenek oluşturmasıyla birlikte, aquaporinlerin öncelikle homotetramer olarak bulunduğunu ortaya koymuştur (Eriksson ve diğ. 2013, Fu ve diğ. 2000, Horsefield ve diğ. 2008, Kirscht ve diğ. 2016, Törnroth-Horsefield ve diğ. 2006). Aquaporin monomeri,

sitoplazmada yer alan hem amino hem de karboksi termini ile beş halkadan (*Loop A - Loop E*) ile birbirine bağlanmış altı transmembran  $\alpha$ -heliksten (Heliks 1 - Heliks 6) oluşmaktadır. B ve E halkaları (*loop*), asparajin-prolin-alanin (NPA) aquaporin motifini içermektedir (Mitsuoka ve diğ. 1999, Pao ve diğ. 1991).

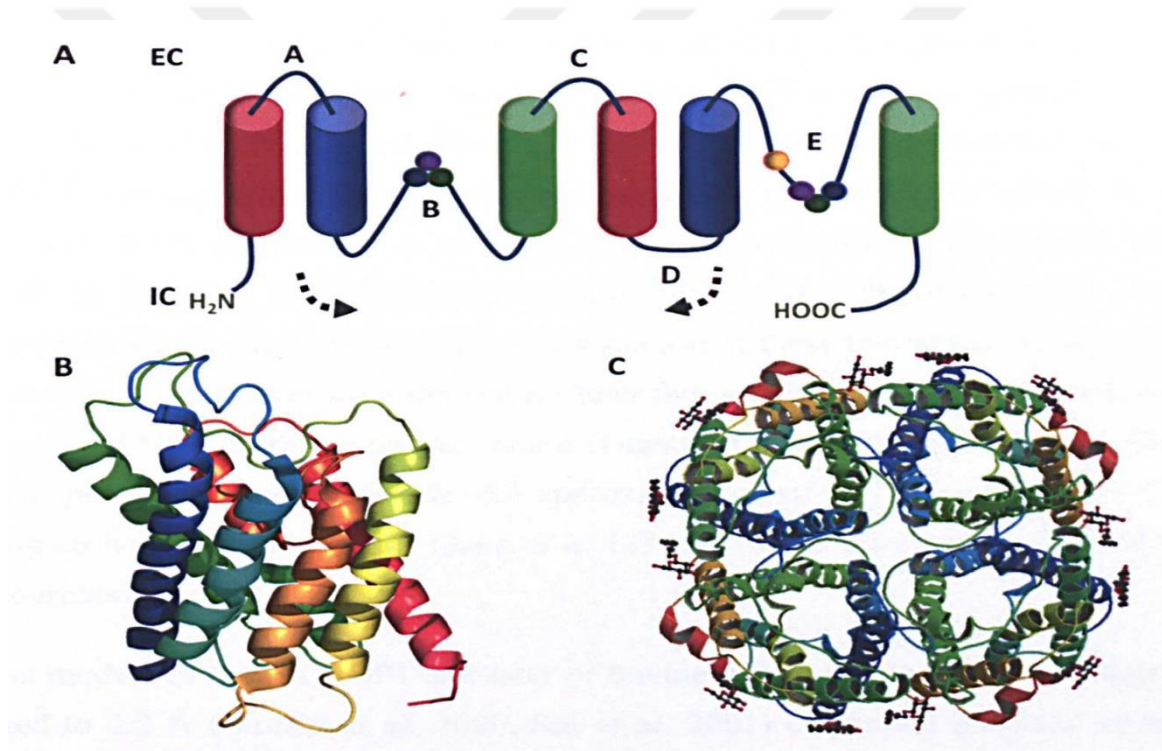
**Çizelge 1.2.** Aquaporinlerin doku dağılımı. Ishibashi ve diğ. (2009)' dan uyarlanmıştır.

	AQP 0	AQP 1	AQP 2	AQP 3	AQP 4	AQP 5	AQP 6	AQP 7	AQP 8	AQP 9	AQP 10	AQP 11	AQP 12
Kalp	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-
Beyin	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Göz	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Gözyaşı bezi	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Tükürük bezi	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
Kulak	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Akciğer	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Karaciğer	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
Pankreas	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+
Böbrek	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-
Safra kesesi	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
Dalak	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Mide	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
Barsaklar	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
Kadın Üreme Sistemi	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Erkek Üreme Sistemi	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-
Mesane	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Deri	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
İskelet kası	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-
Düzkas	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yağ dokusu	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-

Aquaporinlerin genel katlanması ve topolojisi, aquaporin familyası içinde yüksek oranda korunmaktadır. Substrat spesifitesi, aquaporinlerin gözeneklerinde iki bölgeden oluşan bir seçicilik filtresi ile yönetilir. Birinci bölge protonları gözeneklerden geçmesini engelleyen korunan NPA bölgesidir (Murata ve diğ. 2000). NPA bölgesi protonların veya pozitif yüklü herhangi bir molekülün geçmesini engelleyen net bir pozitif yük oluşturur. Protonların aquaporin gözeneklerinden geçmesi, hücrelerin zar potansiyelinin sürdürülmesinde hayati öneme sahiptir (Tajkhorshid ve diğ. 2002). İkinci bölge, aromatik arginin (ar/R) bölgesidir (de Groot ve diğ. 2003). Ar/R bölgesindeki bu amino asitler, substratın por boyunca geçirgenliğini belirler. Mutasyon çalışmaları, aquaporinlerin substrat

seçiciliğini, ar/R bölgesinde nokta mutasyonları oluşturarak değiştirmenin mümkün olduğunu göstermiştir (Beitz ve diğ. 2006, Eriksson ve diğ. 2013, Kirscht ve diğ. 2016b, Kitchen ve Conner 2015, Wallace ve Roberts 2005).

Farklı koşullara uyum sağlamak için canlı organizmalar, hücrelerinde bulunan aquaporinlerin fonksiyonunu düzenler. Aquaporinlerin düzenlenmesi, ihtiyaca bağlı olarak, farklı aquaporin izoformlarının, belirli hücre tiplerinde ifade edildiği transkripsiyon seviyesinde başlar. Örneğin, memelilerde, AQP2 ve AQP4 gibi suya özgü aquaporinler, böbrek hücrelerinde eksprese edilirler ve idrardan suyun geri emilerek su kaybını önlerlerken, AQP7 ve AQP9 gibi aquagliseroporinler adipoz dokularda ve karaciğer hücrelerinde eksprese edilir ve bu dokularda gliserolün geçirgenliğini kolaylaştırmaktadırlar (Day ve diğ. 2014, King ve diğ. 2004).



**Çizim 1. 10.** (A) İnsan AQP1'in topolojisi, her biri bir NPA motifini (mavi / mor ve yeşil küreler) barındıran korunmuş bir halka ile üç transmembran alanının tandem tekrarlarını göstermektedir; turuncu küre, civaya duyarlı sistin kalıntısını temsil eder. (B) AQP1'in tersiyer yapısı, (C) Dört monomer tarafından oluşturulan AQP1 tetrameridir. Groot ve diğ. (2003) uyarlanmıştır.

Ozmolaritede değişiklikler gibi diğer dış koşulların (Johansson ve diğ. 1996), pH değişiminin (Shelden ve diğ. 2009, Tournaire-Roux ve diğ. 2003) ve  $Ca^{+2}$  gibi iki değerlikli katyonların konsantrasyonunun (Gerbeau ve diğ. 2002, Németh-Cahalan ve Hall 2000, Verdoucq ve diğ. 2008) bazı aquaporin izoformlarında su geçirgenliğini modüle ettiği bildirilmiştir. Kalsiyuma ( $Ca^{+2}$ )'ya ek olarak, manganez ( $Mn^{+2}$ ) ve kadmiyumun da ( $Cd^{+2}$ )

bazı AQP'leri inhibe ettiği görülmüştür (Verdouch ve diğ. 2008). Cıvanın birçok aquaporini inhibe ettiği gösterilmiş olmasına rağmen, bazı aquaporinlerin cıva duyarsız olduğu bildirilmiştir (Calamita ve diğ. 1995).

### **1.1.2. Aquaporin 1 (AQP1)**

Aquaporin 1, ilk bulunan AQP'dir ve en çok çalışma yapılan AQP'dir. Esasen bir endotel AQP'idir, ancak tüm endotellerde eksprese edilmemiştir. İnsanlarda ve kemirgenlerde kılcallarda ve venüllerde tanımlanmış, ancak küçük arterlerde bulunmamıştır (Devuyst ve diğ. 1998). Vasküler bir bileşen olarak AQP1'in doku dağılımı çok geniştir (Çizelge 1.2) AQP1 eksprese eden başka hücre tipleri de vardır; ancak bunların çoğundaki işlevi hala belirsizliğini koruyor. Daha önce tarif edildiği gibi, AQP1 eritrositlerde, proksimal tübüllerdeki apikal ve bazolateral plazma zarlarında, Henle'nin inen ince kolunda ve böbreğin vasküler endotelinde bulunur (Preston ve diğ. 1992). Aynı zamanda beynin koroid pleksusunda da bulunur (Gunnarson ve diğ. 2004, Nielsen ve diğ. 1995). Safra kanallarının apikal membranında eksprese edilir (Tietz ve diğ. 2003) ve son zamanlarda suyun yanı sıra nitrik oksite (Herrera ve Garvin 2007) ve karbon dioksite (Cooper ve Boron 1998, Nakhoul ve diğ. 1998) geçirgen olduğu gözlenmiştir. Aquaporin 1, anjiyogenezde hücre göçünün uyarılmasında rol oynamaktadır (Monzani ve diğ. 2009). Çeşitli türlerde çoğalan tümör mikrodamarlarında güçlü bir şekilde eksprese edilir (Endo ve diğ. 1999, Saadoun ve diğ. 2002). AQP1 null farelerde tümör büyümesi ve metastazı, tümör mikrovasküler gelişiminin zayıflamasının sonucu olarak belirgin şekilde azalmıştır (Verkman ve diğ. 2008). AQP1 null fareler idrarı konsantre edememektedir; ayrıca bu farelerde proksimal tübülün ve inen vasa rektanin su geçirgenliği azalmış olarak bulunmuştur (Agre ve Nielsen 1996). AQP1 null insanlarda (Colton-null), toplayıcı kanallarda ve / veya vasa rektada su geçirgenliğinin azalması gibi belirgin bir klinik yan etki yoktur (Huebert ve diğ. 2011, King ve diğ. 2001). AQP1'nin karaciğer sirozunda aşırı eksprese edildiğini ve anjiyogenez, fibroz ve portal hipertansiyonu desteklediği bulunmuştur (Huebert ve diğ. 2011).

### **1.1.3. Aquaporin 3 (AQP3)**

İlk defa böbreğin toplayıcı kanalının bazolateral membranında tanımlanmıştır (Ma ve diğ. 2000). Gliserol intrinsik protein veya AQP3 olarak adlandırılmıştır ve suya ek olarak gliserol ve üre de taşıyabilmektedir. Gastrointestinal hücrelerin epitelinde (Laforenza ve diğ. 2005) eksprese edilir. Üst solunum yolu bazal hücrelerinde ve alveollerde tip II pnömositlerinde, apikal ve bazolateralde bulunur (Kreda ve diğ. 2001). Ayrıca eritrositlerde

de ekprese edilmektedir (Roudier ve diğ. 2002). AQP3 ile ilgili araştırma alanlarından biri, cilt neminin düzenlenmesindeki rolüdür; keratinositlerin bazal katmanlarında bulunur ve cilt yenilenmesini ve tümör gelişimini etkilediği gösterilmiştir (Verkman ve diğ. 2008). AQP3 null fareler, çok kuru bir cilt geliştirmiştir. Bununla birlikte, gliserol ve / veya artan AQP3 ekspresyonuna aşırı maruz kalma, bazal cilt kanseri hücrelerini uyarmaktadır. AQP3 null farelerin cilt tümörleri önemli ölçüde inhibe edildiği, gliserol ve gliserol kolaylaştırma up-regülasyonunun keratinokarsinomayı destekleyebileceği hipotezi için kanıtlar sağlanmıştır (Verkman ve diğ. 2008). Artmış gliserol taşınması ayrıca kolon kanseri ve pulmoner kanserle de ilişkilendirilmiştir (Ishibashi ve diğ. 2009). Kültürde, magnezyumun AQP3 ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir. Bu, antasitler, müshiller, diyabet tedavisi ve benzeri gibi magnezyum içeren ilaçların, potansiyel olarak tümör büyümesini kolaylaştırabileceğini düşündürmüştür (Okahira ve diğ. 2008).

#### **1.1.4. Aquaporin 7 (AQP7)**

AQP7 ilk olarak sıçan testisten klonlanmıştır (Ishibashi ve diğ. 1997) ve gliserolü de taşıdığı bulunmuştur. Bununla birlikte, insanlarda ilk önce yağ dokusunda tespit edilmiştir (Kuriyama ve diğ. 1997). Bu dokudaki rolü, glukoneogenez için gerekli olan gliserolü sağlamaktır (Kuriyama ve diğ. 2002). Ek olarak, Aqp7 null farelerin uzun süreli açlığında, gliserolün yağ dokusundan karaciğere mobilizasyonu yetersiz miktarda olmuş ve sonuç olarak derin hipoglisemi oluşmuştur. Adiposit büyüklüğü artmış ve karın içi yağ miktarı da artmıştır. Vücut yağ kütlelerinde ciddi artışa sebep olarak obezitede rol oynadığı gösterilmiştir (Hara-Chikumave diğ. 2005). AQP7'nin ayrıca, böbreklerde gliserolü yeniden emdiği (King ve diğ. 2004, Skowronski ve diğ. 2009) bulunmuştur. Tartışmalı olmasına rağmen, AQP7 infertil erkek hastaların spermelerinde üretilmemiştir ve bunu infertilite nedeni olarak belirtilmiştir (Saito ve diğ. 2004). AQP7 taşıma fonksiyonunun civa ile inhibisyonu AQP-7 izoformuna bağlıdır. *Xenopus* oositlerinde, sıçanlarda ve farelerde ekprese edilen AQP7 civa tarafından inhibe edilmez (Ishibashi ve diğ. 1997), ancak insanda AQP7 ekprese eden oositlerde, fonksiyonunun tamamen inhibe edildiği gösterilmiştir (Kuriyama ve diğ. 1997).

#### **1.1.5. Aquaporin 9 (AQP9)**

Aquaporin 9, lökositlerden (Ishibashi ve diğ. 2009) ve osteoklast farklılaşması sırasında ekspresyonda artan osteoklastlardan klonlanmıştır (Aharon ve Bar-Shavit 2006).

Üre taşıyıcısı olarak tanımlandığı ve ayrıca gliserol alım mekanizmasına da dahil olduğu için karaciğerin hepatositlerin bazolateral membranında bol miktarda bulunmaktadır. Memelilerde, AQP7 ve AQP9 üreten maya hücrelerinin arsenik taşınımı gerçekleştirdiği görülmüştür (Liu ve diğ. 2013). Karaciğerde gliserol alımının kolaylaştırılması (Maeda ve diğ. 2009) ve beyinde glikoz metabolit kanalı olarak çalışmak (Badaut ve diğ. 2014) AQP9'un fonksiyonları arındadır. Karaciğerde AQP9 ekspresyonu değerlendirildiğinde erkek sıçanların dişilere göre daha düzgün bir ekspresyon gösterdiği belirtilmiştir (Nicchia ve diğ. 2001). Uzun süreli açlık sırasında AQP9, mRNA ve protein seviyesinde arttırılmaktadır ve yeniden besleme ile normale dönmektedir. Sıçan karaciğerindeki Aquaporin 9 seviyeleri, indüklenen diabetes mellitus ile artar ve insülin ile normalleşir (Carbrey ve diğ. 2003, Kuriyama ve diğ. 2002). Yüksek insülin seviyelerine rağmen, obez insüline dirençli leptin reseptörü mutant farelerde (Ieprdb / leprdb), AQP9 seviyeleri büyük ölçüde artmıştır. Aquaporin 9 null fareler anormal gliserol ve glukoz metabolizması göstermemektedir. Plazma gliserol seviyelerinde belirgin bir artış olmasına rağmen, üre ve glukoz seviyeleri normal ölçülmüştür (Rojek ve diğ. 2008). Hem AQP7'nin hem de AQP9'un arsenik geçirgenliği de görülmüştür (As (OH)<sub>3</sub>; Liu ve diğ. 2002). AQP7 ve AQP9 üreten maya hücrelerinin arsenik taşınımı gerçekleştirdiği görülmüştür (Liu ve diğ. 2013).

#### **1.1.6. Aquaporin 10 (AQP10)**

AQP10 ilk defa Hatakeyama ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (Hatakeyama ve diğ. 2001). Tanımladıkları AQP10 proteini sadece ince bağırsağın proksimal kısımlarında, duodenum ve jejunumda gözlenmiştir ancak ince bağırsağın distal kısmı olan ileumda gözlenmemiştir.

İlk zamanlarda AQP10 kanalından sadece su geçişi olduğu, gliserol geçişinin olmadığı görülmüştür. Başka çalışmalarda AQP10'un hem su hem gliserol geçişine izin veren daha uzun farklı bir izoformu bulunmuştur. Bulunan ilk formun çevreden etkilenerek kısaltıldığı ve bundan dolayı fonksiyonunun değiştirildiği öne sürülerek ilk forma AQP10sv ismi verilmiştir ve bulunan ikinci formun gerçek AQP10 olduğu kabul edilmiştir (Morinaga et al. 2002). Her iki versiyon da ince bağırsağın insan duodenumunda ve jejunum hücrelerinde, ince bağırsakta kapiller endotel hücrelerinde AQP10sv ve epitelde AQP10 bulunduğu görülmüştür (Li ve diğ. 2005). Aquaporin 10'un fizyolojik önemi henüz tam olarak çözülmemiştir. AQP10'un daha yakın bir zamanda, kolera gibi hastalıklarla bağlantılı olarak düzenlendiği gösterilmiştir. *Vibrio cholerae*, koleraya neden olan ajandır ve hala dünyada

çok sayıda ölüme neden olmaktadır. Bakteriler, epitel hücrelerini ince bağırsakta kolonize eder ve kolera toksini salgılar, bu da kusma ve ishal nedeniyle büyük miktarda vücut sıvısı kaybına neden olan bir salgı yanıtına yol açar. Kolera hastalarında akut faz sırasında AQP10 ve AQP10sv dahil olmak üzere birkaç membran taşıyıcısının ekspresyonu düşük bulunmuştur (Flach ve diğ. 2007).

### 1.3. Yaşlanma

Yaşlanma sürecinde insan vücudunda doku ve organların rejenere olma yeteneği önemli ölçüde azalır. Bazı bilim adamları, dokuya özgü yetişkin kök hücreleri ne kadar yaşlıysa insanların o kadar yaşlı olduğunu söylemişlerdir (Peng ve diğ. 2013, Sharpless ve DePinho 2007). Yaşlanma, çeşitli dokularda ve organlarda, örneğin bağışıklık sisteminin bozulması, cilt kırılabilirliği, kardiyak fonksiyon bozukluğu, kemik dejenerasyonu ve artmış kanser gelişimi riski gibi fonksiyonel bir azalma ile ilgilidir. Hücresel yaşlanma, etkilenen hücrelerin fonksiyonunda ve replikasyon kapasitesinde değişikliklere yol açan karmaşık bir fenotiptir. Farklı protokoller, kültür koşulları ve hücre tipleri, farklı yaşlanmaya neden olur. Bununla birlikte, *in vitro*, yaşlanan hücreler genellikle karakteristik olarak genişlemiş, düzleşmiş bir morfoloji sergilerler (Sethe ve diğ. 2006). Yaşlılık G1 büyümesinin geri dönüşü olmayan bir durması (arrest) ile karakterizedir.

Bu durma, hücre döngüsünün ilerlemesini indükleyen genlerin baskılanmasına, hücre döngüsünü inhibitörlerinin artmasına (Campisi 2005), metilasyonun global artmasına (Christensen ve diğ. 2009) ve YKH' nin multipotensi özelliğinin düşmesine (Sethe ve diğ. 2006) yol açmaktadır.

#### 1.3.1. SOD1 (Süperoksit Dismutaz 1)

İnsanlarda, bazı genetik varyasyonların insan ömrü ile ilişkili olduğu rapor edilmektedir. Bu genler GH/IGF-1/INS yolağı ile ilişkili IGF1R, GHR ve FOXO3A; DNA hasarı sinyali ve onarım yolağı ile ilişkili WRN, MLH1 ve TP53 ve pro/antioksidan yolağı ile ilişkili SOD1, SOD2 ve PON1 gibi genlerdir (Castro ve diğ. 2000, Donehower 2005, Flachsart ve diğ. 2009, Van Heemst ve diğ. 2005, Kim ve diğ. 2006, Willcox ve diğ. 2008). Reaktif oksijen türleri (ROS) biyomoleküllerde hasar oluşturarak yaşlanmanın hızlanması ve yaşam süresinin kısılmasına sebep olmaktadır. Antioksidan ve diğer hücre redoks durumunu modüle edici enzim sistemleri, tüm intrasellüler ve hatta ekstrasellüler

kompartımanlardaki reaktif oksijen türlerine (ROT) karşı birinci derece savunma olarak etki etmekteir. Bu enzimlerin en önemlileri, süperoksit dismutazlar (SOD), glutatyon peroksidaz, katalaz ve peroksiredoksinlerdir. SOD'lar ilk tanımlanan antioksidan enzimlerdir (McCord ve Fridovich 1969). İnsan hücrelerinde üç farklı tip SOD ifade edilmiştir; ağırlıklı olarak sitoplazmada bulunan SOD1, mitokondriyal mangan SOD2 ve hücre dışı SOD3. Bu SOD'ların hepsi oksijen radikalini moleküler oksijene ayırıştırabilmektedir (KARIHTALA ve SOINI 2007). Bu SOD'un bilinen tek faaliyettir. SOD1, SOD2 ve SOD3 hücrenin farklı bölümlerinde yer aldıkları için serbest radikal detoksifikasyonunda birbirlerinin yerini alamazlar. SOD1, amiyotrofik lateral skleroz (FALS), Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, dang humması, kanser, Down sendromu, katarakt ve çeşitli nörolojik bozukluklar gibi çeşitli hastalıklarda rol oynamaktadır (Noor ve diğ. 2002). SOD'lar arasında SOD1 yaygın olarak bulunmaktadır ve toplam SOD'un %90'ını kapsamaktadır. Bu her yerde bulunan ve aktivite için Cu ve Zn gerektiren enzim, büyük fizyolojik öneme ve terapötik bir potansiyele sahiptir (Noor ve diğ. 2002). SOD1 aktivitesini artıran genetik manipülasyonlarda bazı türlerde maksimum yaşam süresi üzerinde hafif bir artış etkisi olmakla birlikte direk SOD1 düzeylerinin artırılması, maksimum yaşam süresini önemli ölçüde artırır (Kim ve diğ. 1994). Yapılan çalışmalarda, SOD'un yaşlanma karşıtı durumlarda (anti-aging, uzun ömür) ve dejeneratif hastalıklarda önemli bir rol oynadığını öne sürmektedir (Noor ve diğ. 2002).

### **1.3.2. COL1A1 (Kollajen 1 alfa 1)**

COL1A1 geni, iki tane alfa 1, bir tane alfa 2 zincirinden oluşan üçlü heliksin oluşturduğu kollajen tip 1 molekülünün pro-alfa 1 zincirini kodlar. Tip 1 bağlayıcı dokularda fazla oranlarda bulunan fibril formlu kollajendir ve kemik, kornea, dermis ve tendonlarda yüksek oranda bulunmaktadır. İnsanda 17 kromozomun q21.33 lokusuna lokalize olmuştur (Biondi ve diğ. 1976).

Yapılan çalışmalarda yaşlı hücrelerde COL1A1 ifadesinin, genç hücrelere göre 2,9 kat arttığı gösterilmiştir (Han ve diğ. 2018).

## **1.4. ADİPOJENİK FARKLILAŞMA VE İLİŞKİLİ GENLER**

### **LEPTİN**

Gelişim sırasında, multipotent mezenkimal kök hücrelerin adiposit, kas ve kıkırdak hücrelerine dönüştüğü görülmüştür (Watt 1991). Yerleşik önceden hazırlanmış hücre hatlarının (örneğin, 3T3-L1, 3T3-F442A ve Ob17 hatları) mevcudiyeti, adiposit



farklılaşma programının, hücre kültürünün kontrollü koşulları altında incelenmesini mümkün kılmıştır. Kültürde uygun şekilde uyarıldığında, bu hücreler farklılaşmaya uğrarlar ve adipositlerin biyokimyasal ve morfolojik fenotiplerini kazanırlar (Green ve Meuth 1974, Green ve Kehinde 1974, Cornelius ve diğ. 1994, Mandrup ve Lane 1997, Hwang ve diğ. 1997).

Leptin, öncelikle adipositlerde eksprese edilen ob geninin bir ürünüdür. Leptin reseptörleri (LEPR'ler) geniş çapta dağılmıştır. Leptinin enerji homeostazı ve nöroendokrin, üreme ve immün fonksiyon üzerinde pleiotropik etkileri bulunmaktadır (Procaccini ve diğ. 2012). Bir immünomodülatör olarak Leptin, öncelikle yağ hücrelerinde, ayrıca plasenta gibi diğer organlarda da üretilir (Gambino ve diğ. 2010).

İnsanlarda, leptin geni, 7q32 kromozomunda bulunur ve 20 kilobaz (kb) DNA'yı kapsayan üç ekzon ve iki introndan oluşur. Gen, 167 amino asidin salgılanan bir proteini kodlar. Leptin, sitokin ailesinin bir üyesidir ve reseptörü (LEPR), gp130 sitokin reseptörleri grubuyla benzerliklere sahiptir.

Yapılan çalışmalarda Leptin ekspresyonu ve salımının, kültürde preadipositlerden olgun adipositlere farklılaşma sırasında yükseldiği görülmüştür (Salmerón ve diğ. 2015).

### **ADFP (Adipojenik Farklılaşma İle İlişkili Protein, Perilipin 2, Plin2)**

Hücre içi lipid damlacıklarının (LD'ler) metabolizmasıyla ilişkili bir protein olan ADFP (Perilipin 2, Plin2), lipid depolanmasındaki rolünden dolayı üzerinde araştırmalar yapılmış bir proteindir. ADFP ekspresyonunun manipülasyonu ile yağlı karaciğer, insülin direnci ve tip 2 diyabet (T2D), kardiyovasküler hastalık, ateroskleroz, sarkopeni ve kanser gibi çeşitli metabolik ve yaşa bağlı hastalıkların oluşumunda rol oynadığı görülmüştür (Conte ve diğ. 2016).

ADFP birçok yerde eksprese edilir ve lipit damlacıklarının oluşumunda önemli bir rol oynar (Brasaemle ve diğ. 1997, Imamura ve diğ 2002, Targett-Adams ve diğ. 2003). ADFP ekspresyonunun hepatositlerdeki lipit damlacığı içeriği ile körele olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Motomura ve diğ. 2006). Lipit damlacıklarında bulunan, adiposit oluşumu ile artan ADFP farklılaşma göstergesi olarak kullanılmaktadır (Junker ve diğ. 2010).

## 2. AMAÇ

Aquaporinler hücre içi olayları doğrudan ve dolaylı olarak etkileyen; aynı zamanda bu moleküllerin taşınmasıyla hücrenin anlık olarak değişen fiziksel koşullara cevap vermesini sağlayan önemli unsurlardır. Aquaporin çeşitleri ve sayılarındaki değişimler ile hücrenin fonksiyonları değişebilmektedir. Bu sebepten ötürü kök hücrelerin farklılaşabilme özelliği ile birlikte ele alındığında hücrelerdeki aquaporin tipi ve sayılarındaki değişimler hücre işlevlerini değiştirme potansiyeline sahiptirler. Aquaporinlerle ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu değişimin kök hücreler üzerinde ne kadar etkili olacağı ise literatürde açıkça yer almamaktadır. Mezenkimal kök hücrelerin aquaporinleri ile ilgili çalışma azdır ve mezenkimal kök hücrelerin aquaporin profil değerlendirmesi daha önce yapılmamıştır. Aquaporinler ve kök hücre çalışmalarına bakıldığında aquaporinlerle ilgili çalışmaların hastalıkların tanısı, ilerleyişi ve tedavisi gibi konularda yoğunlaştığı (Hubbard ve diğ. 2017, Soveral ve diğ. 2017); kök hücre ile ilgili çalışmaların hastalıkların tedavisinde yoğunlaştığı (Wei ve diğ. 2013) fark edilmektedir. Klinik açıdan umut vaat eden kök hücre tedavilerini planlamak gözlemek ve yol haritası oluşturmak adına yardımcı olabilecek her adım bilim adına çok önemlidir. Hücre yaşamında önemli rolleri olan aquaporinlerin kök hücre yaşam döngüsünde, farklılaşmalarında da önemli rolleri bulunmaktadır (Avola ve diğ. 2016). Mezenkimal kök hücrelerde ileri ve erken pasajlarda hücre yapıları farklı olmaktadır (Kundrotas ve diğ. 2016). iKİ-MKH'nin farklılaşmasıyla AQP profillerindeki değişimler ortaya konmamıştır.

Hücre kültürü çalışmalarında sürekli olarak aynı hücre hattının kullanılması uzun sürede hücreler üzerinde birtakım morfolojik ve biyokimyasal değişikliklere yol açmaktadır. Bu değişiklikler hücrelerin işlevlerini etkilemekte ve hatta farklılaştıra-bilmektedir. Hücre yaşlanması (senescence) olarak gözlemlenen bu süreç kök hücrelerin temel işlevleri olan çoğalma ve farklılaşma özelliklerini etkileyebilmektedir. Sinyal yolları ve gen ekspresyonlarının değişmesi ile ortaya çıkan bu değişikliklerin tanımlanması ve etkilerinin ortaya konmasıyla bu süreci değiştirecek etkin yöntemler geliştirilebilir. Yaşlanma ile farklılaşma potansiyeli arasında bir ilişkinin var olduğu bilirse de aquaporinlerin bu süreçteki değişimi daha önce incelenmemiştir.

Bu çalışmada amacımız; kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin aquaporin profilini değerlendirmek, aquaporinler ve mezenkimal kök hücrelerin farklılaşma potansiyeli arasında bir ilişki olup olmadığını incelemek ve ileri pasajda hücrelerin

yaşlanması ile aquaporin değişimi arasındaki ilişkiyi değerlendirmektir. Ve elde edilen bilgilerle literatürdeki büyük bilgi eksikliğinin giderilmesini hedefliyoruz.



### 3. YÖNTEM

#### 3.1. Hücre Karakterizasyonu- Flow Sitometri

Çalışmamızda dondurulmuş hücre koleksiyonunda bulunan insan kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre kullanılmıştır. Hücreler kullanılmaya başlanmadan önce, karakterizasyonu ile ilgili datalar değerlendirilmiştir. MKH karakterizasyonu CD105, CD73, CD90, CD44, CD13, CD166, CD29, CD45, CD15, CD5, CD7, CD14, CD34 belirteçleri kullanılarak flow sitometri analizi ile yapılmıştır.

#### 3.2. Hücrelerin Çözülmesi ve Hücre Kültürü

Hücreler %10 fetal sığır serumu (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin antibiyotiği içeren DMEM besiyeri içerisinde 37°C sıcaklık ve %5 CO<sub>2</sub>'li nemli ortamda inkübe edilmiştir. Hücrelerin her 3 günde bir besiyeri değiştirilerek ve yaklaşık %70 hücre sıklığına ulaştıklarında 0.25% trypsin enzimi yardımıyla yüzeyden kaldırılmış ve uygun boyutlarda kültür kaplarına tekrar ekilerek pasajlanmıştır. Her pasajlama işlemi sırasında bir miktar hücre dondurulmuş ve diğer hücre grubuyla deneylere devam edilmiştir. Hücre dondurma işlemi %35 FBS %60 bazal besiyeri ve %5 DMSO ortamında hücreler direk -152°C dondurucuya konarak yapılmıştır. Gerekli olduğu durumlarda tekrar dondurucudan alınan hücreleri çözme işlemi 37°C su banyosunda yapılmıştır. Çözünen hücreler FBS içeren besiyerine aktarıldıktan sonra 1600 rpm'de 5dk santrifüj edilerek yıkanmış ve hızla DMSO'nun (dimetilsülfoksit) uzaklaşması sağlanmıştır. Çözülen hücre sayısı ve canlılığı belirlendikten sonra gerekli görülen miktarda ekim yapılmıştır.

#### 3.3. Adipojenik Farklılaşma ve Oil Red O Boyaması

İnsan kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreleri Pasaj 3 ve Pasaj 8' e geldiğinde, kültür kaplarının cm<sup>2</sup>'sine 3000 hücre şeklinde hesaplanarak ekilmiştir. Adipojenik farklılaşma için literatüre göre besiyeri hazırlanmıştır (Karaöz ve diğ. 2010).

Adipojenik Farklılaşma Besiyeri:

- %10 FBS,
- 0,5 mM izobutil-methylksantin,
- 10<sup>-6</sup> M deksametazon,
- 10 µg/ml insülin,
- 200 µM indometazin ve
- %1 penisilin-streptomisin

- L-DMEM

Hücreler, deney planına göre gruplandırılıp isimlendirilmiştir. Farklılaşmanın sıfırinci günü, birinci günü, üçüncü günü, yedinci günü, ondördüncü günü ve yirmibirinci gününde plana göre farklılaşma sonlandırılmıştır. Farklılaşması sonlandırılan hücrelerden deney planına göre immünfloresan yapılacak grup için paraformaldehit fiksasyonu yapılmıştır. Elisa ve Gen Ekspresyonu yapılması planlanan hücreler pellet haline getirilip  $-80^{\circ}\text{C}$  dondurucuya kaldırılmıştır.

Adipojenik farklılaşmaya alınan hücrelerde yaklaşık 7-8. günlerde hücre içi lipit birikimi gözlenmeye başlanmıştır. Farklılaşmanın 21. gününde hücre içi biriken lipidlerin görüntülenebilmesi için Oil Red O histolojik boyaması yapılmıştır. Önce hücreler %4 Paraformaldehit (PFA) (Merck) ile 15 dk. oda ısısında inkübe edilmiştir. Sırasıyla PBS ve distile su ile yıkanan cam lameller üzerindeki hücreler son olarak %60 2-propanol (Sigma-Aldrich) ile 5 dk oda ısısında inkübasyona bırakılarak fiksasyon işlemi yapılmıştır. Oil Red O (Sigma-Aldrich) İsoopropanol ile 0,3 gr/100 ml olacak şekilde stok solüsyon hazırlanmıştır. Hücreler, 3:2 oranında distile su ile dilue edilen stok solüsyonda 1 saat  $37^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilmiştir. Boyanan hücre içi lipidler mikroskop ile gösterilmiştir.

### **3.4. İmmünfloresan Boyama**

Adipojenik farklılaşmanın ilgili gününe gelen P3 ve P8 hücreler ve farklılaşmaya alınmayan P3 ve P8 hücreler %4 PFA (Merck) ile 15 dakika oda ısısında inkübe edilerek fikse edilmiştir. Fiksasyon sonrası immünfloresan boyama prosedürü uygulanmıştır. İmmünfloresan boyamalar için hücreler uygun blok serumda 20 dk inkübe edilmiştir. Blok serum sonrasında anti-AQP1 (Santa-Cruz), anti-AQP3 (abcam), anti-AQP7 (Santa-Cruz), anti-AQP9 (Santa-Cruz), anti-AQP10 (Thermo) antikoları ile  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de gece boyu inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra PBS ile yıkanan örnekler floresan boya eklenmiş uygun sekonder antikolar ile oda sıcaklığında 1,5 saat inkübe edilerek işaretlenmiştir. Bağlanmayan antikoların uzaklaştırılması için yıkama yapıldıktan sonra, son aşama olarak, nükleer boya içeren kapatma medyumu DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol) (Fluoroshield Mounting Medium With DAPI (ab104139) Abcam) ile kapatılmıştır. Örnekler konfokal mikroskop ile (DMI 8 Confocal Microscope, Leica) incelenerek fotoğraflanmıştır.

### 3.5. Gen Ekspresyon Analizi

Gen ekspresyon analizi için önce hücrelerden RNA izolasyonu, RNA dizisinden cDNA sentezi ve sonrasında Real-Time PCR gerçekleştirilmiştir. Hücre kültürü işlemlerinden sonra hücreler önce tripsin-EDTA (%0,25) ile yüzeyden kaldırılarak iki kez soğuk (4°C) DPBS ile yıkanıp ve 1,5 mL santrifüj tüpünde 300g 5 dakika santrifüj edilerek hücre peletleri elde edilmiştir. RNA izolasyonu için GeneJET RNA Purification kiti (Thermo Scientific, Dreieich, Almanya) kullanılmıştır. Kit protokolünde belirtildiği gibi örnekler lizis tamponu eklenerek hücreler parçalanmıştır. Santrifüj ile çözünmeyen parçalar 8000g kuvvette 5 dak süre içerisinde çöktürülmüştür. Sıvı kısım alınarak saf etanol ile (3:1) karıştırıldıktan sonra sıvı doğrudan saflaştırma kolonuna eklenmiştir. RNA örnekleri filtrede immobilize edilmişken kitin yıkama tampon çözeltileriyle yıkanmıştır. Sonra temizlenen RNA fragmanlarının kolondan çözünmesi için kolona 30 µL elüsyon çözeltisi (10 mM Tris-HCl tamponu, pH 7,5) eklenerek RNA sıvı faza aktarılmıştır. Santrifüj (13000g, 2 dakika) ile sıvı kolondan ayrıştırılarak RNA çözeltisi elde edilmiştir. Örneklerin saflığı ve miktarı Picodrop cihazıyla (Picodrop, Hinxton, İngiltere) ölçülmüştür. Tüm örneklerde saflığın istenilen 1,8-2,0 aralığında olduğu saptanmıştır.

cDNA sentezi için Maxima H Minus First Strand cDNA sentez kiti (Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD) kullanılmıştır ve kit üretici firmasının belirttiği protokol uygulanmıştır. Üretici firmanın protokolüne uyularak 2 µg RNA örneği, oligo-dT primerleri (5 µM), RNase inhibitörü ve reverse transkriptaz enziminin (50 mU/ µL) yardımıyla cDNA sentezi termal döndürücü cihaz (Takara, Tokyo, Japonya) gerçekleştirilmiştir. Denatürasyon ve priming işlemi için karışım 25°C, 5 dk; reaksiyon için 46°C, 20 dk; ve inaktivasyon için 95°C, 1 dk tutularak cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir.

Gen ekspresyon analizi için Bright Green 2x qPCR master (Abcam, Cambridge, MA, ABD) çözeltisi kullanılmıştır. Gen ekspresyon analiz yöntemi olarak SYBR floresan boya temelli bir ölçüm yaklaşımı tercih edilmiştir. Sentezlenen cDNA örnekleri (100 ng/reaksiyon) genlere özel primerlerle (30 nM, Çizelge 3.1) birlikte master karışımı içerisinde Real Time PCR cihazında (LightCycler480-II, Roche, Rotkreuz, İsviçre) çoğaltılmıştır. Çoğalan her çift zincirli banda bağlanan SYBR boyasının artmasıyla ışımaya artarak bantların çoğalması ölçülmüştür. ActB geni referans geni olarak çalışmada kullanılmıştır. Cihaz okumasından ve Cp değerinin cihaz tarafından belirlenmesinden sonra  $\Delta\Delta C_p$  değeri referans genine göre normalize edilerek ve kontrol grubuna göre

hesaplanmıştır. Değerler aksi bir durum belirtilmemişse kontrol grubuna göre kat artış ya da kat azalış değerlerinde ifade edilmiştir.

**Çizelge 3. 2.** Gen ve primer dizileri

Gen	Primer Dizisi (5' - 3')
AQP1	GAGCCCTGGCTGTAATCATC ATTTGGGCTTCATCTCCACCC
AQP3	CACTCTGGGCATCCTCATCG GGGCCCCGAAACAAAAAGCTG
AQP7	GTCTATGTGCTGGGGCAGTT CCACGAGGATGCCTATCACC
AQP9	TTCTTGGGAGCCTTTGTGGG TGCGTTCGCCAGAGATAGAT
AQP10	GTAATCATGCTCCTCACCCAAG GGACTCCCTTGTTCCGTCTG
Leptin	GCCCTATCTTTTCTATGTCC TCTGTGGAGTAGCCTGAAG
ADFP	CCGTAAAGACCTCTATGCC CTCAGTAACAGTCCGCCTA
SOD1	CGGATGAAGAGAGGCATGTT CACCTTTGCCCAAGTCATCT
Colla1	CCTTTCTGCTCCTTTCTCCA AGCAACACAGTTACACAAGG
ActB	TTCTACAATGAGCTGCGTGTG GGGGTGTGAAGGTCTCAA

### 3.6. ELİSA

Hücrelerde değişen AQP oranlarının sayısal olarak belirlenebilmesi için ELİSA yöntemi tercih edilmiştir. Hücrelerde ifade edilen AQP-1, -3, -7, -9 ve -10 protein miktar tayini için sandviç yaklaşımı temelli ELİSA kitleri (Shanghai YL Biotech) kullanılarak üretici firmanın önerdiği protokole göre gerçekleştirilmiştir. Kısaca, 40 µL örnek ve 10 µL antikor deney sıvısı içerisine eklenerek 37°C'de, 60 dk inkübe edilmiştir. Yıkama ve kromojen çözeltisinin eklenmesinden sonra 37°C'de 10 dk inkübe edilmiştir ve asidik çözelti eklenerek reaksiyon durdurulmuştur. Oluşan renk değişiminin ölçülmesi için örnekler 450 nm dalga boyunda soğurması spektrofotometrede (SpectraMax Microplate Reader,

Molecular Devices, Downingtown, PA, USA) belirlenmiştir. Sonuçların normalizasyonu için toplam protein miktarı BCA (Bisikoninik asit deney) yöntemiyle ölçülmüştür.

ELİSA kitlerinin ölçebileceği asgari protein miktarları AQP-1, -3, -7, -9 ve -10 için sırasıyla 0.25 ng/mL, 0.313 ng/mL, 0.5 pg/mL, 0.156 ng/mL, 0.2 pg/mL olarak ve bu kitlerin ölçtüğü protein miktarının hassasiyeti AQP-1, -3, -7, -9 ve -10 için sırasıyla 0.09 ng/mL, 0.126 ng/mL, 0.22 pg/mL, 0.054 ng/mL, 0.12 pg/mL olarak kit üreticisi tarafından belirlenmiştir.

Toplam protein ölçümü için BCA yöntemi kullanılmıştır. %1 BCA çözeltisi (Sigma) ve %4 bakır sülfat (Sigma) çözeltisi 50:1 oranında önceden karıştırılarak yeşil renkli solüsyon elde edilmiştir. 20 µL örnek ve 200 µL BCA solüsyonu 96-kuyucuklu plâtelere 37°C 30 dk inkübe edilmiştir. Protein varlığında mor renge dönüşen sıvının 562 nm dalga boyunda soğurması VIS-spektrofotometresi (VersaMax, Molecular Devices, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümlerde BSA çözeltisi (0.5 µg/mL - 3.0 µg/mL) standart olarak kullanılmıştır.

### **3.7. Hücre Sayımı**

P3 ve P8'de günlere göre yapılan AQP1 AQP3, AQP7, AQP9, AQP10 immünfloresan boyama sonrası, boyanan antikorun hücre membranında gösterdiği ışımaya şiddeti ve yaygınlığı değerlendirildi (Furat Rencber ve diğ. 2018, Guzel ve diğ. 2011). Hücrelerdeki AQP ekspresyon yoğunluğu deperlendirilirken 6 farklı alanda 100 hücre sayıldı ve sayılan hücrelerdeki boyama yoğunluğu; 0, boyama yok; 1, zayıf boyama; 2, orta boyama; 3, yoğun boyama olacak şekilde literatüre göre değerlendirildi (Furat Rencber ve diğ. 2018, Guzel ve diğ. 2011). Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

### **3.8. İstatistiksel Analiz**

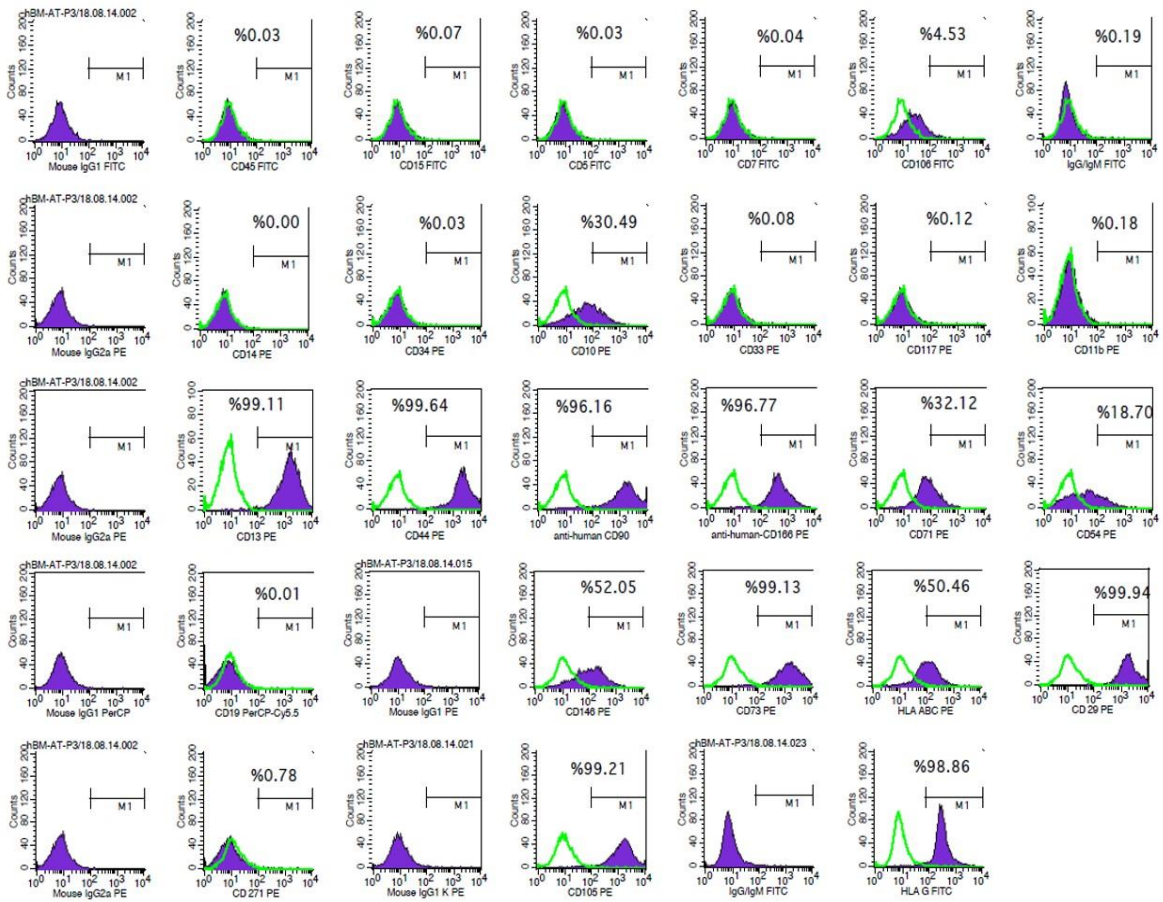
İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) paket programı ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk testi Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren nümerik değişkenler ortalama +/- standart sapma, normal dağılım göstermeyen nümerik değişkenler medyan (25. persantil - 75. Persantil) olarak verildi. Gruplar arasındaki farklılık normal dağılıma sahip olan nümerik değişkenler için tek yönlü varyans analizi ile (ANOVA) testi ile değerlendirildi.  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlılık için yeterli kabul edildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. İnsan Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerin Karakterizasyonu

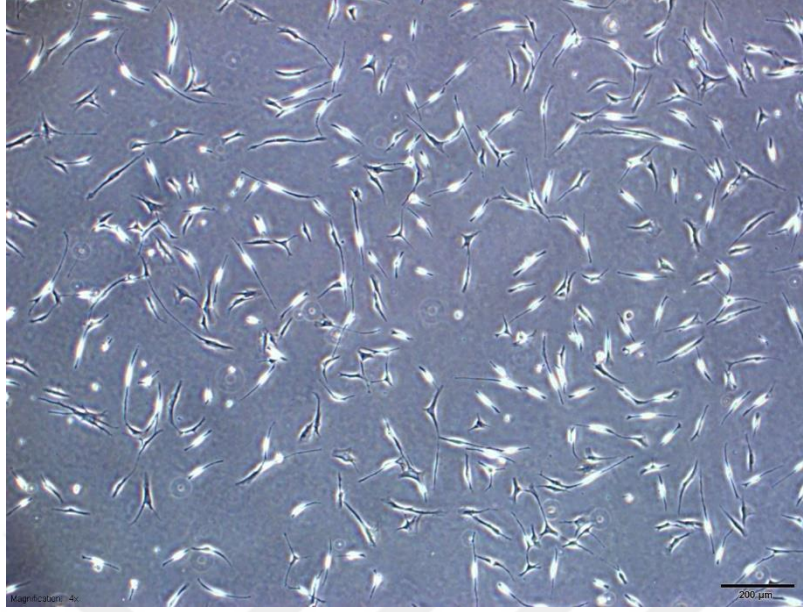
Çalışmamızda dondurulmuş hücre koleksiyonunda bulunan insan kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücre kullanılmıştır. Kullanılmaya başlanmadan önce, karakterizasyonu ile ilgili datalar değerlendirilmiştir. Yapılan flow sitometri analizinde MKH analizlerinde beklendiği gibi CD105, CD73, CD90, CD44, CD13, CD166, CD29 belirteçleri pozitif bulunurken CD45, CD15, CD5, CD7, CD14, CD34 belirteçleri negatif bulunmuştur (Çizim 4.1).



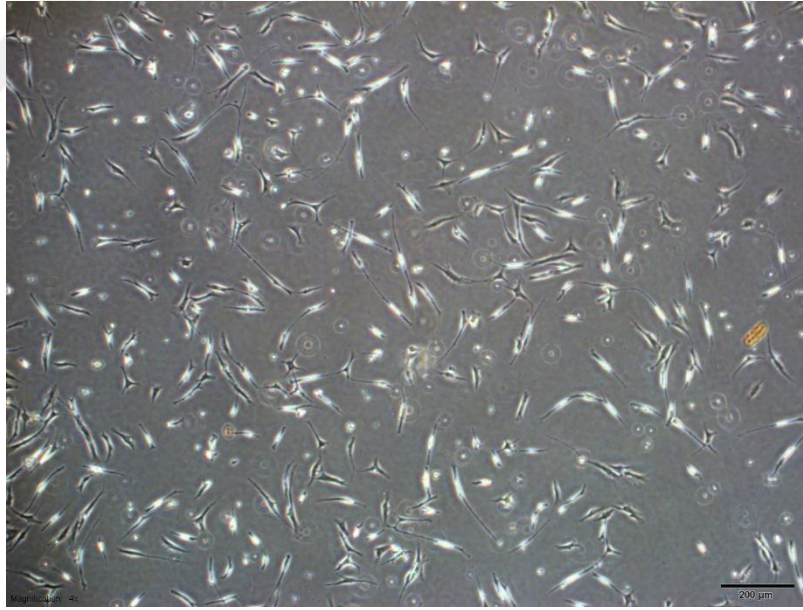
**Çizim 4.1.** iKİ-MKH flow sitometri sonuçları. (+) Belirteçler: CD105, CD73, CD90, CD44, CD13, CD166, CD29. (-) Belirteçler: CD45, CD15, CD5, CD7, CD14, CD34

### 4.2. Hücrelerin Kültürde Pasaj 3 ve Pasaj 8'e Getirilmesi

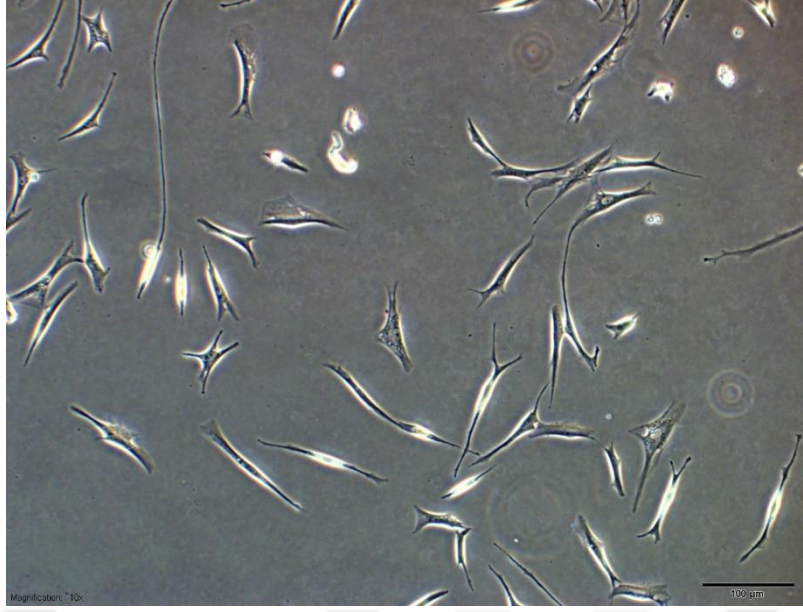
Deneyde kullanılmak üzere çözülen P2 iKİ- MKH' i sayıldı ve uygun flasklara ekilmiştir. Ertesi gün değerlendirildiğinde hücreler yapıştığı ve çoğalmaya başladığı görülmüştür. Farklı flasklara ekilen hücrelerin pasajını ilerletmek için uygun yoğunluğa ulaşması beklenmiştir (Çizim 4.2, Çizim 4.3, Çizim 4.4, Çizim 4.5).



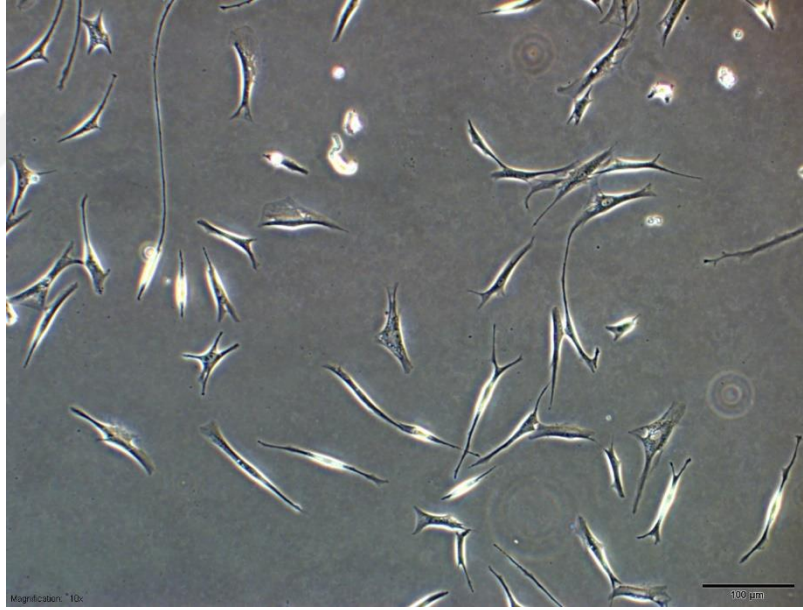
**Çizim 4.2.** P2 iKI-MKH'lerin 2. Gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografı (40X büyütme).



**Çizim 4.3.** P2 iKI-MKH'lerin 3. Gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografı (40X büyütme).



**Çizim 4.4.** P2 iKI-MKH'lerin faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografı (100X büyütme).



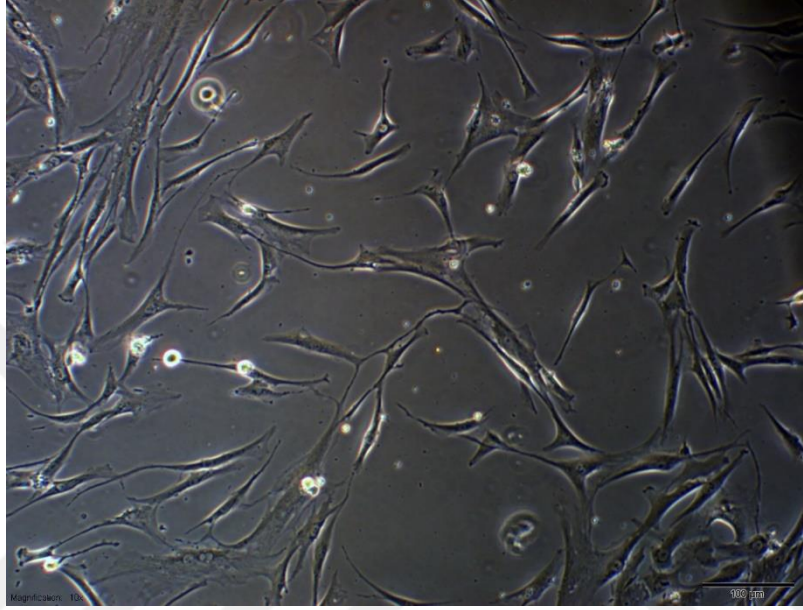
**Çizim 4.5.** iKI-MKH'lerin P2 faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografı (100X büyütme).



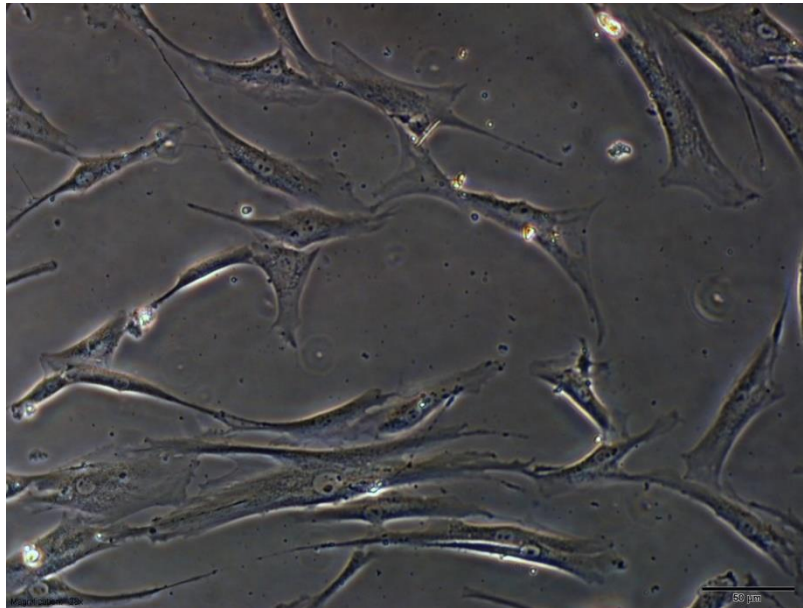
### 4.3. Adipojenik Farklılaşmanın Gösterilmesi

#### 4.3.1. Adipojenik farklılaşmanın faz-kontrast mikroskop ile gösterilmesi

P3 ve P8 olan hücreler adipojenik farklılaşmaya alınmıştır. Farklılaşma indüksiyonunun ilk günlerinde hücreler morfolojik olarak değerlendirilmiştir. Hücrelerde mezenkimal kök hücre morfolojisi görülmektedir; hücreler uzamış içsi, fibroblasta benzer bir yapıda görünmektedir (Çizim 4.6, Çizim 4.7).

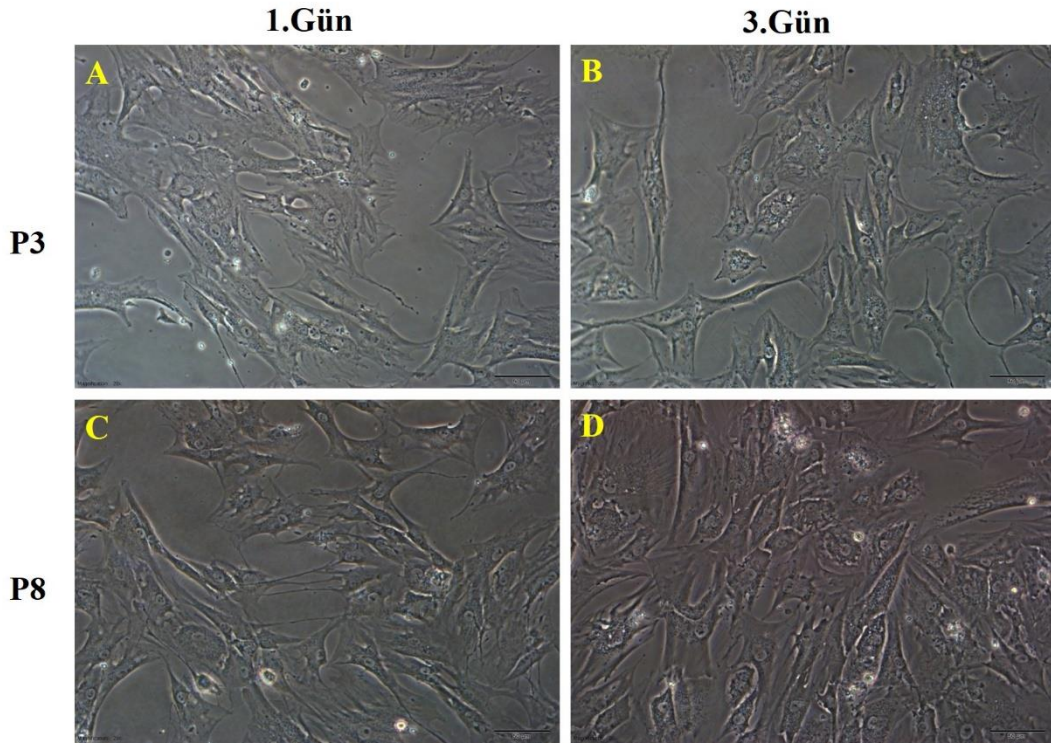


**Çizim 4.6.** P3 adipojenik farklılaşma grubu 0.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (100X büyütme).



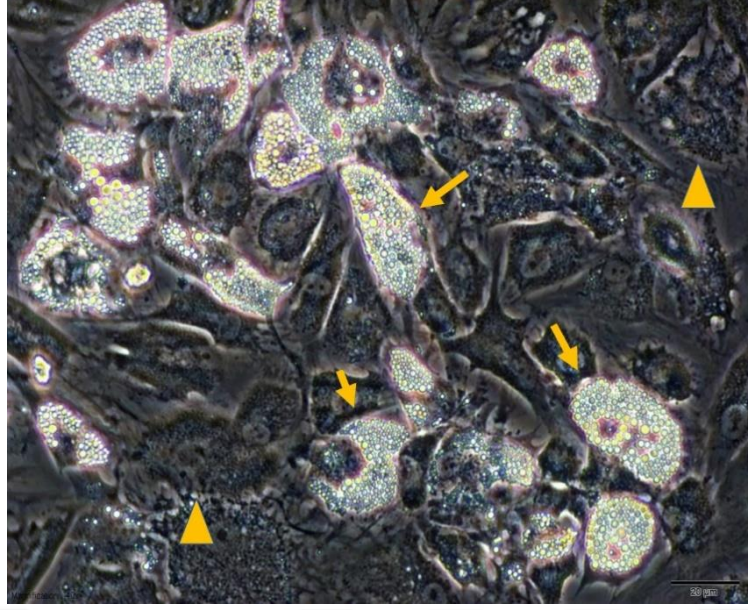
**Çizim 4.7.** P3 kontrol grubu 0.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (200X büyütme).

iKİ-MKH' nin adipojenik farklılaşma indüklenmesi 21 gün boyunca devam etmiştir. 0-7. günler arasında mikroskopik olarak belirgin morfolojik değişiklikler farkedilmemiştir. Hücrelerin morfolojisi iKİ-MKH'e benzer bulunmuştur (Çizim 4.8). Adipojenik farklılaşmayı gösteren morfolojik değişikliklerden olan hücre içi lipit vakuoller 7. Gün gözlenmeye başlanmıştır (Çizim 4.9, Çizim 4.10). Hücrelerin morfolojisi daha yuvarlak ve poligonal olarak görülmüştür. Adipojenik farklılaşma grubu 14. Günde, 21. Günde adiposit ve adiposit içi lipit damlacıklarının miktarı artmıştır (Çizim 4.11, Çizim 4.12, Çizim 4.13, Çizim 4.14).

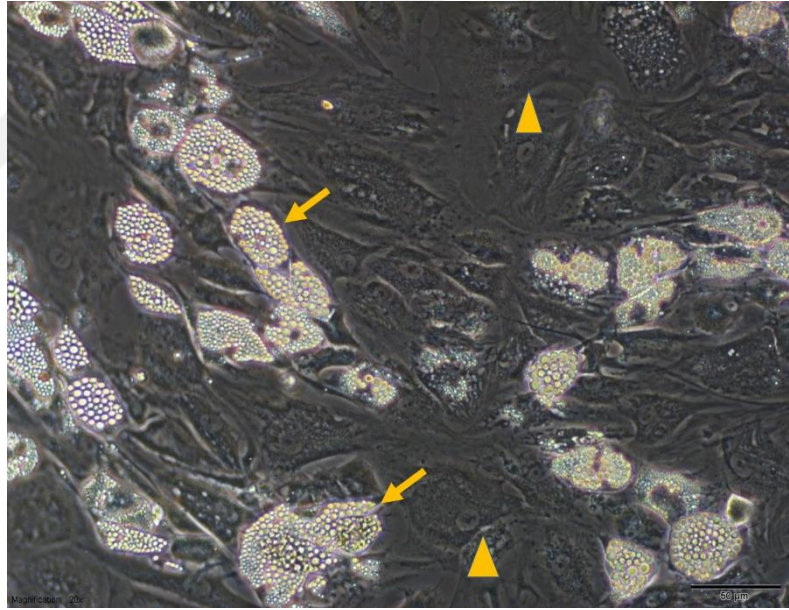


**Çizim 4.8.** iKİ-MKH adipojenik farklılaşma (AF) grubu faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (200X büyütme) A) P3-AF 1.Gün, B) P3-AF 3.Gün C) P8-AF 1.Gün D) P3-AF 3.Gün.

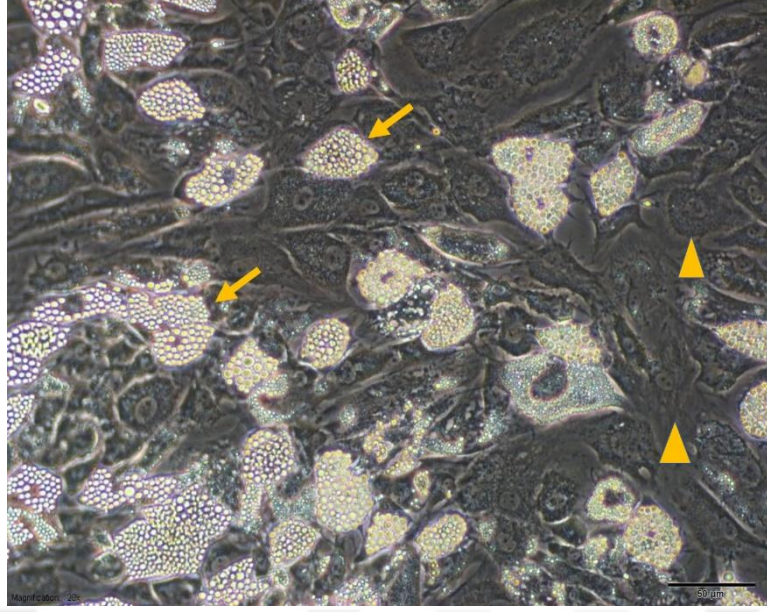




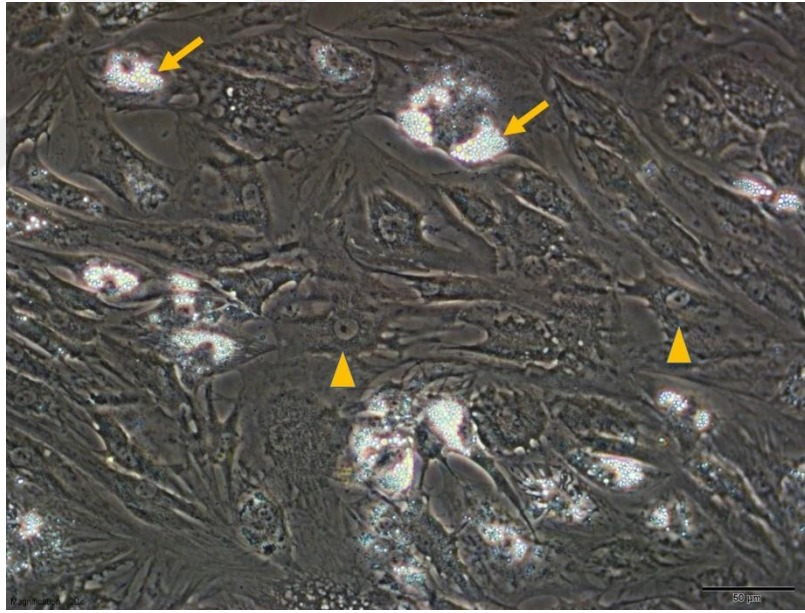
**Çizim 4.9.** P3 adipojenik farklılaşma grubu 7.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (400X büyütme). Sarı ok; adiposit hücresi ve içindeki lipit damlacıkları, sarı ok başı; mezenkimal kök hücreyi göstermektedir.



**Çizim 4.10.** P3 adipojenik farklılaşma grubu 14.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (400X büyütme). Sarı ok; adiposit hücresi ve içindeki lipit damlacıkları, sarı ok başı; mezenkimal kök hücreyi göstermektedir.

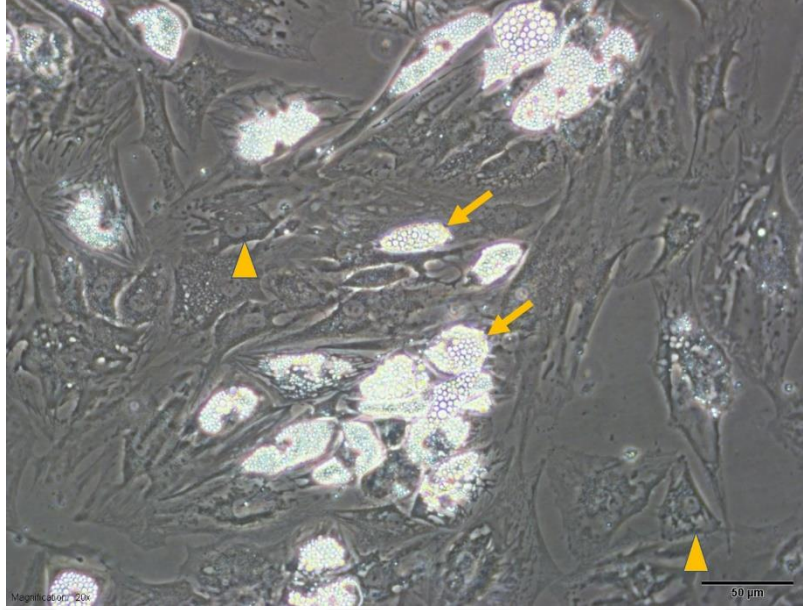


**Çizim 4.11.** P3 adipojenik farklılaşma grubu 21.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (200X büyütme). Sarı ok; adiposit hücresi ve içindeki lipit damlacıkları, sarı ok başı; mezenkimal kök hücreyi göstermektedir.

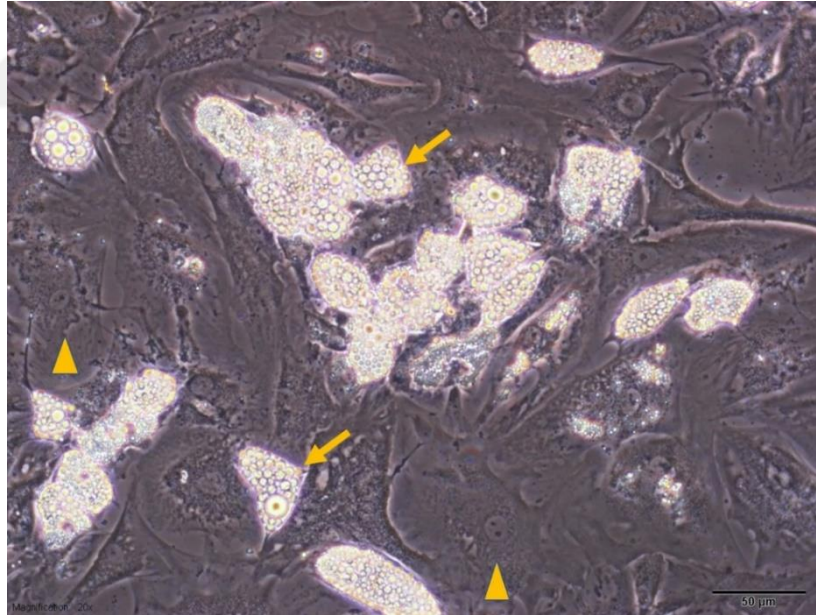


**Çizim 4.12.** P8 adipojenik farklılaşma grubu 7.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (200X büyütme). Sarı ok; adiposit hücresi ve içindeki lipit damlacıkları, sarı ok başı; mezenkimal kök hücreyi göstermektedir.





**Çizim 4.13.** P8 adipojenik farklılaşma grubu 14.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (200X büyütme). Sarı ok; adiposit hücresi ve içindeki lipit damlacıkları, sarı ok başı; mezenkimal kök hücreyi göstermektedir.

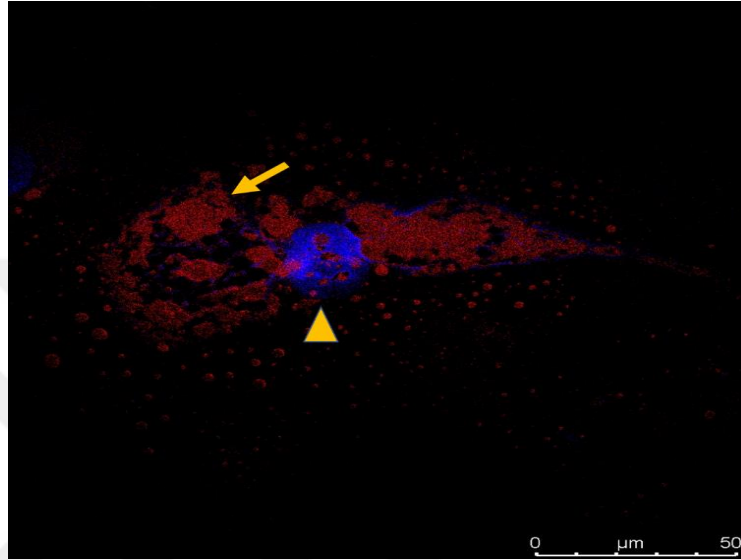


**Çizim 4.14.** P8 adipojenik farklılaşma grubu 21.gün faz-kontrast mikroskop ile elde edilen fotomikrografi (200X büyütme). Sarı ok; adiposit hücresi ve içindeki lipit damlacıkları, sarı ok başı; mezenkimal kök hücreyi göstermektedir.

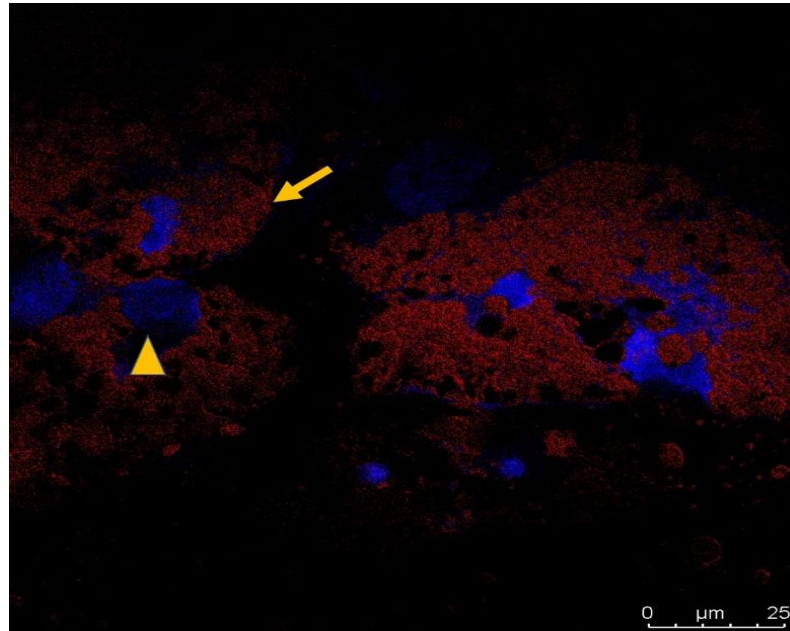


### 4.3.2. Adipojenik farklılaşmanın Oil-Red O boyaması ile gösterilmesi

Adipojenik farklılaşma indüklenmesi sonucu adiposit oluşumu ve hücre içi lipit damlacıkları faz mikroskopuyla görüntüledikten sonra adipojenik farklılaşmayı doğrulamak için Oil Red O boyaması yapılmıştır. Pasaj 3 ve pasaj 8 farklılaşmış hücrelerin içindeki lipit damlacıkları konfokal mikroskopla görüntülediğinde kırmızı kesecikler olarak izlenmektedir (Çizim 4.15, Çizim 4.16).



**Çizim 4.15.** P3 adipojenik farklılaşma 21.gün konfokal mikroskop ile elde edilen fotomikrografi. Sarı ok; adiposit hücresi içindeki lipit damlacıklarını, sarı ok başı; hücrenin nükleusunu göstermektedir.



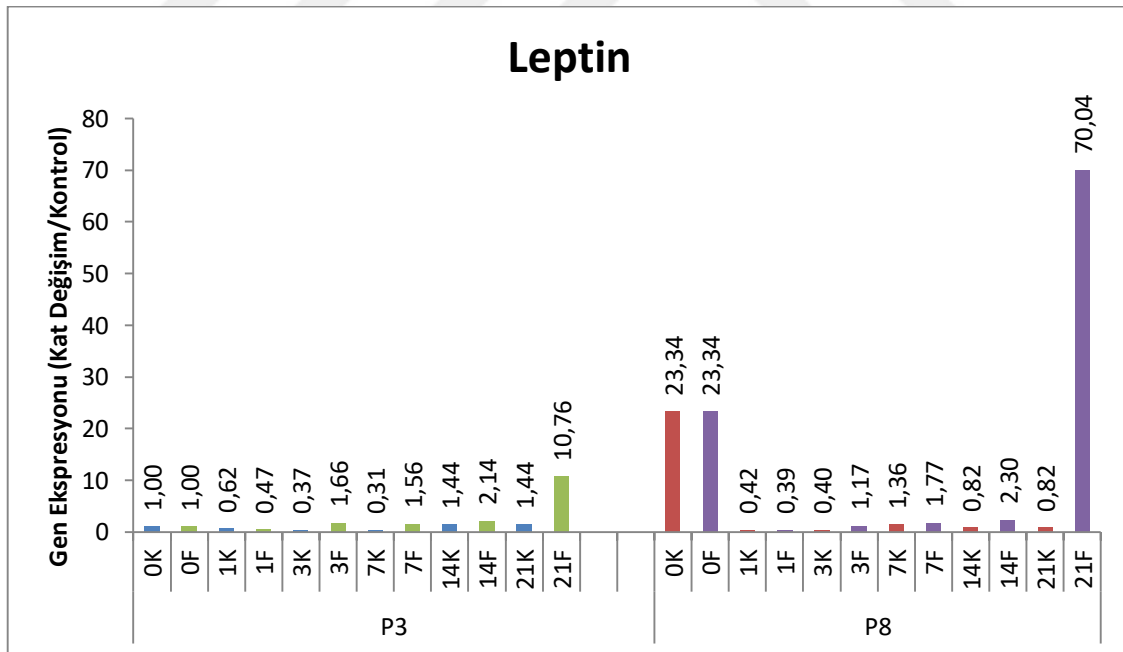
**Çizim 4.16.** P8 adipojenik farklılaşma 21.gün konfokal mikroskop ile elde edilen fotomikrografi. Sarı ok; adiposit hücresi içindeki lipit damlacıklarını, sarı ok başı; hücrenin

nükleusunu göstermektedir.

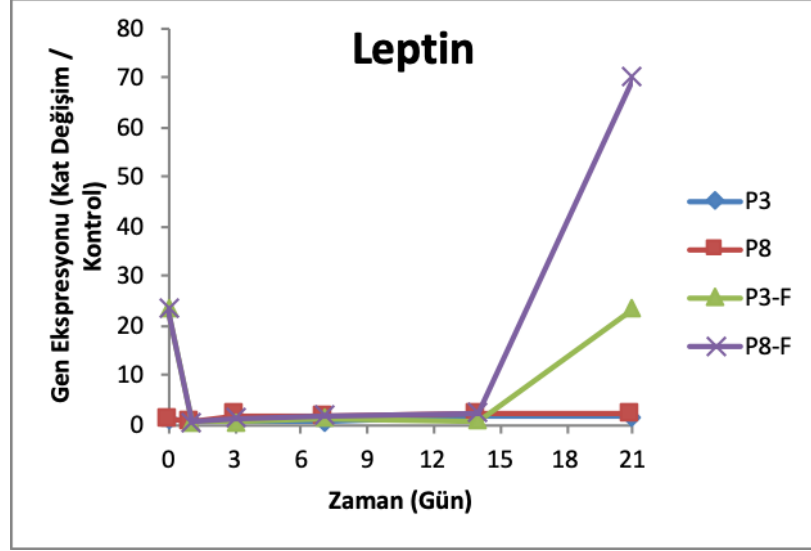
### 4.3.3 Adipojenik farklılaşmanın gen ekspresyonu ile gösterilmesi

Adipojenik farklılaşmayı doğrulamak için, RT-PCR ile farklılaşmanın 0, 3, 7, 14 ve 21 günlerinde adipojenik farklılaşma belirteci olarak düşünülen Leptin ve ADFP gen ekspresyonu analizi yapılmıştır.

Leptin değerlerindeki değişimler, farklılaşma grubunda kontrole göre kıyaslandığında P3'te 1. günde, 3. Günde 7. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). P8'de 1. günde, 3. Günde 14. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). P3 ve P8 karşılaştırıldığında farklılaşma grubunda 0. Günde, 1. Günde, 3. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Çizim4.17). Leptin gen ekspresyonu P3 ve P8'de 1. Günde 0. Güne göre düşmüştür. Farklılaşma grubunda P3'te 21. Günde istatistiksel bir artış olmuştur ancak en yüksek Leptin gen ekspresyonu P8 21. Günde bulunmuştur (Çizim4.18). Leptinin farklılaşma grubunda yüksek bulunması farklılaşma olduğunu göstermektedir.



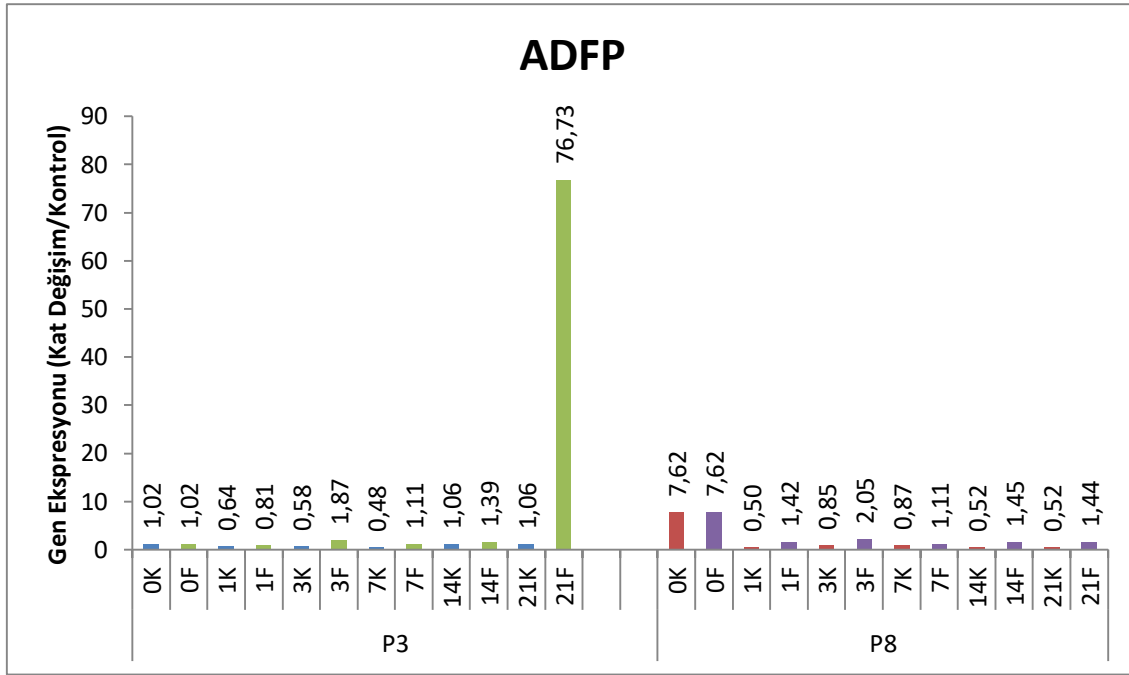
**Çizim 4. 17.** Zamana göre Leptin gen ekspresyonu grafiği. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; yeşil sütun, P3 farklılaşma grubu; kırmızı sütun, P8 kontrol grubu; mor sütun, P8 farklılaşma grubu Leptin gen ekspresyonu ölçümleridir.



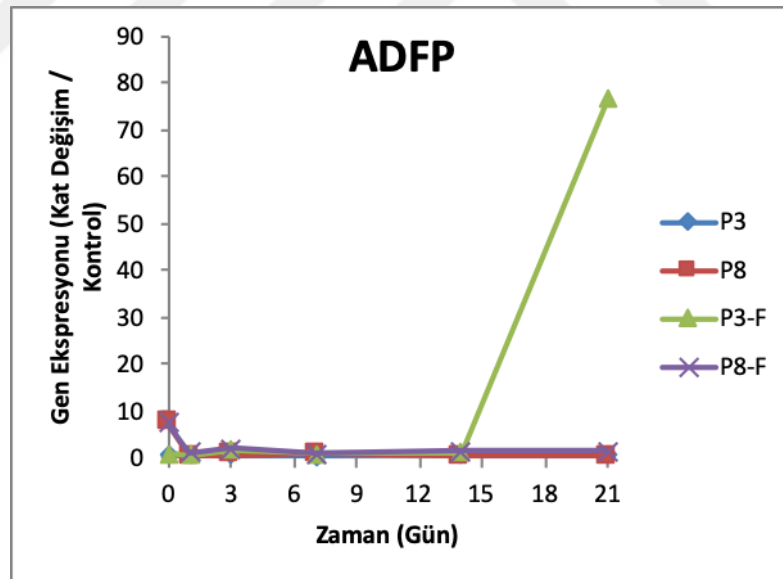
**Çizim 4. 18.** Leptin gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

ADFP gen ekspresyonundaki değişimler, farklılaşma grubunda kontrole göre kıyaslandığında P3'te 1. günde, 3. Günde 7. Günde; P8'de 1. günde, 3. Günde 7. Günde ve 14. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). ADFP gen ekspresyonundaki değişimler P3 ve P8 karşılaştırıldığında, farklılaşma grubunda 1. Günde ve 3. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Çizim4.19). En yüksek ADFP gen ekspresyonu P3 farklılaşma grubu 21. Günde bulunmuştur (Çizim4.20).

Farklılaşma grubunda 21. günde adipojenik farklılaşma belirteci olan Leptin gen ekspresyonunun P3'te 10 kat, P8'de 70 kat arttığı; ADFP gen ekspresyonunun ise P3'te yaklaşık 76,73 kat arttığı bulunmuştur. Hem Leptin hem ADFP gen ekspresyonları adipojenik farklılaşmayı doğrulamıştır.



**Çizim 4.19.** Zamana göre ADFP gen ekspresyonu grafiği. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; yeşil sütun, P3 farklılaşma grubu; kırmızı sütun, P8 kontrol grubu; mor sütun, P8 farklılaşma grubu ADFP gen ekspresyonu ölçümleridir.



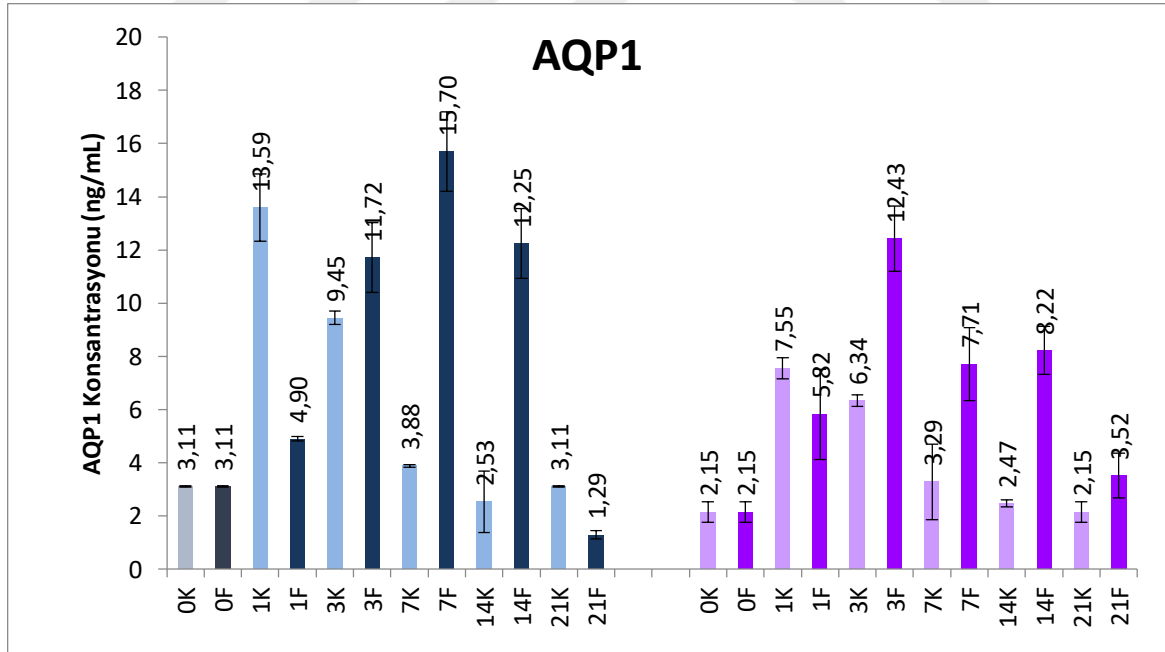
**Çizim 4.20.** ADFP gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

#### 4.4. ELİSA (Protein Ekspresyonu) Sonuçları

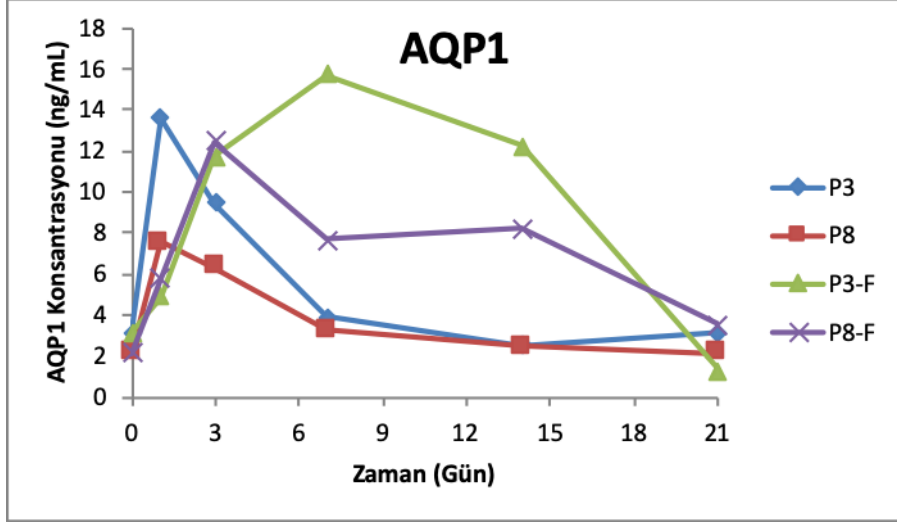
##### 4.4.1. AQP1 protein ekspresyonu

AQP1 protein konsantrasyonu P3 ve P8'de kontrol ve farklılaşma gruplarında yükselme göstermektedir. Bir pik seviyesine ulaştıktan sonra düşmeye başlamaktadır. Bu yükselme, mitotik aktivitenin yüksek olduğu günlerde gerçekleşmektedir. AQP1 fonksiyonel bir su kanalı olduğundan, hücre çoğalma hızının yüksek olduğu zamanlarda yüksek görülmüştür.

P3 farklılaşma grubunda 1., ve 3. günlerde ölçülen AQP1 konsantrasyonu gittikçe yükselmiştir ve 7. Günde en yüksek değerine ulaşmıştır. İlerleyen günlerde hızlı bir düşüş göstermiştir. P8 farklılaşma grubunda AQP1 konsantrasyonu, 3. Günde en yüksek ölçülmüştür. Aynı güne ait kontrol ve farklılaşma gruplarına bakıldığında en yüksek konsantrasyon farkı 7. Ve 14. Günde bulunmuştur. P3 kontrol grubu 21. gün AQP1 konsantrasyonu 0. Güne göre daha düşük bulunmuştur (Çizim 4.21, Çizim 4.22).



**Çizim 4.21.** AQP1 protein ekspresyonu ölçümleri. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; lacivert sütun, P3 farklılaşma grubu; açık eflatun sütun, P8 kontrol grubu; koyu mor sütun, P8 farklılaşma grubu AQP1 değerleridir.

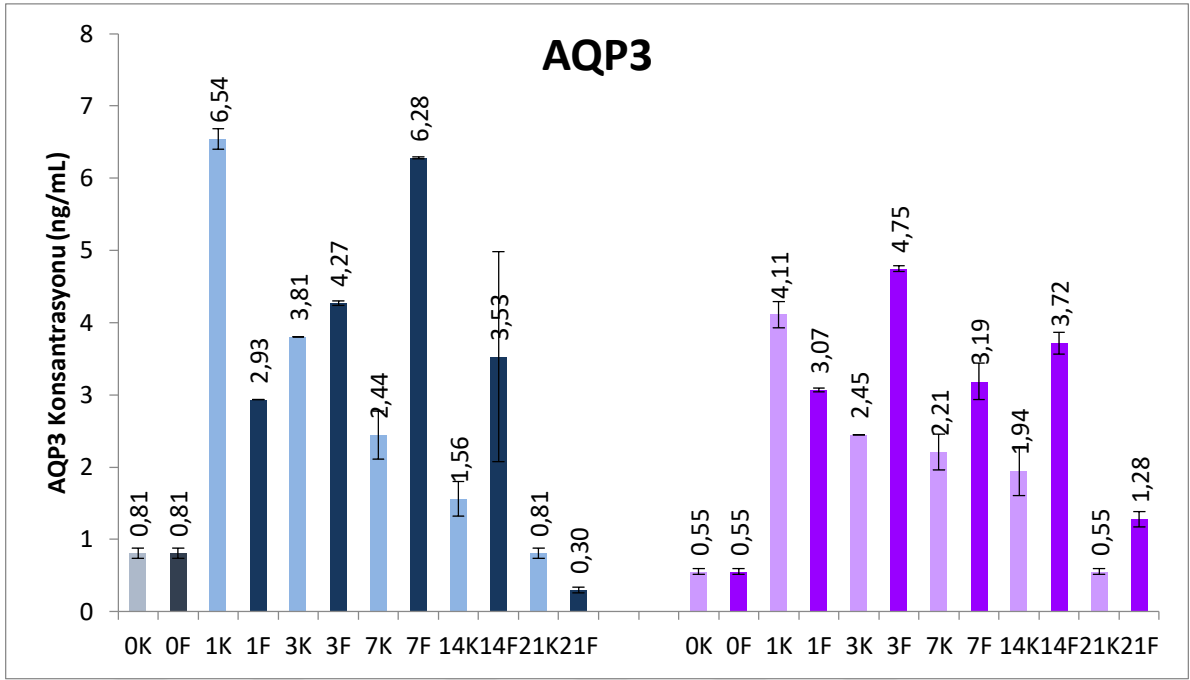


**Çizim 4.22.** AQP1 protein ekspresyonu ölçümleri çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

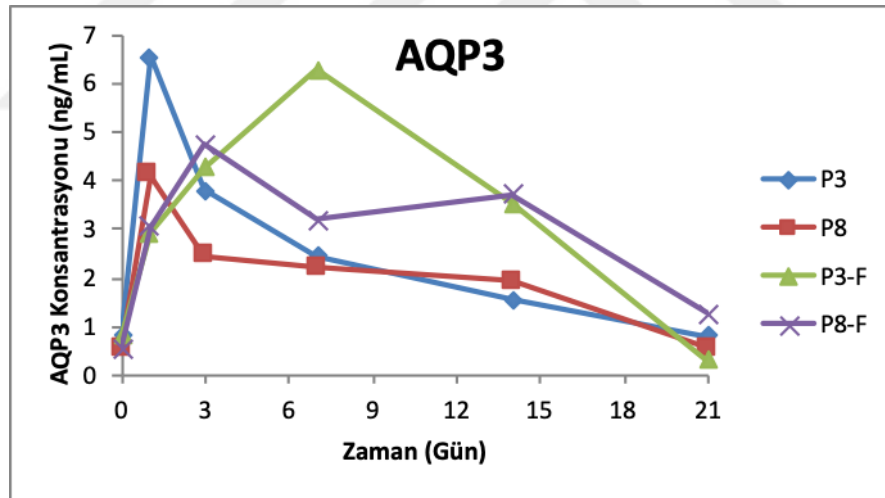
#### 4.4.2. AQP3 Protein Ekspresyonu

AQP3 protein konsantrasyonundaki yükselmeler ve düşmeler kısmen AQP1 protein ekspresyonuna benzemektedir. P3 ve P8’de kontrol ve farklılaşma gruplarında yükselme göstermektedir. Bir pik seviyesine ulaştıktan sonra düşmeye başlamaktadır. Bu yükselme, mitotik aktivitenin yüksek olduğu günlerde gerçekleşmektedir.

AQP3 konsantrasyonu, P3 farklılaşma grubunda 1. ve 3. Günlerde gittikçe yükselmiştir ve 7. Günde en yüksek değerine ulaşmıştır. İlerleyen günlerde hızlı bir düşüş göstermiştir ve farklılaşmanın 21. Gününde 0. Güne göre daha düşük bir değer ölçülmüştür. P8 farklılaşma grubunda AQP3 konsantrasyonu en yüksek 3. Günde ölçülmüştür. P3 kontrol grubu 21.gün AQP1 konsantrasyonu kontrole göre daha düşük bulunmuştur (Çizim 4.23, Çizim 4.24).



**Çizim 4.23.** AQP3 protein ekspresyonu ölçümleri. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; lacivert sütun, P3 farklılaşma grubu; açık eflatun sütun, P8 kontrol grubu; koyu mor sütun, P8 farklılaşma grubu AQP3 değerleridir.



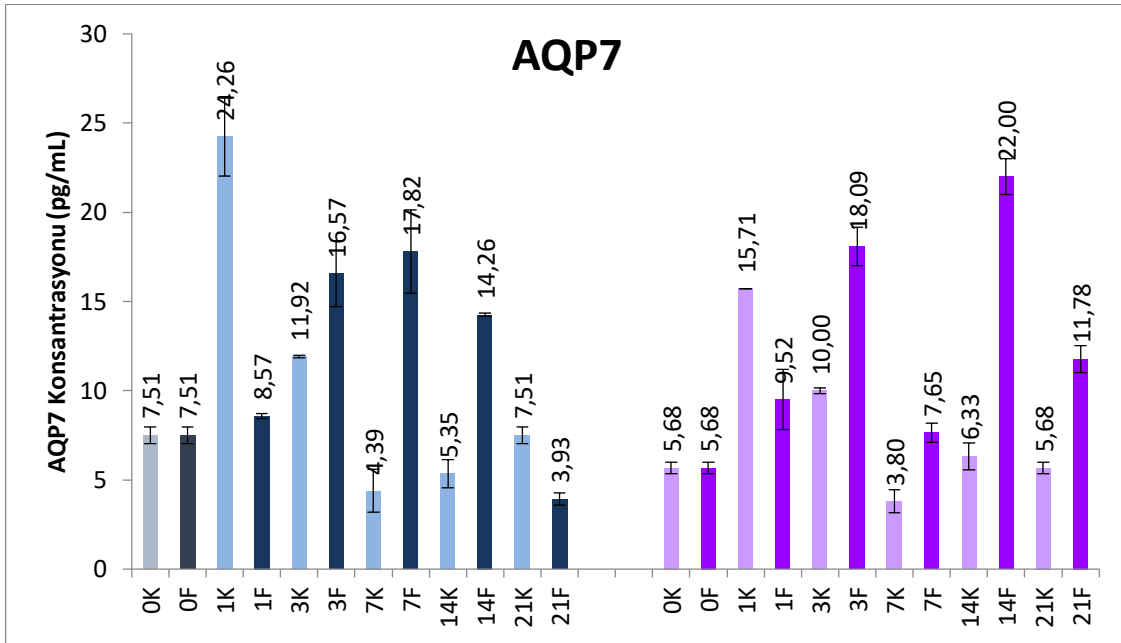
**Çizim 4. 24.** AQP3 protein ekspresyonu ölçümleri çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

#### 4.4.3. AQP7 Protein Ekspresyonu

AQP7 protein konsantrasyonundaki yükselmeler ve düşmeler kısmen AQP1 ve AQP3 protein ekspresyonuna benzemektedir. P3 ve P8'de kontrol ve farklılaşma gruplarında

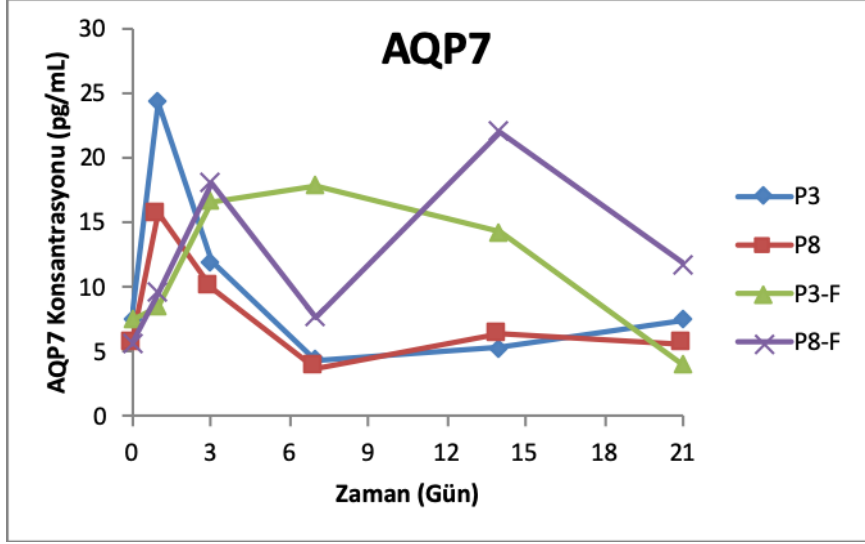
yükselme göstermektedir. Bir pik seviyesine ulaştıktan sonra düşmeye başlamaktadır. Bu yükselme, mitotik aktivitenin yüksek olduğu günlerde gerçekleşmektedir.

AQP7 protein konsantrasyonu, P3 farklılaşma grubunda 1. ve 3. Günlerde gittikçe yükselmiştir ve 7. Günde en yüksek değerine ulaşmıştır. İlerleyen günlerde düşüş hızı AQP1 ve AQP3 kadar hızlı olmamıştır, ancak farklılaşmanın 21. Gününde 0. Güne göre daha düşük bir değer ölçülmüştür. P8 farklılaşma grubunda AQP3 konsantrasyonu, 14. Günde en yüksek ölçülmüştür. 21. Günde bir düşüş olsa da hala yüksek seyretmektedir (Çizim 4.25, Çizim 4.26).



**Çizim 4.25.** AQP7 protein ekspresyonu ölçümleri. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; lacivert sütun, P3 farklılaşma grubu; açık eflatun sütun, P8 kontrol grubu; koyu mor sütun, P8 farklılaşma grubu AQP7 değerleridir.



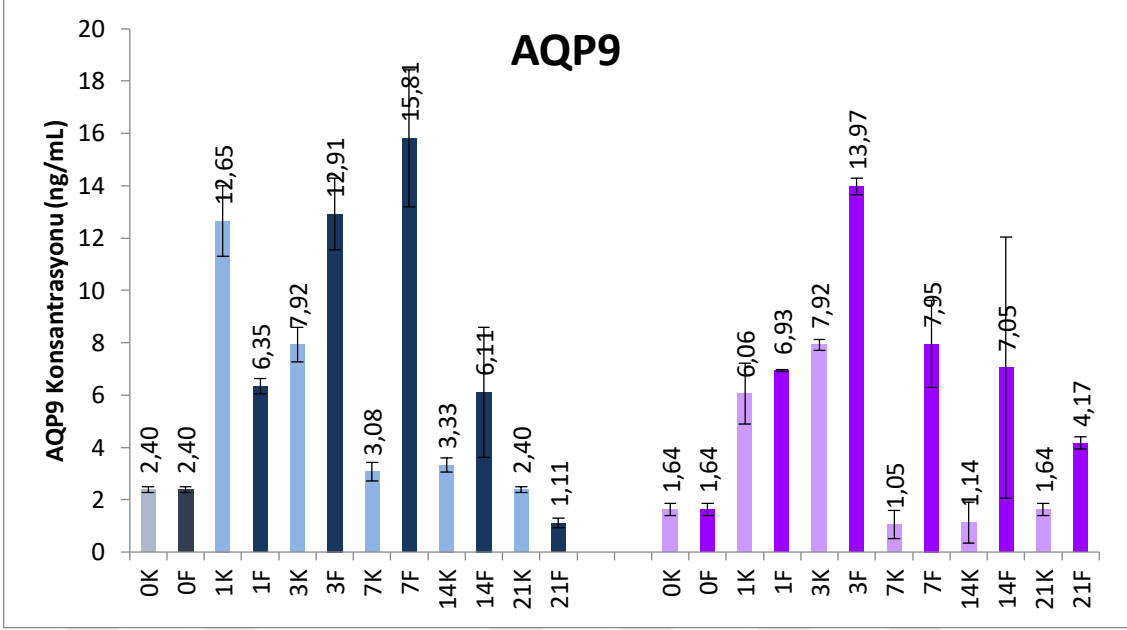


**Çizim 4.26.** AQP7 protein ekspresyonu ölçümleri çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

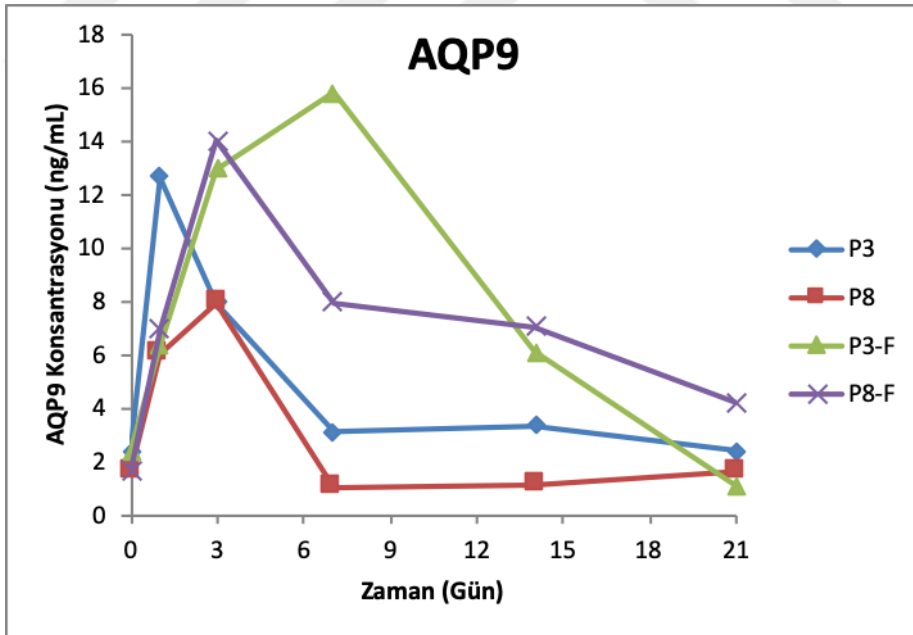
#### 4.4.4. AQP9 Protein Ekspresyonu

AQP9 protein konsantrasyonundaki yükselmeler ve düşmeler kısmen AQP1, AQP3 ve AQP7 protein ekspresyonuna benzemektedir. P3 ve P8’de kontrol ve farklılaşma gruplarında yükselme göstermektedir. Bir pik seviyesine ulaştıktan sonra düşmeye başlamaktadır. Bu yükselme, mitotik aktivitenin yüksek olduğu günlerde gerçekleşmektedir.

AQP9 protein konsantrasyonu, P3 farklılaşma grubunda 1. ve 3. Günlerde gittikçe yükselmiştir ve 7. Günde en yüksek değerine ulaşmıştır. İlerleyen günlerde hızlı bir düşüş göstermiştir ve farklılaşmanın 21. Gününde 0. Güne göre daha düşük bir değer ölçülmüştür. P8 farklılaşma grubunda AQP9 konsantrasyonu, en yüksek 7. Günde ölçülmüştür. 21. Günde bir düşüş olsa da kontrole göre yüksek seyretmektedir (Çizim 4.27, Çizim 4.28).



**Çizim 4.27.** AQP9 protein ekspresyonu ölçümleri. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; lacivert sütun, P3 farklılaşma grubu; açık eflatun sütun, P8 kontrol grubu; koyu mor sütun, P8 farklılaşma grubu AQP9 değerleridir.

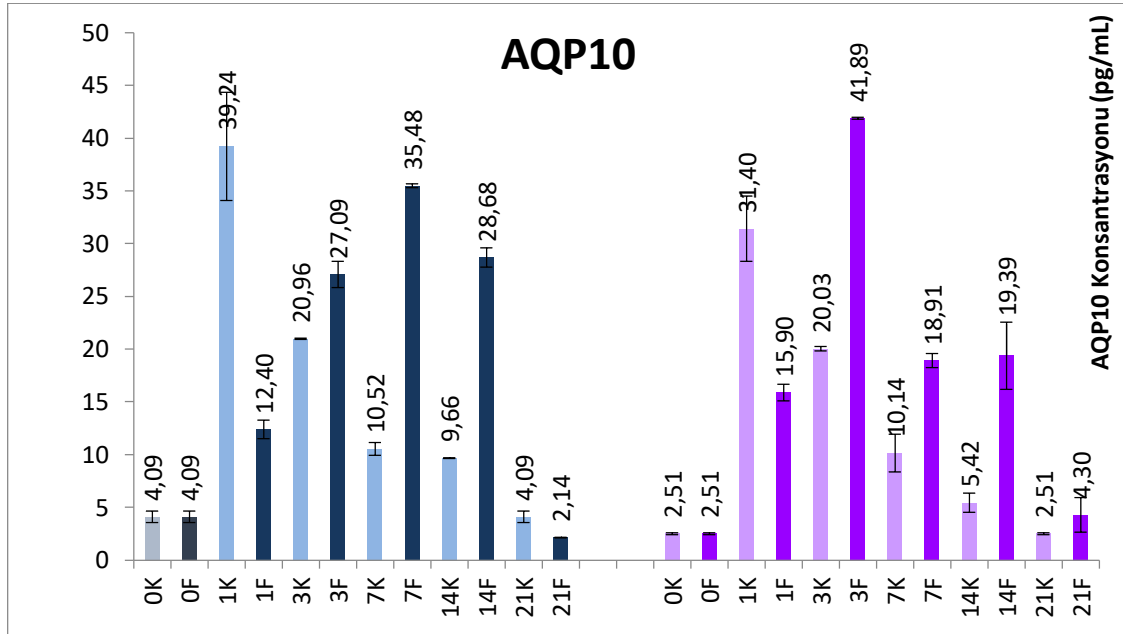


**Çizim 4.28.** AQP9 protein ekspresyonu ölçümleri çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

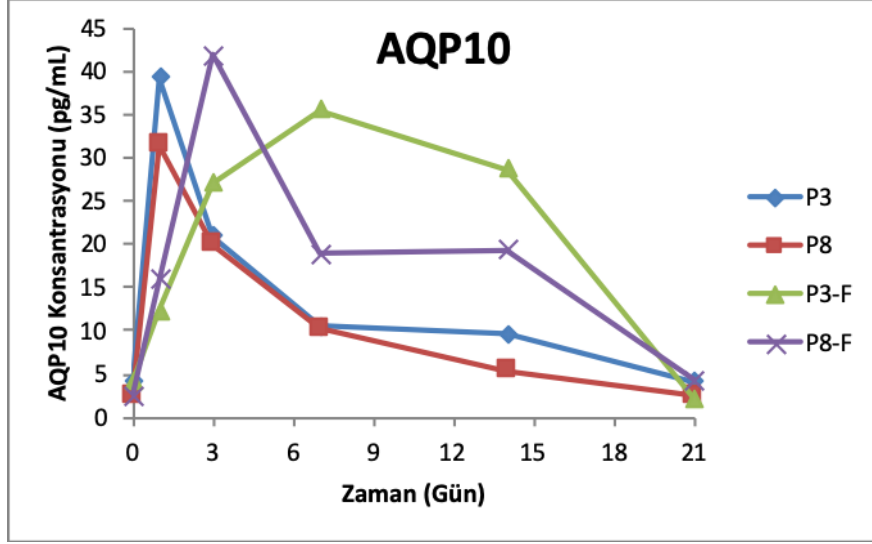
#### 4.4.5. AQP10 Protein Ekspresyonu

AQP10 protein konsantrasyonundaki yükselmeler ve düşmeler AQP1, AQP3, AQP7 ve AQP9 protein ekspresyonuna benzemektedir. P3 ve P8'de kontrol ve farklılaşma gruplarında yükselme göstermektedir. Bir pik seviyesine ulaştıktan sonra düşmeye başlamaktadır. Bu yükselme, hücre bölünmesinin fazla olduğu günlerde gerçekleşmektedir.

AQP10 protein konsantrasyonu, P3 farklılaşma grubunda 1. ve 3. Günlerde gittikçe yükselmiştir ve 7. Günde en yüksek değerine ulaşmıştır. İlerleyen günlerde hızlı bir düşüş göstermiştir ve farklılaşmanın 21. Gününde 0. Güne göre daha düşük bir değer ölçülmüştür. P8 farklılaşma grubunda AQP10 konsantrasyonu, en yüksek 3. Günde ölçülmüştür. 21. Günde bir düşüş olsa da kontrole göre yüksek seyretmektedir (Çizim 4.29, Çizim 4.30).



**Çizim 4.29.** Zamana göre AQP10 protein ekspresyonu ölçümleri. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; lacivert sütun, P3 farklılaşma grubu; açık eflatun sütun, P8 kontrol grubu; koyu mor sütun, P8 farklılaşma grubu AQP10 değerleridir.

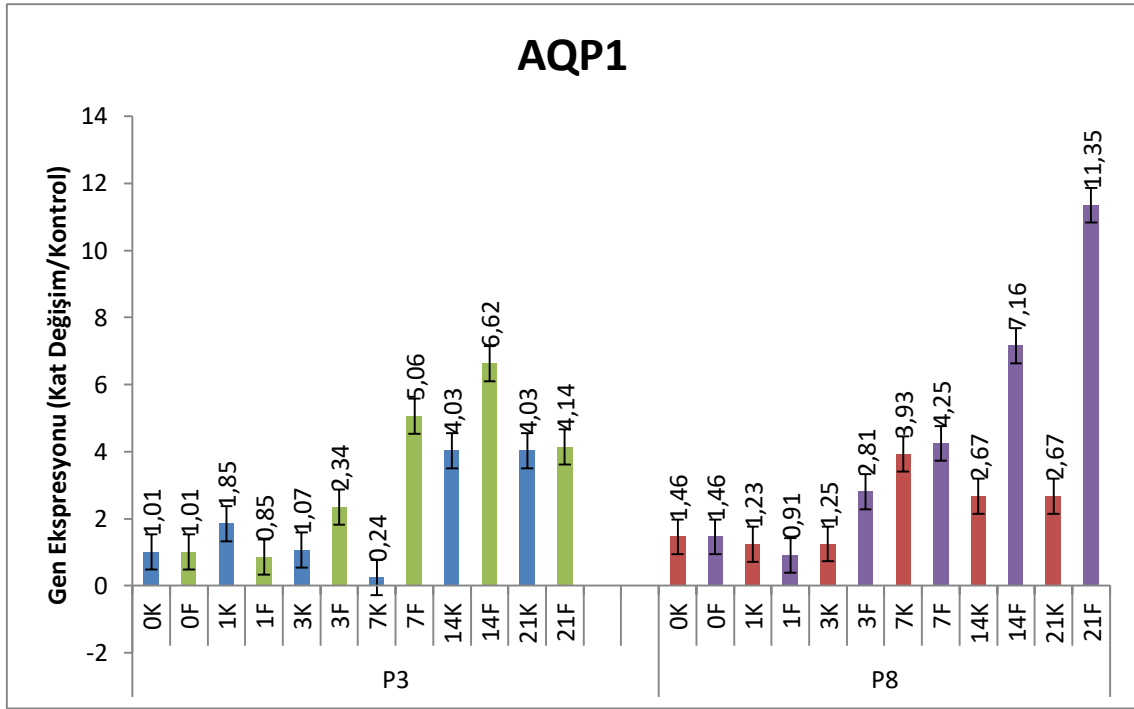


**Çizim 4.30.** AQP10 protein ekspresyonu ölçümleri çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

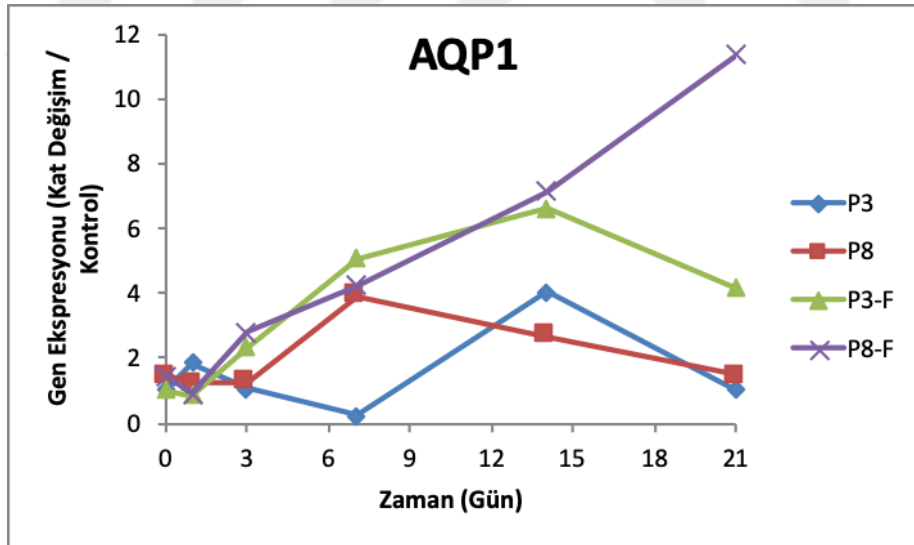
#### 4.5. Gen Ekspresyonu Sonuçları

##### 4.5.1. AQP1 gen ekspresyonu

AQP1 değerlerindeki değişimler, farklılaşma grubunda kontrole göre kıyaslandığında P3'te 1. günde, 3. Günde ve 7. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). P8'de 1. günde, 3. Günde 14. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). P3 ve P8 karşılaştırıldığında farklılaşma grubunda 7. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Çizim4.31). P3 ve P8'de hem kontrol hem farklılaşma grubunda önce düşmüş sonra yükselmiştir. P3 farklılaşma grubunda en yüksek AQP1 gen ekspresyonu 14. Günde bulunmuştur. P8 farklılaşma grubunda en yüksek AQP1 gen ekspresyonu ise 21. Günde bulunmuştur (Çizim4.32).



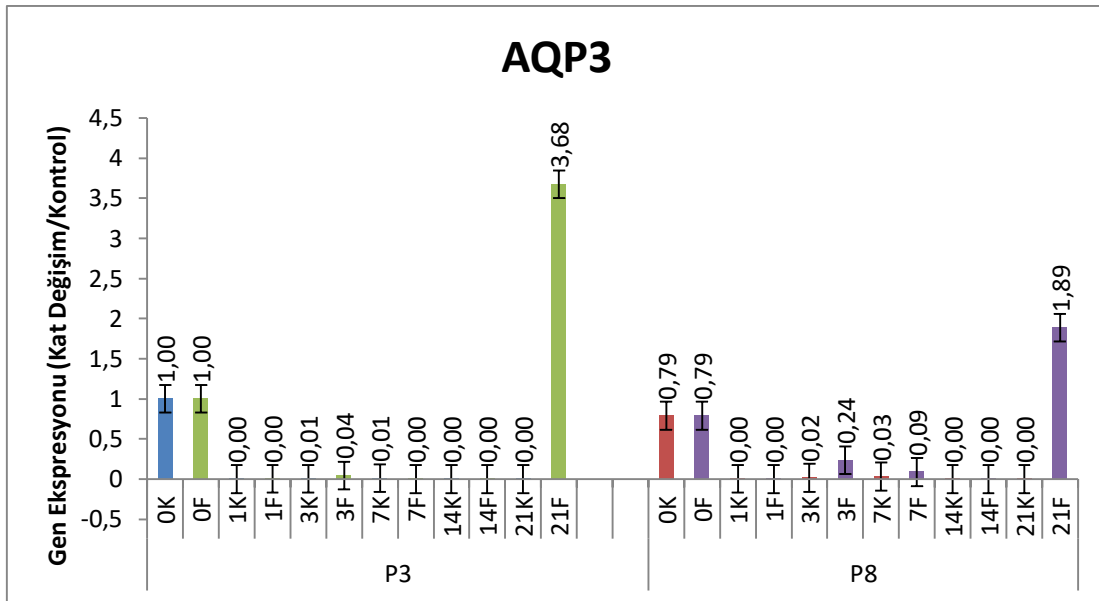
**Çizim 4.31.** Zamana göre AQP1 gen ekspresyonu grafiği. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; yeşil sütun, P3 farklılaşma grubu; kırmızı sütun, P8 kontrol grubu; mor sütun, P8 farklılaşma grubu AQP1 gen ekspresyonu ölçümleridir.



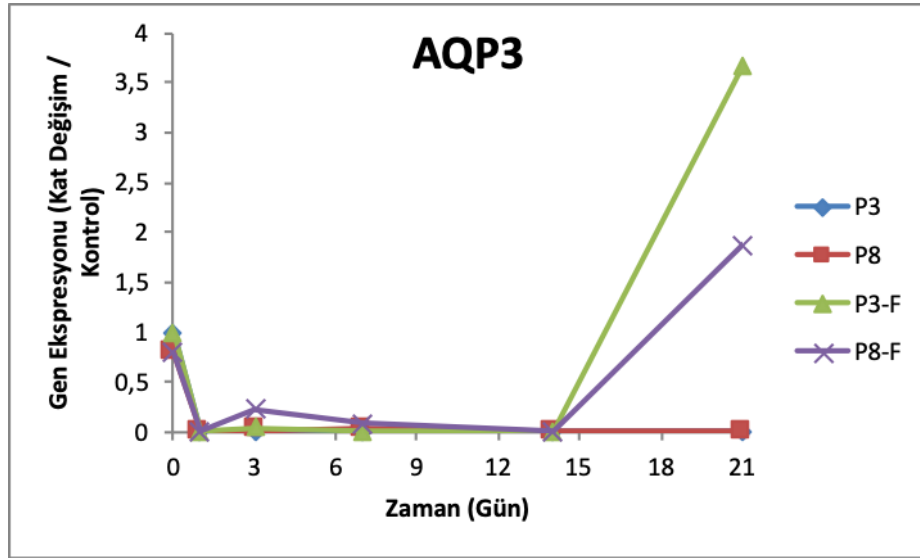
**Çizim 4.32.** AQP1 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

#### 4.5.2. AQP3 Gen Ekspresyonu

AQP3 değerlerindeki değişimler, farklılaşma grubunda kontrole göre kıyaslandığında P3'te 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). P8'de 1. günde, 7. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). P3 ve P8 karşılaştırıldığında farklılaşma grubunda 0. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizim4.33). P3 ve P8'de hem kontrol hem farklılaşma grubunda önce düşmüş sonra yükselmiştir. Hem P3 farklılaşma grubunda hem de P8 farklılaşma grubunda en yüksek AQP3 gen ekspresyonu 21. günde bulunmuştur (Çizim4.34).



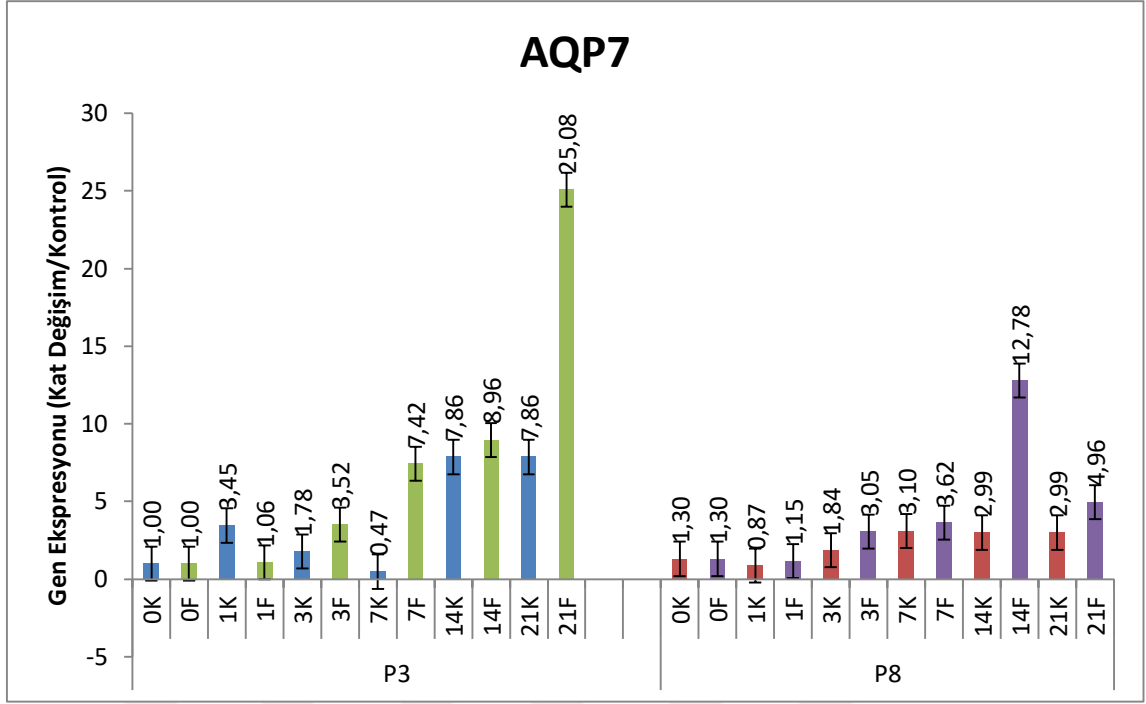
**Çizim 4.33.** Zamana göre AQP3 gen ekspresyonu grafiği. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; yeşil sütun, P3 farklılaşma grubu; kırmızı sütun, P8 kontrol grubu; mor sütun, P8 farklılaşma grubu AQP3 gen ekspresyonu ölçümleridir.



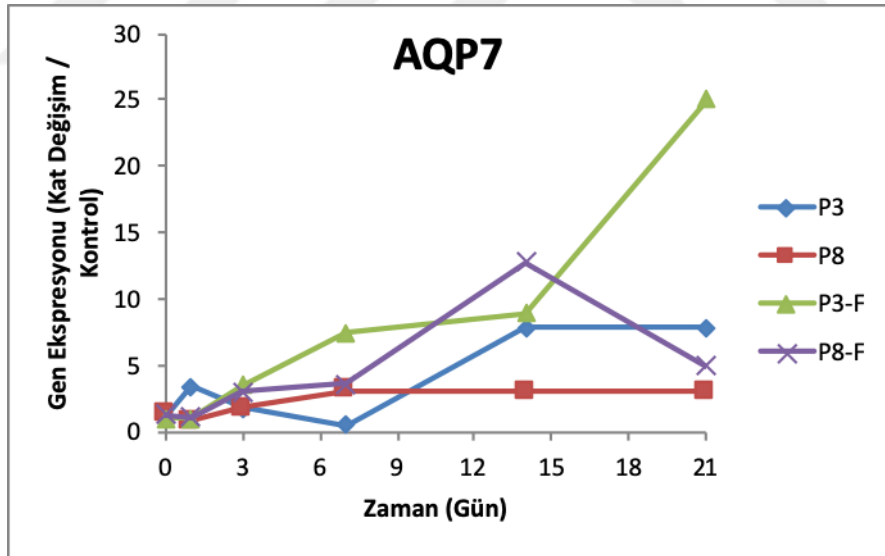
**Çizim 4.34.** AQP3 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

#### 4.5.3. AQP7 Gen Ekspresyonu

AQP7 değerlerindeki değişimler, farklılaşma grubunda kontrole göre kıyaslandığında P3'te 3. günde, 7. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). P8'de 14. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). P3 ve P8 karşılaştırıldığında farklılaşma grubunda 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Çizim4.35). P3 ve P8'de hem kontrol hem farklılaşma grubunda önce düşmüş sonra yükselmiştir. Hem P3 farklılaşma grubunda hem de P8 farklılaşma grubunda en yüksek AQP7 gen ekspresyonu 21. Günde bulunmuştur (Çizim4.36). Protein ekspresyonu ile karşılaştırmalı incelendiğinde 21. Günde düşen protein ekspresyonlarının AQP7 gen ekspresyonunu indüklediğini düşündürmüştür. P8 farklılaşma grubunda 21. Günde protein ekspresyonu, P3 21. Gündeki protein ekspresyonuna göre yüksek bulunmuştur ve korele olarak P3 21. Gün AQP7 gen ekspresyonu P8 21. Gün gen ekspresyonuna göre yüksek bulunmuştur. Hücrelerde AQP7 protein ekspresyonu düştüğünde AQP7 gen ekspresyonu artmış olarak bulunmuştur.



**Çizim 4.35.** Zamana göre AQP7 gen ekspresyonu grafiği. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; yeşil sütun, P3 farklılaşma grubu; kırmızı sütun, P8 kontrol grubu; mor sütun, P8 farklılaşma grubu AQP7 gen ekspresyonu ölçümleridir.

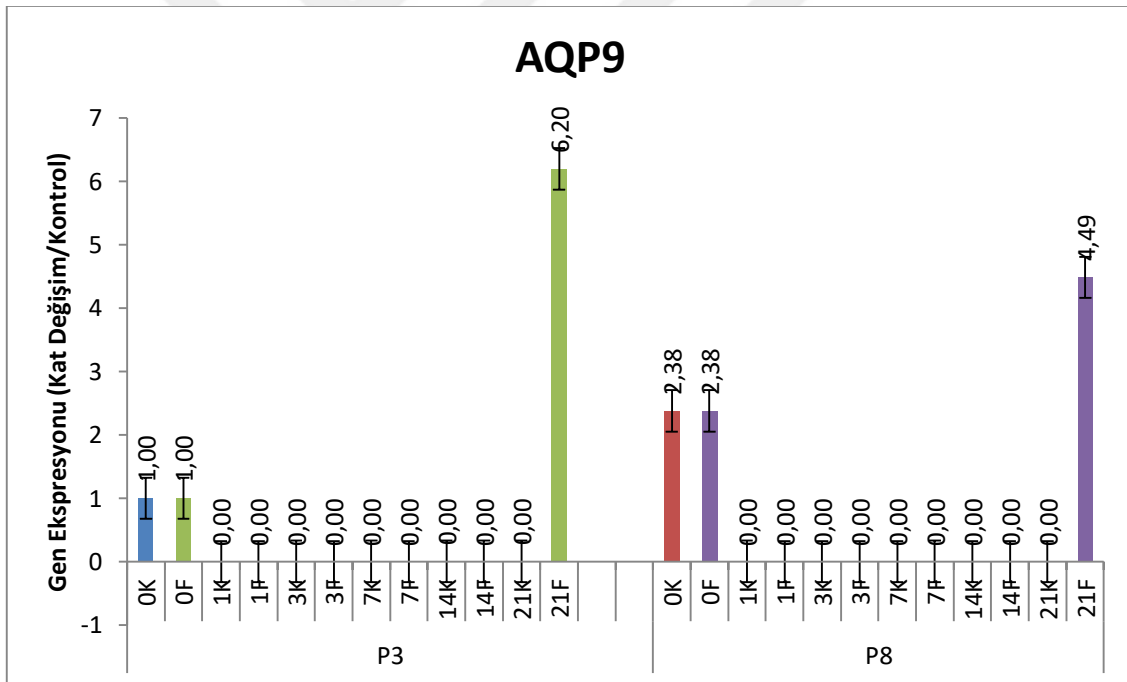


**Çizim 4.36.** AQP7 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

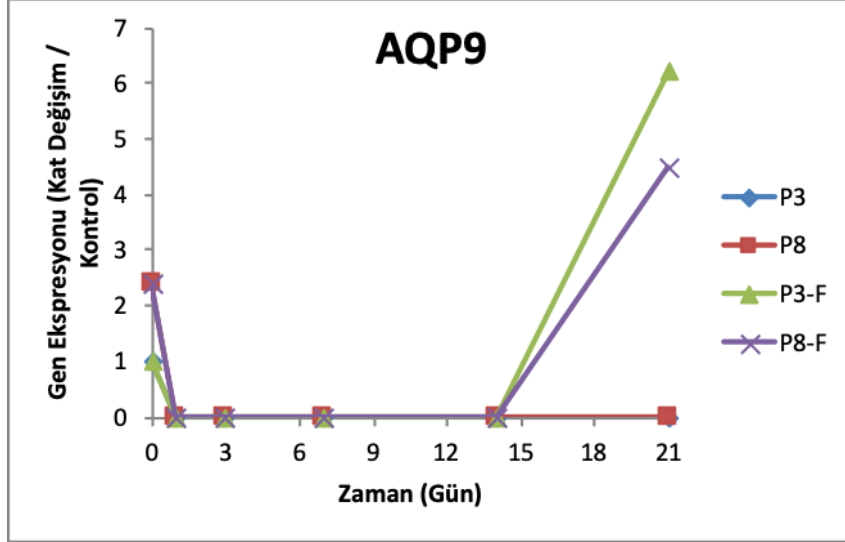


#### 4.5.4. AQP9 Gen Ekspresyonu

AQP9 değerlerindeki değişimler, farklılaşma grubunda kontrole göre kıyaslandığında P3'te 1. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). P8'de 1. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). P3 ve P8 karşılaştırıldığında farklılaşma grubunda 0. Günde, 1. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizim4.37). P3 ve P8'de hem kontrol hem farklılaşma grubunda önce düşmüş sonra yükselmiştir. Hem P3 farklılaşma grubunda hem de P8 farklılaşma grubunda en yüksek AQP9 gen ekspresyonu 21. Günde bulunmuştur (Çizim4.38). Protein ekspresyonu ile karşılaştırmalı incelendiğinde 21. Günde düşen protein ekspresyonlarının AQP9 gen ekspresyonunu indüklediğini düşündürmüştür. Hücrelerde AQP9 protein ekspresyonu düştüğünde AQP9 gen ekspresyonu artmış olarak bulunmuştur. Ölçülen değerler incelendiğinde adipojenik farklılaşma ile AQP9 gen ekspresyonu arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir.



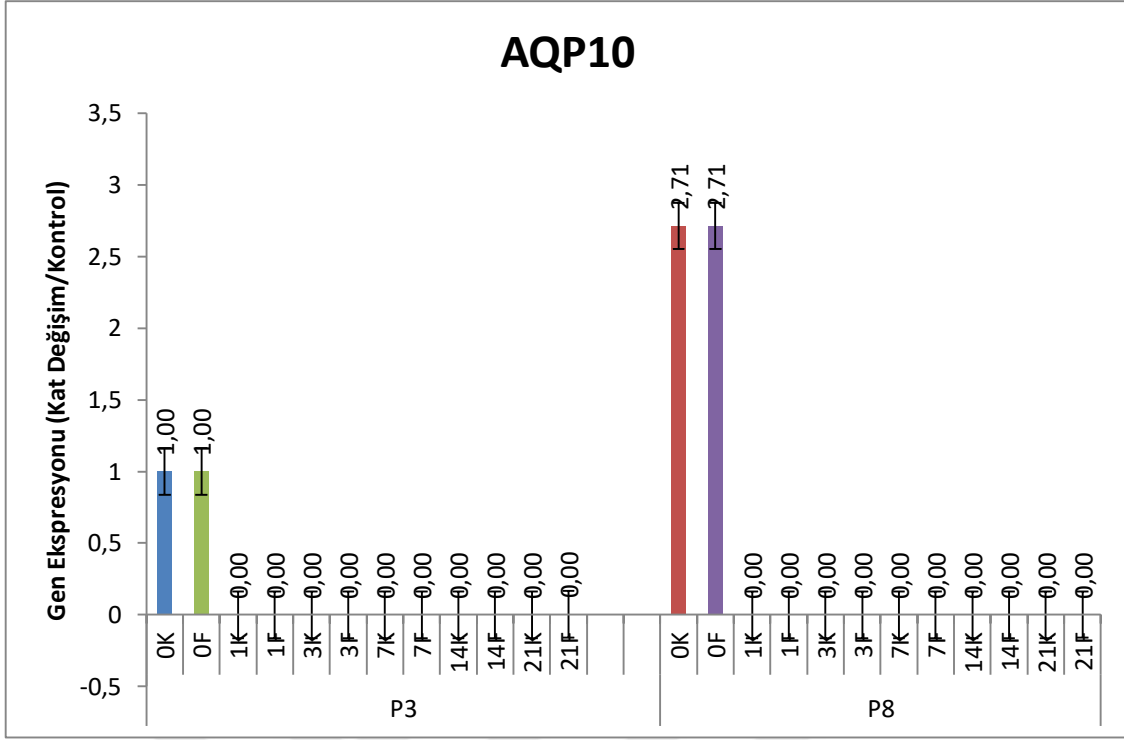
**Çizim 4. 37.** Zamana göre AQP9 gen ekspresyonu grafiği. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; yeşil sütun, P3 farklılaşma grubu; kırmızı sütun, P8 kontrol grubu; mor sütun, P8 farklılaşma grubu AQP9 gen ekspresyonu ölçümleridir.



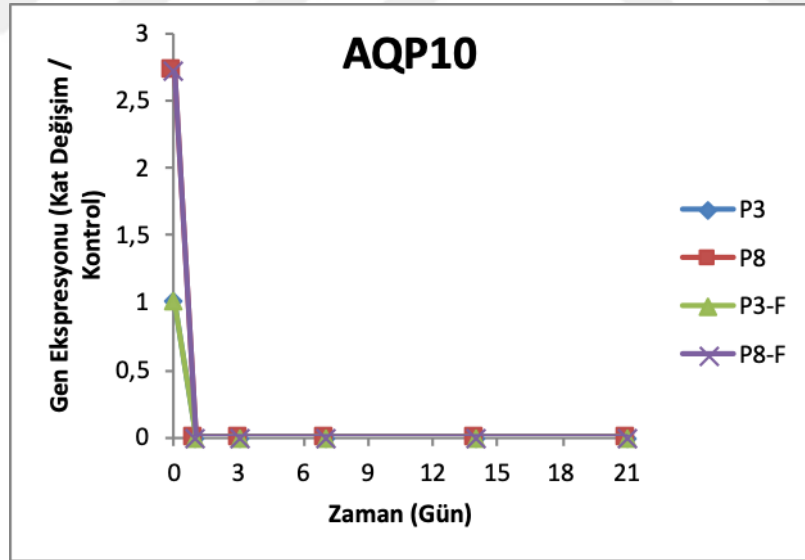
**Çizim 4. 38.** AQP9 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

#### 4.5.5. AQP10 Gen Ekspresyonu

AQP10 değerlerindeki değişimler, farklılaşma grubunda kontrole göre kıyaslandığında P3'te 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). P8'de 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). P3 ve P8 karşılaştırıldığında farklılaşma grubunda 0. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Çizim4.39, Çizim4.40).



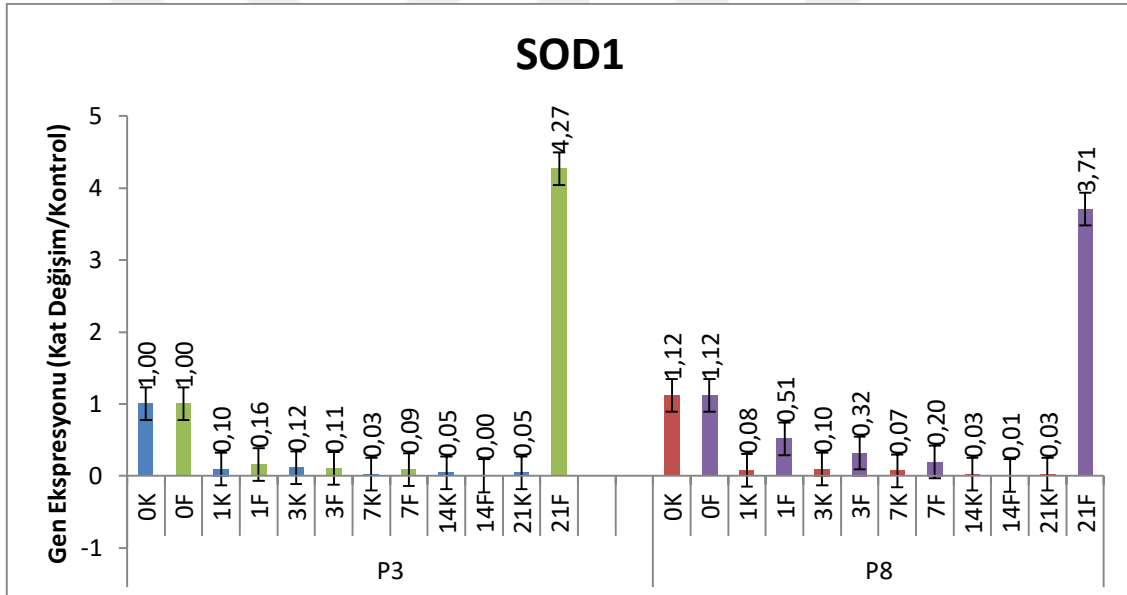
**Çizim 4.39.** Zamana göre AQP10 gen ekspresyonu grafiği. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; yeşil sütun, P3 farklılaşma grubu; kırmızı sütun, P8 kontrol grubu; mor sütun, P8 farklılaşma grubu AQP10 gen ekspresyonu ölçümleridir.



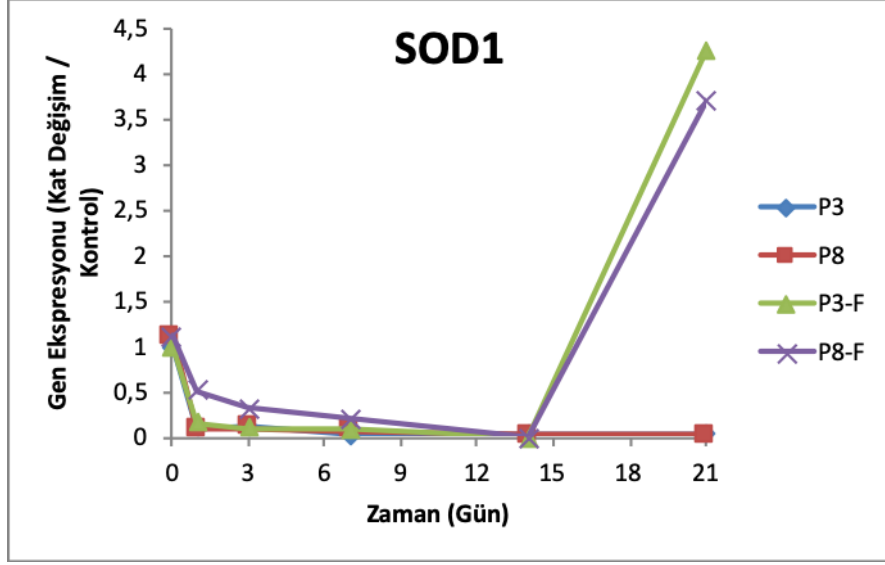
**Çizim 4.40.** AQP10 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

#### 4.5.6. SOD1 Gen Ekspresyonu

SOD1 gen ekspresyonu değerlerindeki değişimler, farklılaşma grubunda kontrole göre kıyaslandığında P3'te 1. Günde, 7. Günde, 14. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). P8'de 1. Günde, 3. Günde, 7. Günde, 14. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). P3 ve P8 karşılaştırıldığında farklılaşma grubunda 1. Günde, 3. Günde, 7. Günde ve 14. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Çizim4.41). P3 ve P8'de hem kontrol hem farklılaşma grubunda önce düşmüş sonra yükselmiştir. Hem P3 farklılaşma grubunda hem de P8 farklılaşma grubunda en yüksek SOD1 gen ekspresyonu 21. Günde bulunmuştur (Çizim4.42). Farklılaşma sonrası SOD1 gen ekspresyonunun pik yapması farklılaşmayı desteklediğini göstermiştir. Farklılaşmanın 21. Günü oksidatif strese karşı SOD1 gen ekspresyonu P3'te artarken P8'deki artış onun kadar olmamıştır.



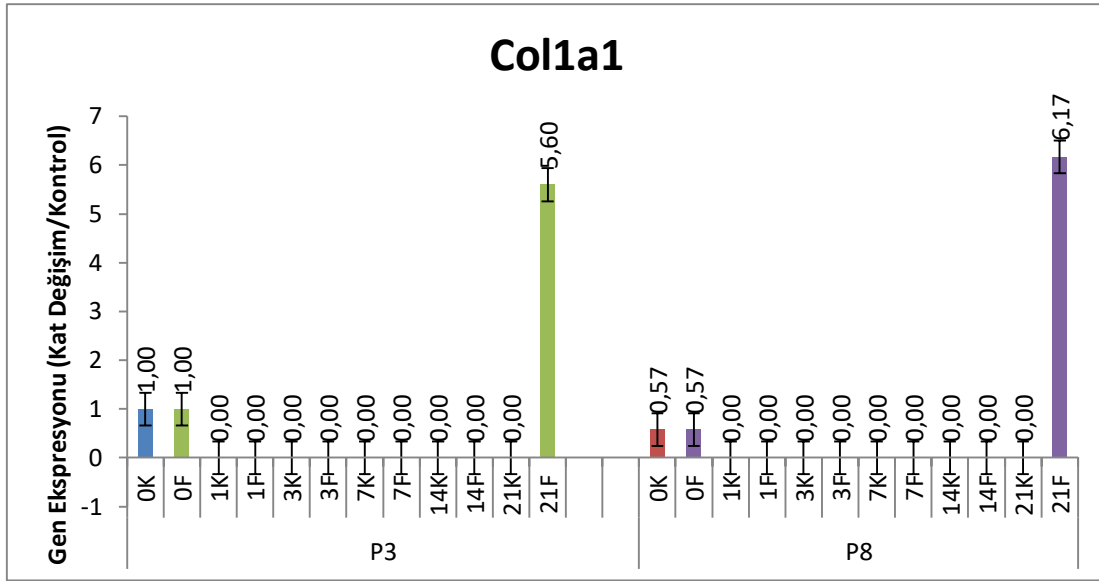
**Çizim 4.41.** Zamana göre SOD1 gen ekspresyonu grafiği. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; yeşil sütun, P3 farklılaşma grubu; kırmızı sütun, P8 kontrol grubu; mor sütun, P8 farklılaşma grubu SOD1 gen ekspresyonu ölçümleridir.



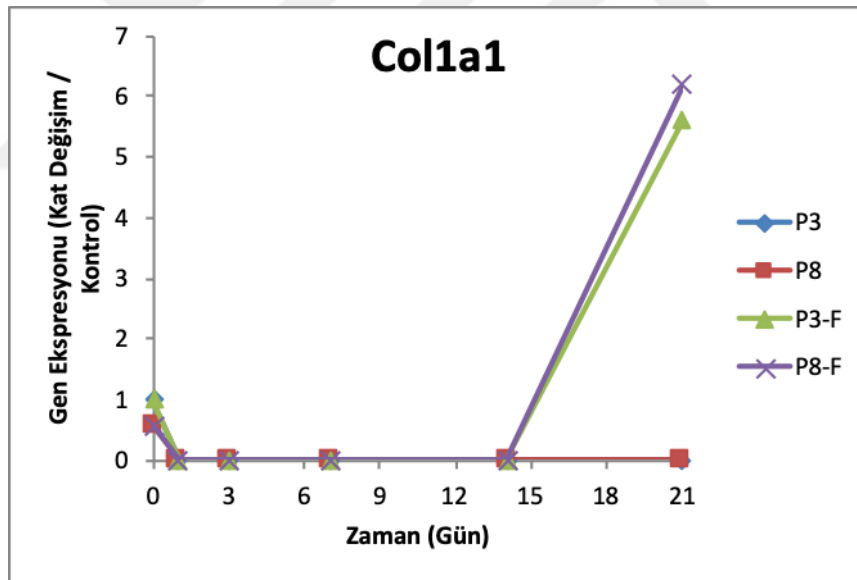
**Çizim 4.42.** SOD1 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

#### 4.5.7. Colla1 Gen Ekspresyonu

Colla1 (collagen type I alpha 1 chain, kollajen 1 alfa 1) gen ekspresyonu değerlerindeki değişimler, farklılaşma grubunda kontrole göre kıyaslandığında P3'te 14. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). P8'de 1. Günde ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). P3 ve P8 karşılaştırıldığında farklılaşma grubunda 0. Günde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizim4.43). P3 ve P8'de hem kontrol hem farklılaşma grubunda önce düşmüş sonra yükselmiştir. Hem P3 farklılaşma grubunda hem de P8 farklılaşma grubunda en yüksek Colla1 gen ekspresyonu 21. Günde bulunmuştur (Çizim4.44). Farklılaşma sonrası Colla1 gen ekspresyonunun pik yapması farklılaşmayı desteklediğini göstermiştir. Farklılaşmanın 21. Günü oksidatif strese karşı Colla1 gen ekspresyonu P3'te ve P8'de benzer şekilde artmıştır.



**Çizim 4.43.** Zamana göre Col1a1 gen ekspresyonu grafiği. Açık mavi sütun, P3 kontrol grubu; yeşil sütun, P3 farklılaşma grubu; kırmızı sütun, P8 kontrol grubu; mor sütun, P8 farklılaşma grubu Col1a1 gen ekspresyonu ölçümleridir.



**Çizim 4.44.** Col1a1 gen ekspresyonu ölçümlerinin zamana göre çizgi grafiği. P3 kontrol grubu mavi çizgi; P3 farklılaşma grubu yeşil çizgi; P8 kontrol grubu kırmızı çizgi; P8 farklılaşma grubu mor çizgi ile gösterilmiştir.

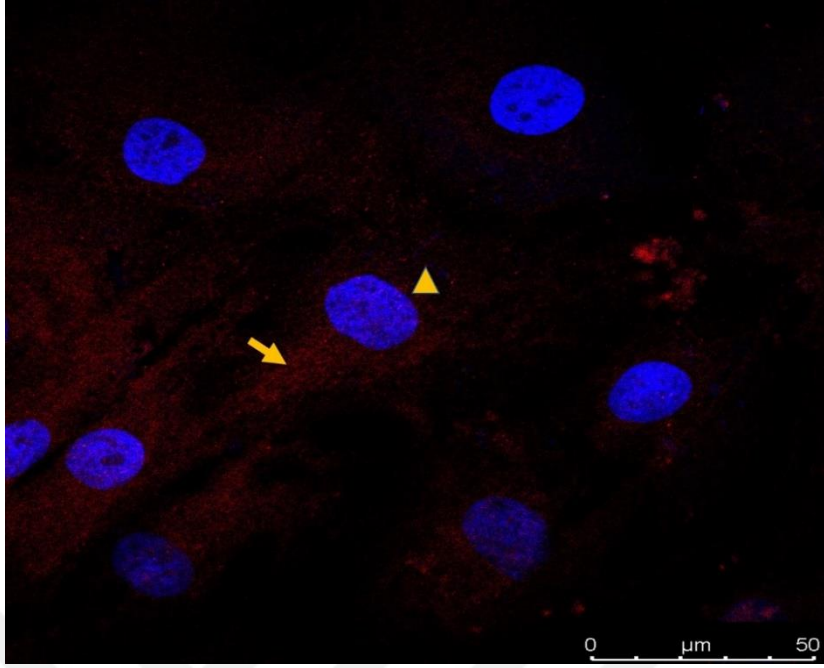
#### 4.6. İmmüno Floresan Boyama Sonuçları

Adipojenik farklılaşmayı doğrulamak ve zamana göre AQP'lerin görünüşlerini belirlemek için, 7. Gün ve 14. Günde AQP1, AQP3, AQP7, AQP9 ve AQP 10 antikorları ile

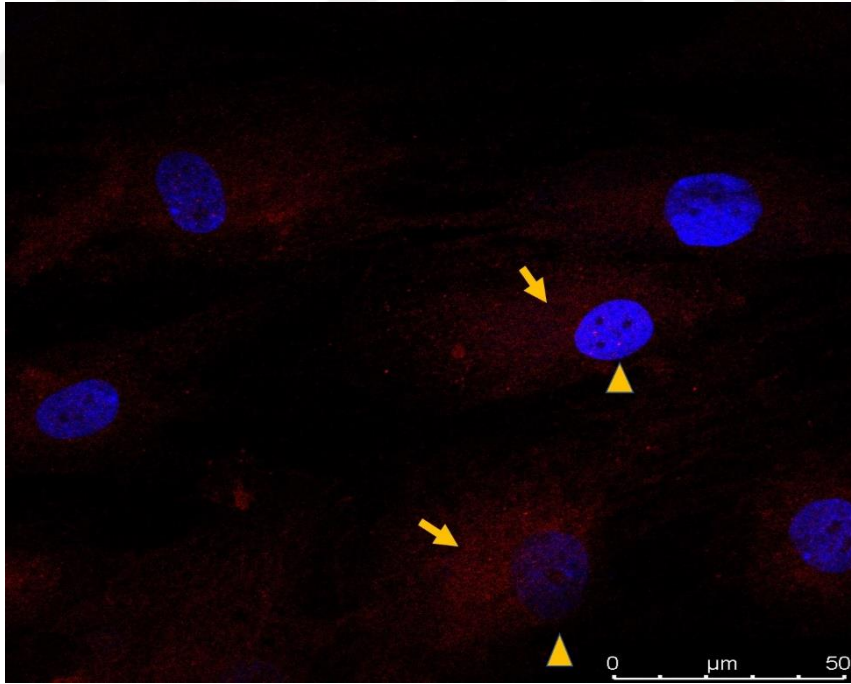
immünfloresan boyama yapılmıştır. Boyamalarda nükleusu görüntülemek için 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) uygulanmıştır. Kullanılan sekonder antikora göre kırmızı ya da yeşil ışığa görülmüştür. (Çizim 4.45-4.79). Kontrol grubunda yapılan immünfloresan boyamada AQP1, AQP3, AQP7, AQP9 ve AQP10 pozitif görülmüştür (Çizim 4.45-4.54). Kontrol grubunda ve bazı 7. Gün boyamalarında AQP'ler farklılaşmamış mezenkimal hücrelerin membranında görüntülenmiştir (Çizim 4.45-4.56, 59-64, 67, 68, 71-73, 76, 77). Farklılaşmanın 14. Günündeki boyamalarda ve bazı 7. Günündeki boyamalarda adiposit içi lipit damlacıkları immünfloresan görüntülemeye dikkat çekmiştir. Bazı makaleler ve kitaplar lipit damlacıklarının etrafında membran olmadığını söylese de bazı makaleler damlacıkların etrafında tek tabakalı ve kendi proteinlerini içeren fosfolipit bir membrandan söz etmektedir. Bizim fotomikrograflarımızda da lipit damlacıklarının etrafında da pozitif ışığa görülmüştür ve bu bize lipit damlacıklarının etrafında membran olabileceğini ve onun da kendine ait AQP proteinleri olabileceğini düşündürmüştür (Çizim 57, 58, 65, 66, 69, 70, 74, 75, 78, 79).

#### **4.6.1. Kontrol Grubu Fotomikrografları**

Kontrol grubu AQP1 fotomikrografları;



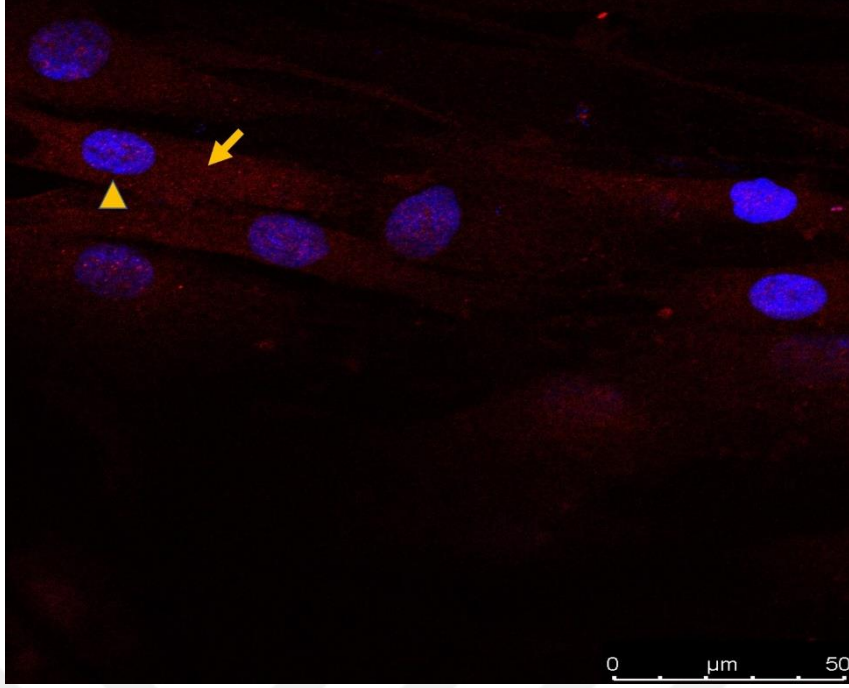
**Çizim 4.45.** Kontrol grubu P3 AQP1 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskobik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP1 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).



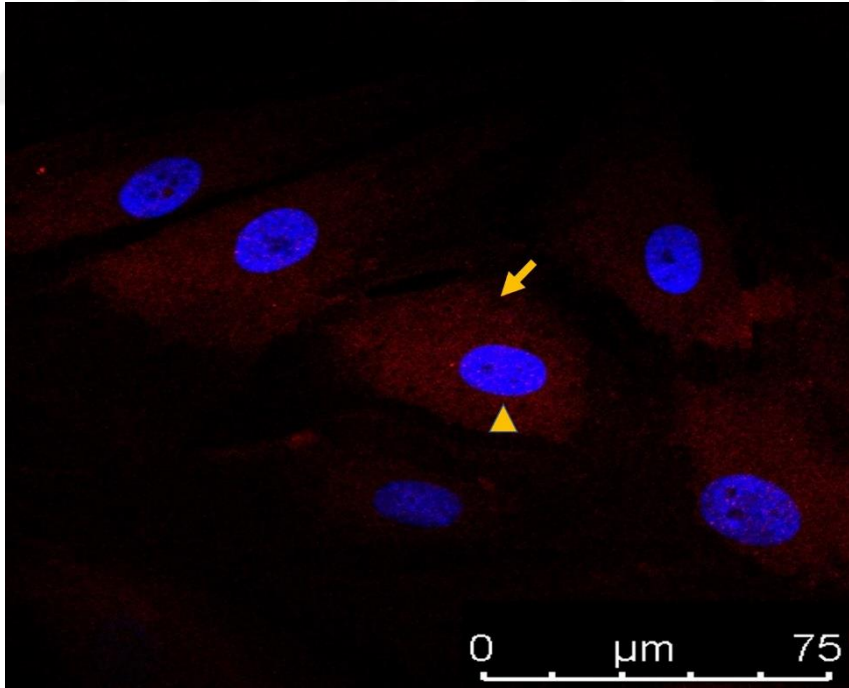
**Çizim 4.46.** Kontrol grubu P8 AQP1 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskobik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP1 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

Kontrol grubu AQP3 fotomikrografları;



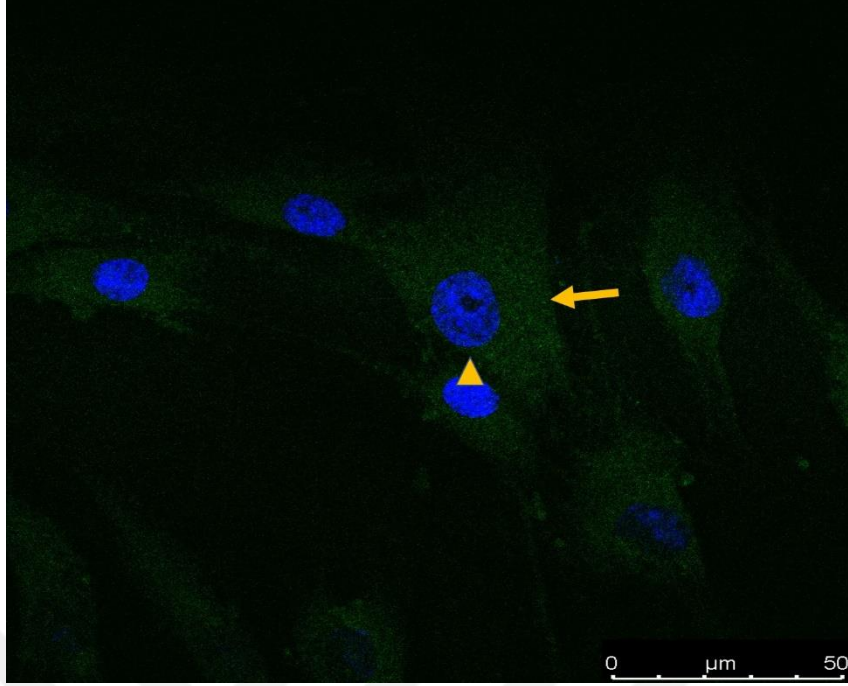


**Çizim 4.47.** Kontrol grubu P3 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskobik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP3 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

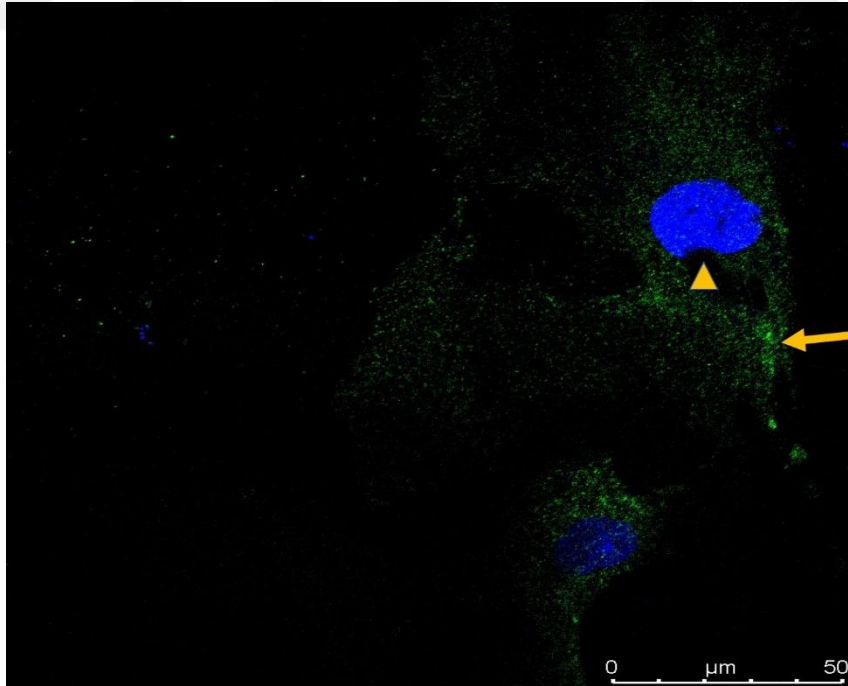


**Çizim 4.48.** Kontrol grubu P8 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskobik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP3 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 75  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

Kontrol grubu AQP7 fotomikrografları;

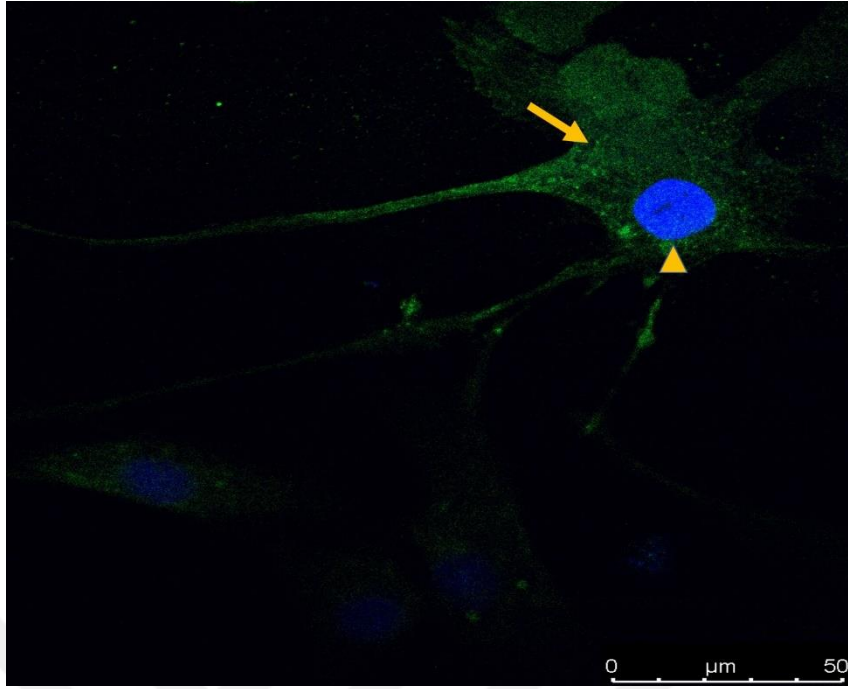


**Çizim 4.49.** Kontrol grubu P3 AQP7 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskobik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP7 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

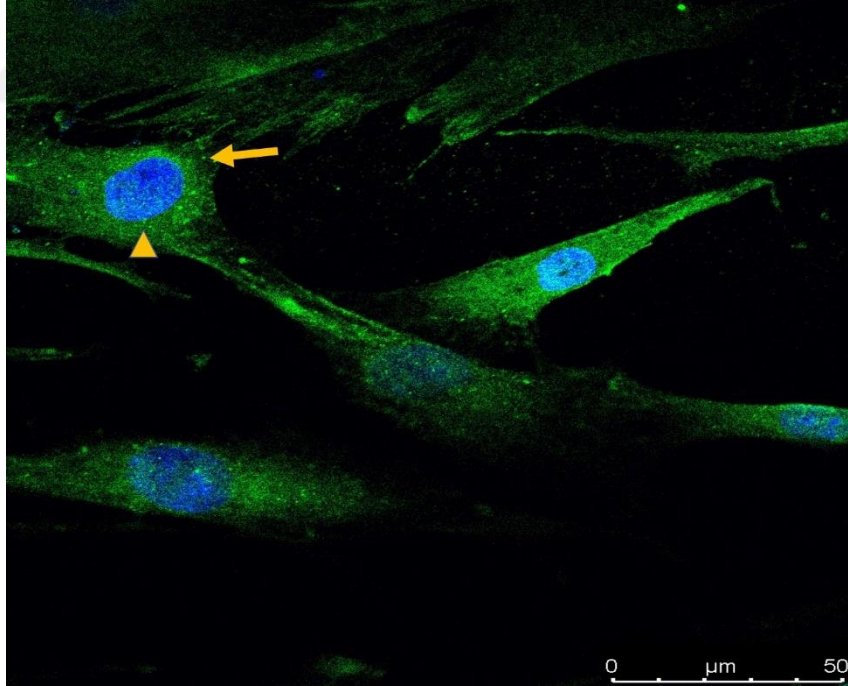


**Çizim 4.50.** Kontrol grubu P8 AQP7 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskobik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP7 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

Kontrol grubu AQP9 fotomikrografları;

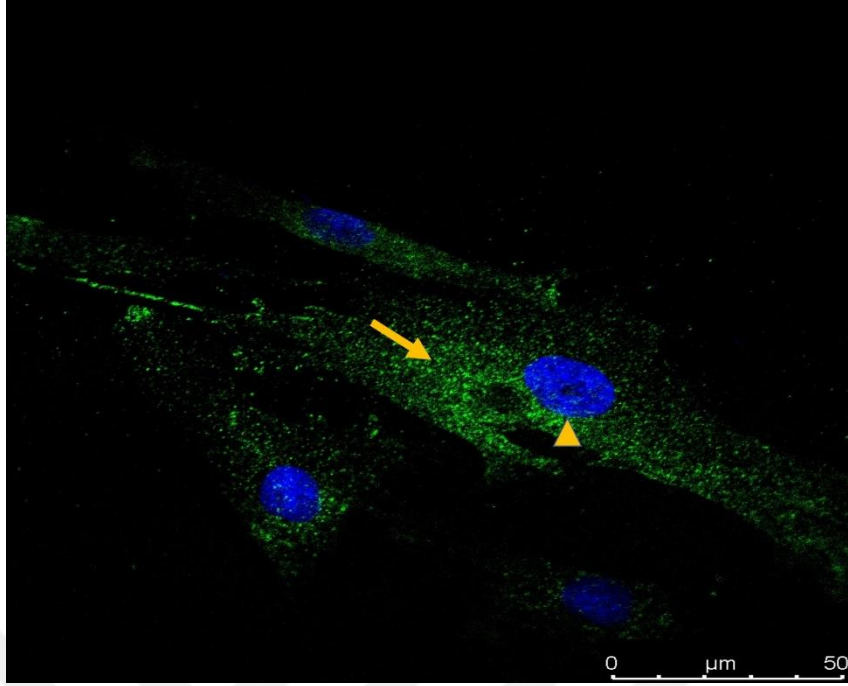


**Çizim 4.51.** Kontrol grubu P3 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskobik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP9 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

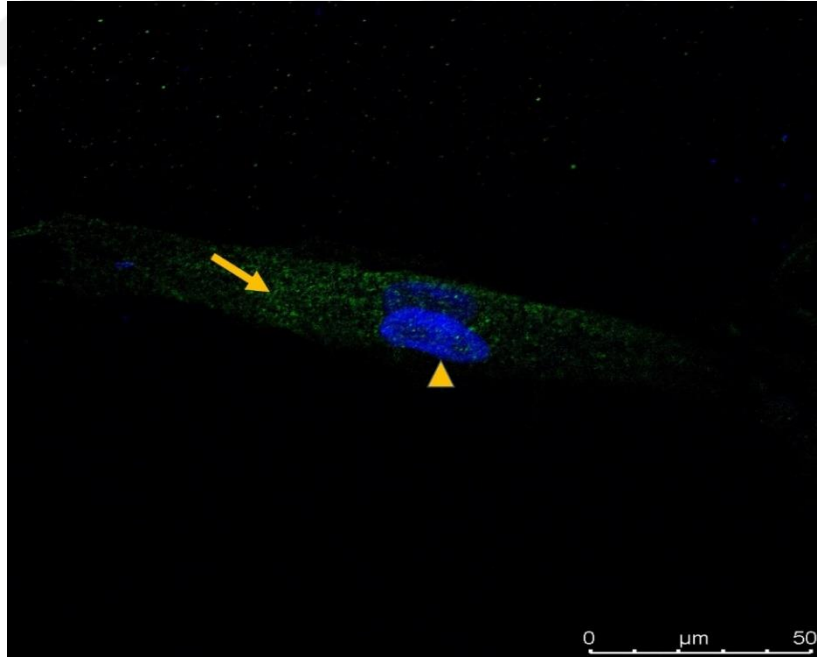


**Çizim 4.52.** Kontrol grubu P8 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskobik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP9 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

Kontrol grubu AQP10 fotomikrografları;



**Çizim 4.53.** Kontrol grubu P3 AQP10 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP10 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

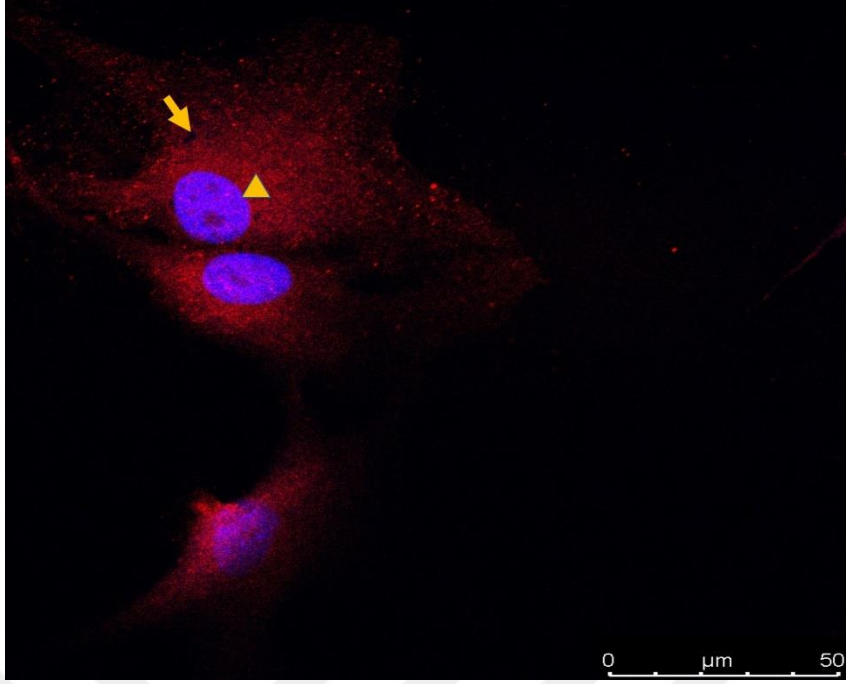


**Çizim 4.54.** Kontrol grubu P8 AQP10 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP10 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

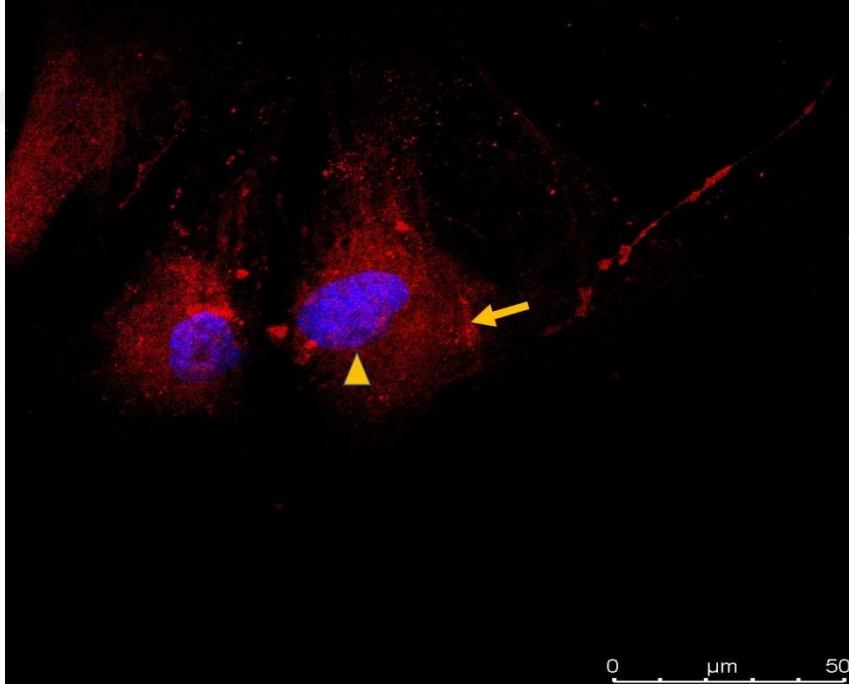
#### 4.6.2. Farklılaşma Grubu Fotomikrografları

Farklılaşma grubu AQP1 fotomikrografları;

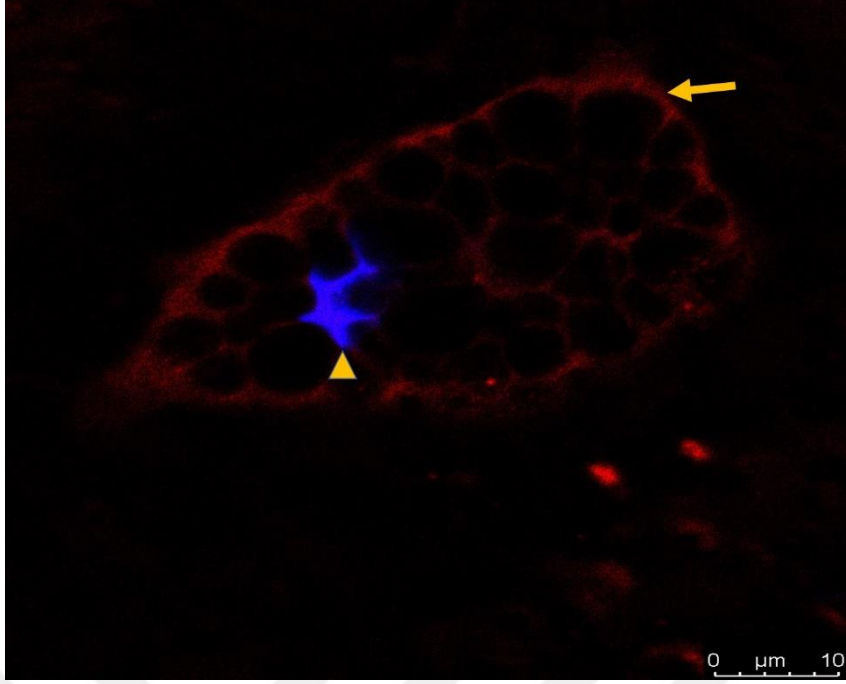




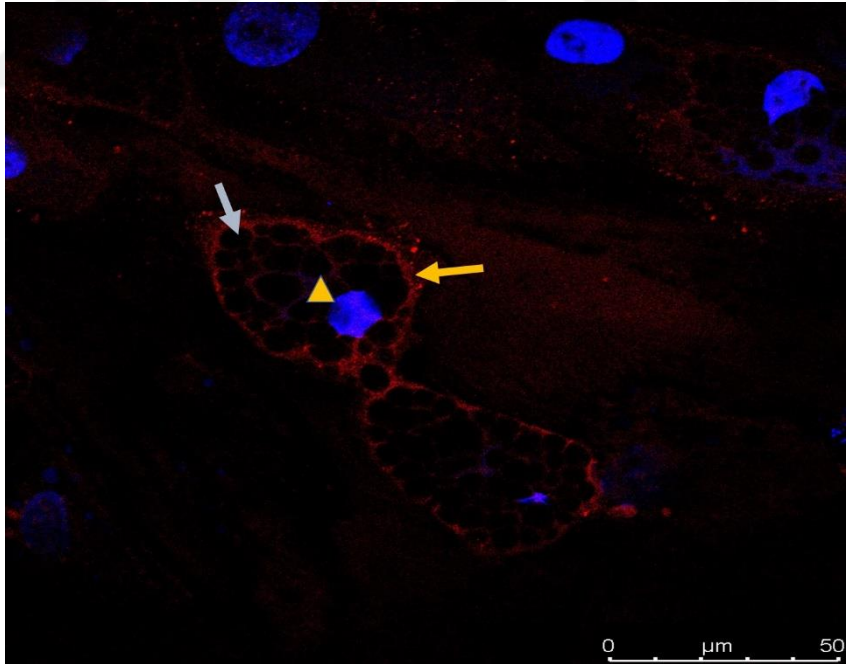
**Çizim 4.55.** Farklılaşma grubu 7. gün P3 AQP1 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP1 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).



**Çizim 4.56.** Farklılaşma grubu 7. gün P8 AQP1 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP1 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

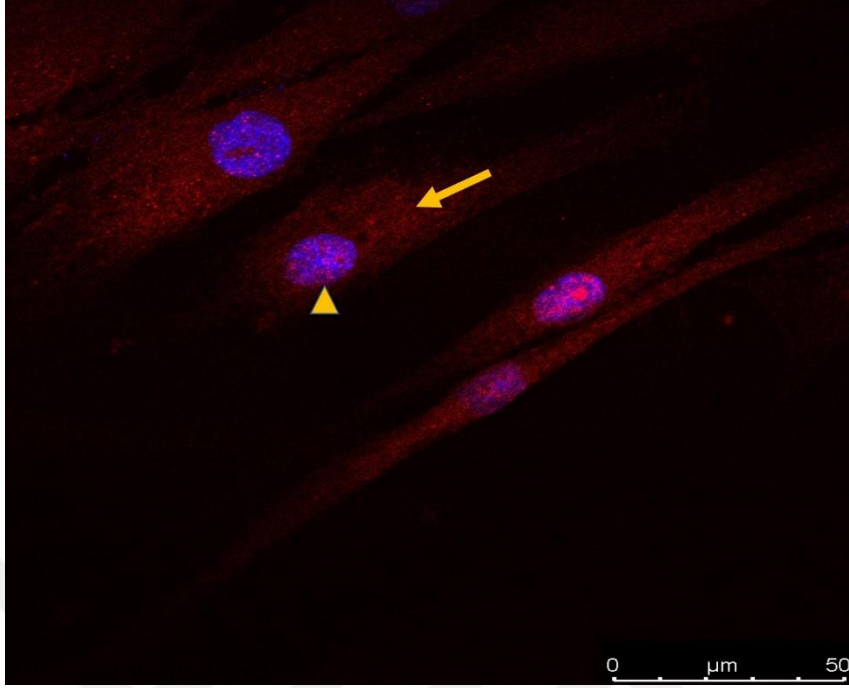


**Çizim 4.57.** Farklılaşma grubu 14. gün P3 AQP1 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP3 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

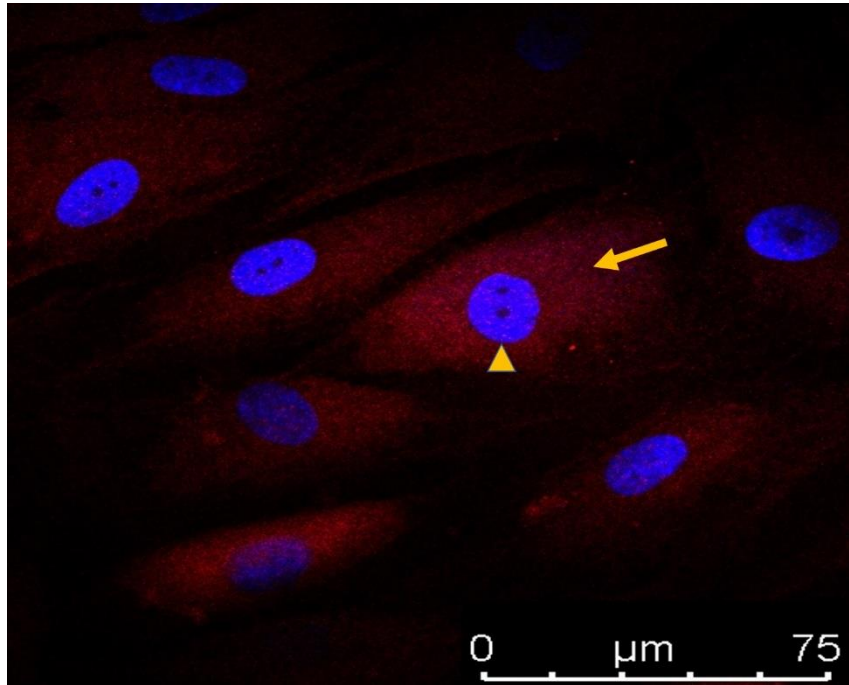


**Çizim 4.58.** Farklılaşma grubu 14. gün P3 AQP1 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; sarı ok, membrandaki AQP3 pozitif bölgeleri; gri ok, hücre içi lipit damlacıklarını işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

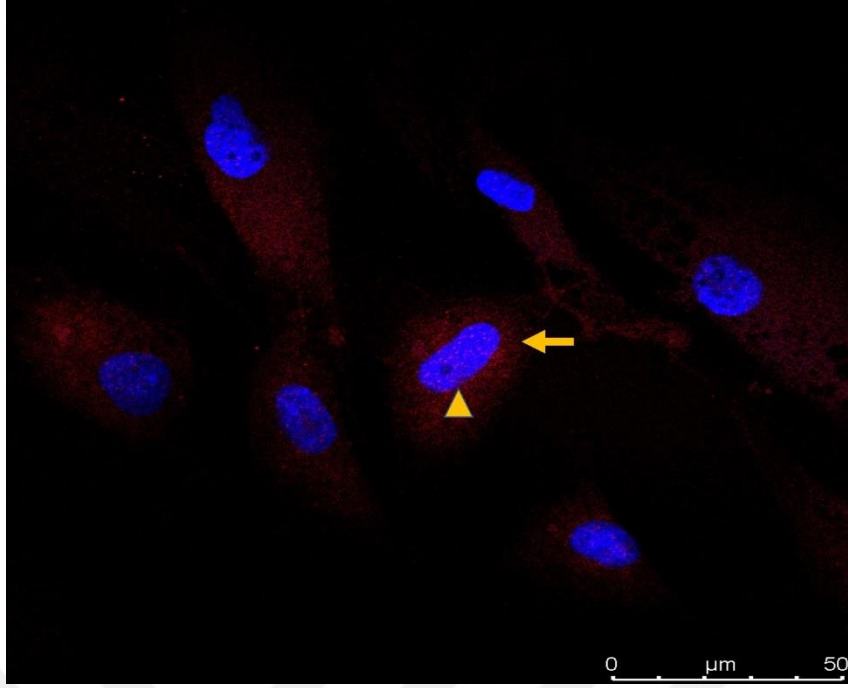
Farklılaşma grubu AQP3 fotomikrografları;



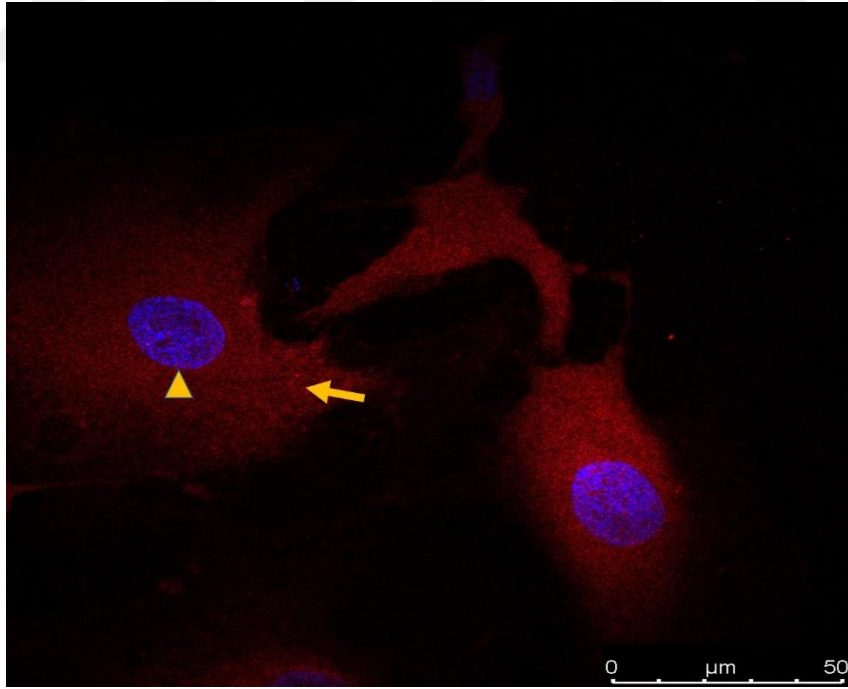
**Çizim 4.59.** Farklılaşma grubu 7. gün P3 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP3 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).



**Çizim 4.60.** Farklılaşma grubu 7. Gün-2 P3 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP3 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 75  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

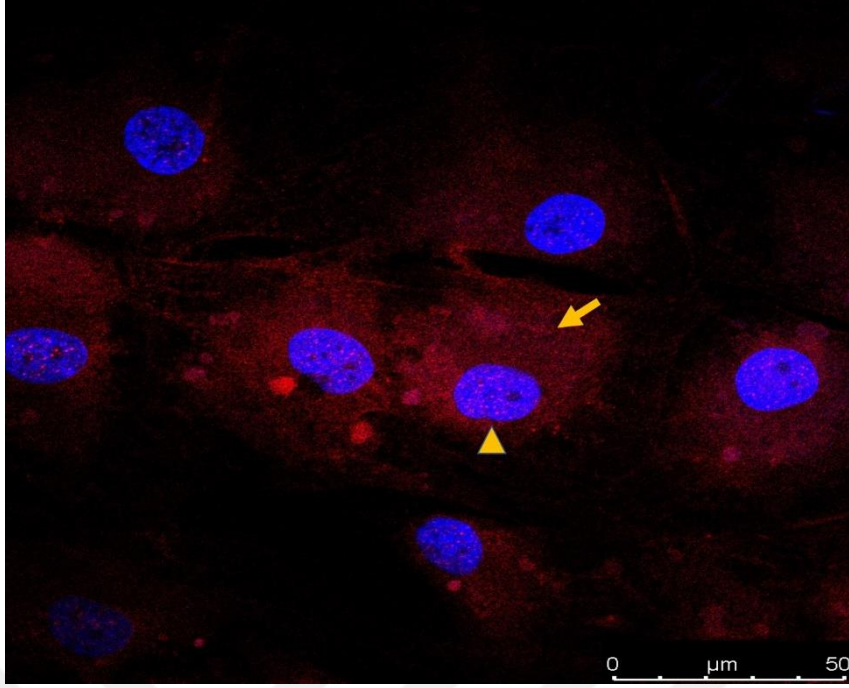


**Çizim 4.61.** Farklılaşma grubu 7. Gün P3 AQP3 ve 7. Gün P3 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP3 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

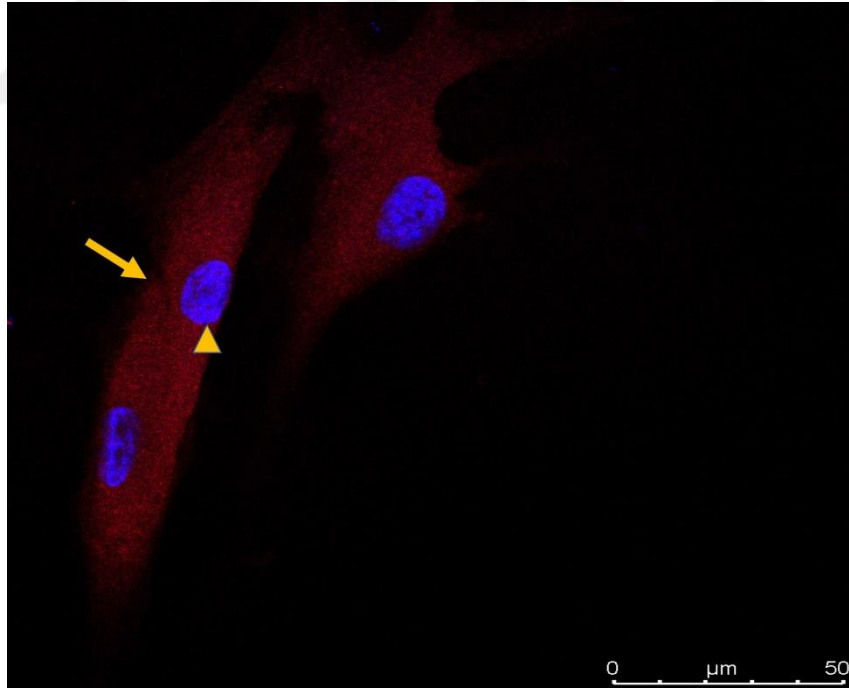


**Çizim 4.62.** Farklılaşma grubu 7. Gün P3 AQP3 ve 7. Gün P8 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP3 ve AQP8 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

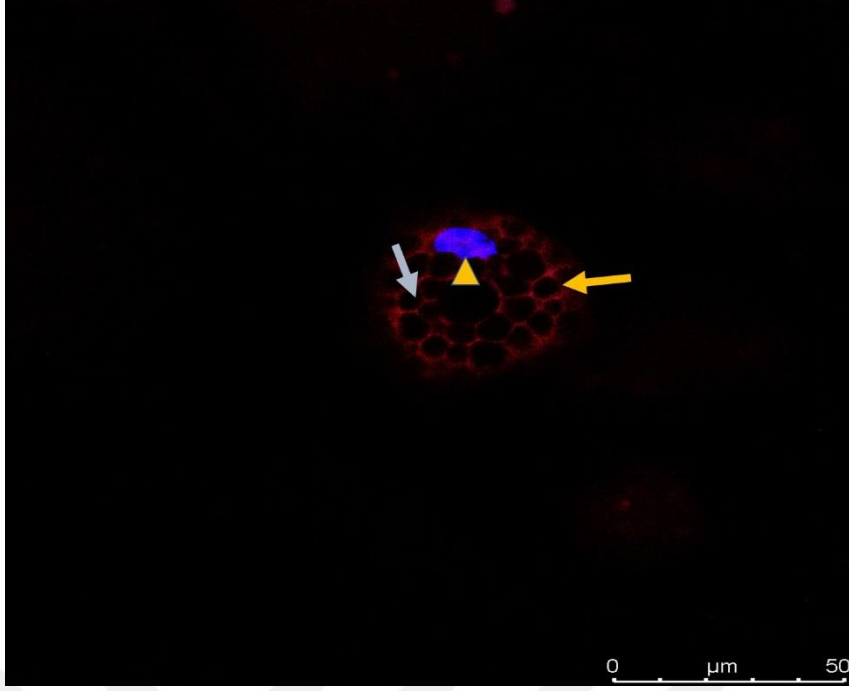




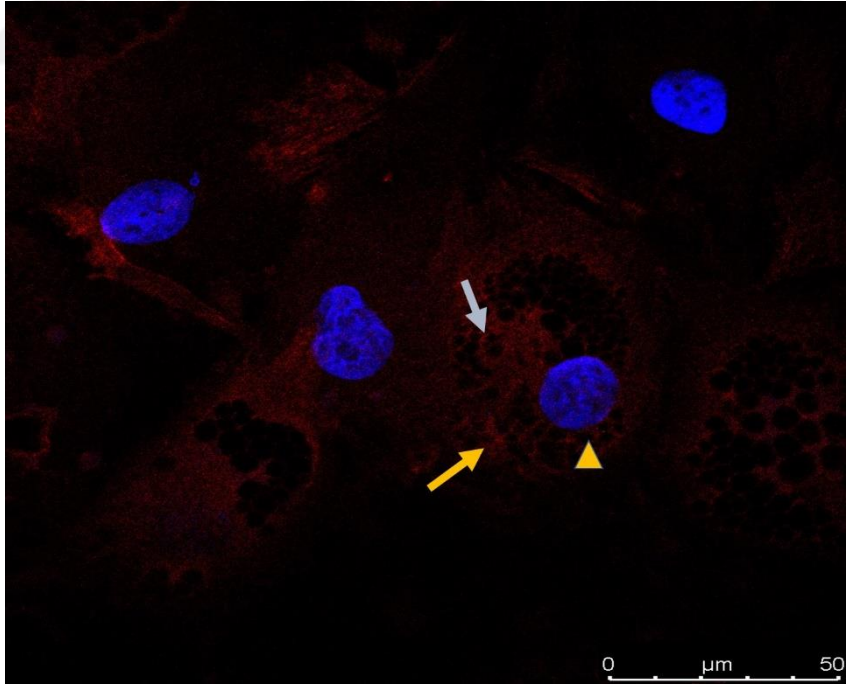
**Çizim 4.63.**Farklılaşma grubu 7. Gün P8 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP3 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu$ m, 400X Büyütme).



**Çizim 4.64.** Farklılaşma grubu 7. Gün P8 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP3 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu$ m, 400X Büyütme).

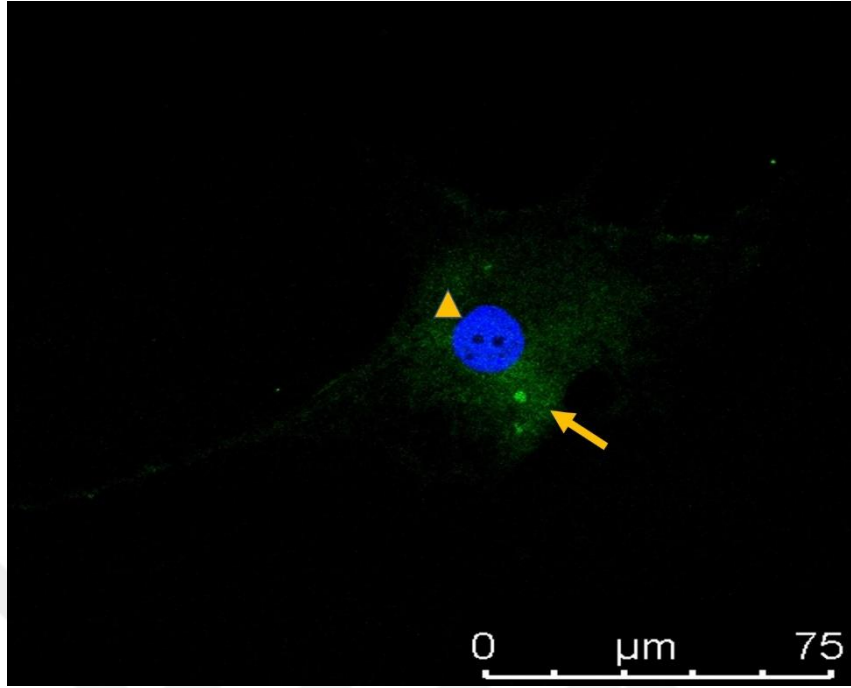


**Çizim 4.65.** Farklılaşma grubu 14. Gün P3 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; sarı ok, membrandaki AQP3 pozitif bölgeleri; gri ok, hücre içi lipit damlacıklarını işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

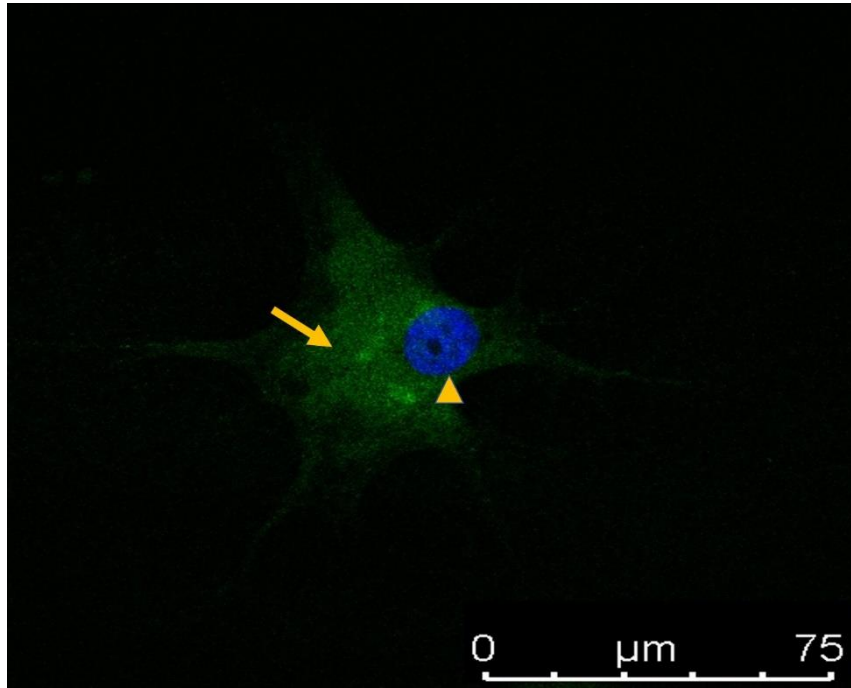


**Çizim 4.66.** Farklılaşma grubu 14. Gün P8 AQP3 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; sarı ok, membrandaki AQP3 pozitif bölgeleri; gri ok, hücre içi lipit damlacıklarını işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

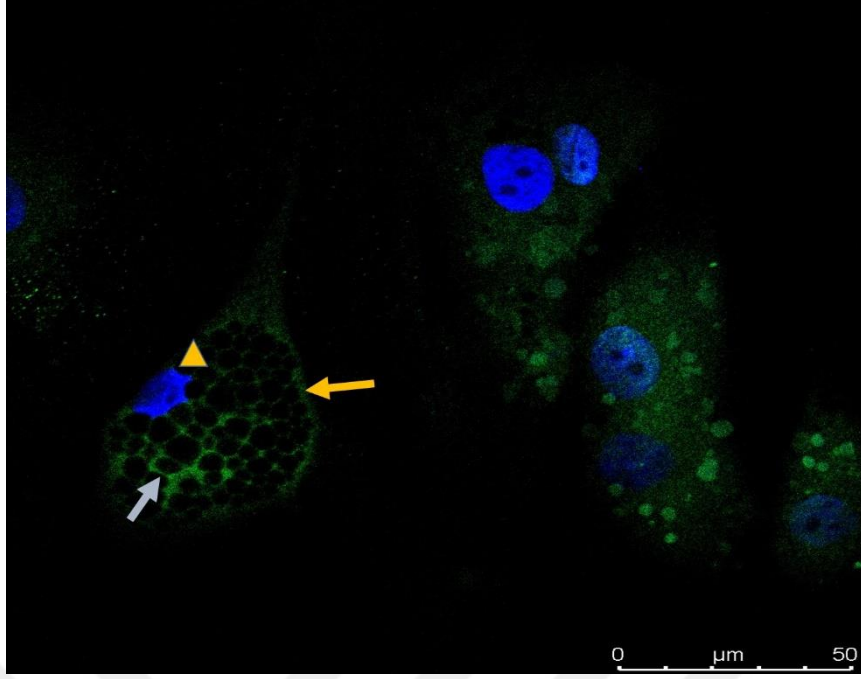
Farklılaşma grubu AQP7 fotomikrografları;



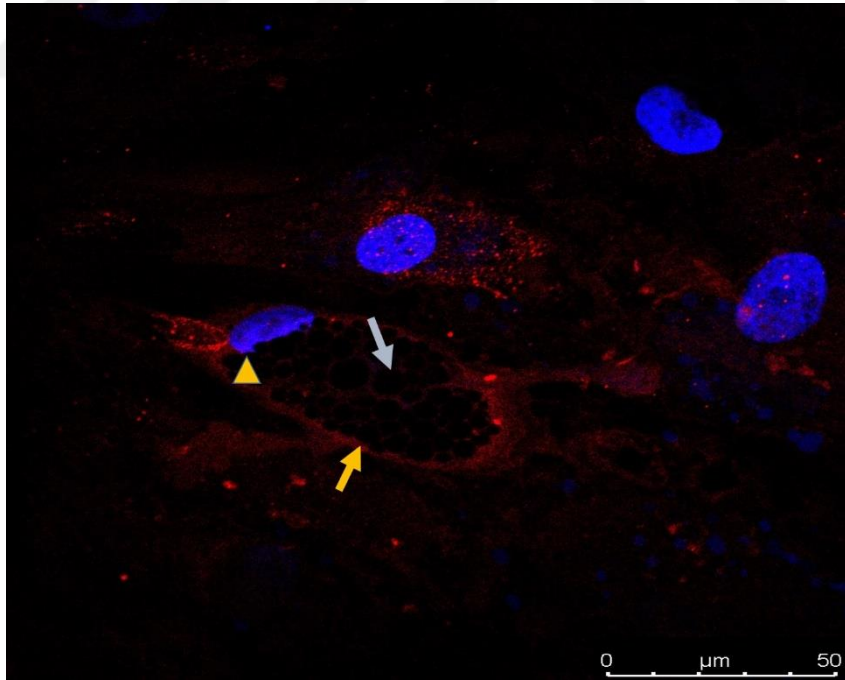
**Çizim 4.67.** Farklılaşma grubu 7. Gün P3 AQP7 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; sarı ok, membrandaki AQP7 pozitif bölgeleri; gri ok, hücre içi lipit damlacıklarını işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 75  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).



**Çizim 4.68.** Farklılaşma grubu 7. Gün P8 AQP7 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP7 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 75  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

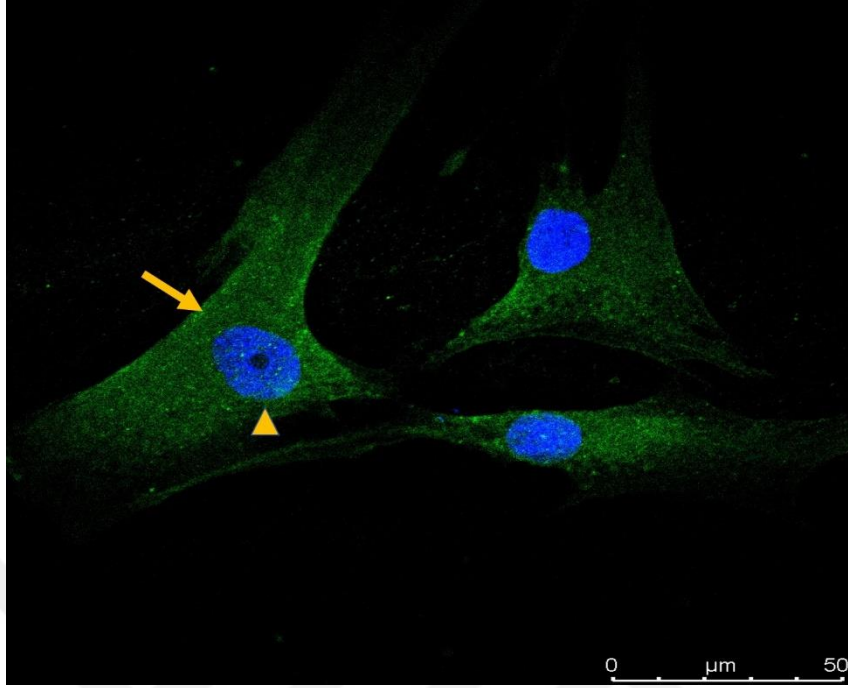


**Çizim 4.69.** Farklılaşma grubu 14. Gün P3 AQP7 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; sarı ok, membrandaki AQP7 pozitif bölgeleri; gri ok, hücre içi lipit damlacıklarını işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

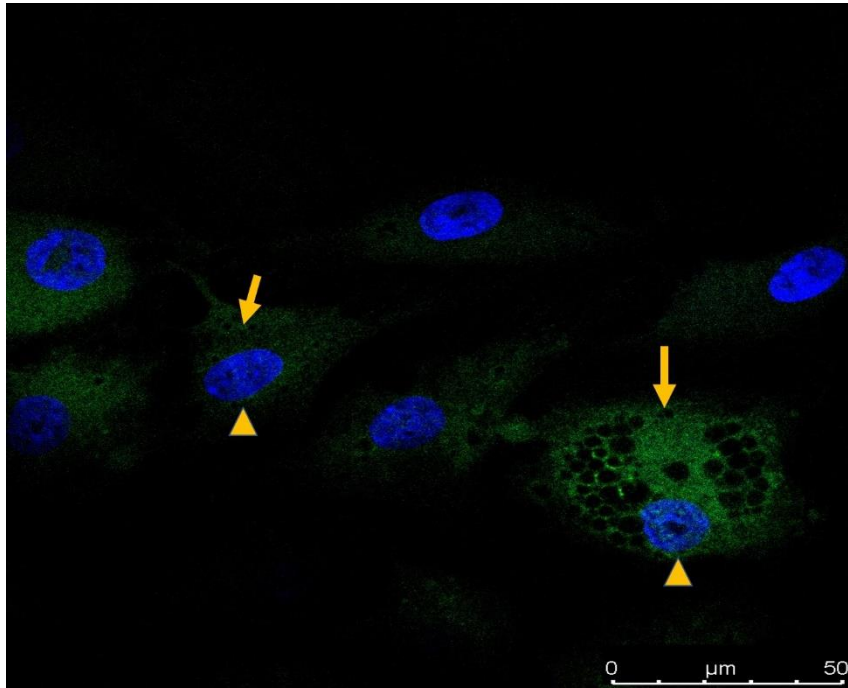


**Çizim 4.70.** Farklılaşma grubu 14. Gün P8 AQP7 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; sarı ok, membrandaki AQP7 pozitif bölgeleri; gri ok, hücre içi lipit damlacıklarını işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

Farklılaşma grubu AQP9 fotomikrografları;

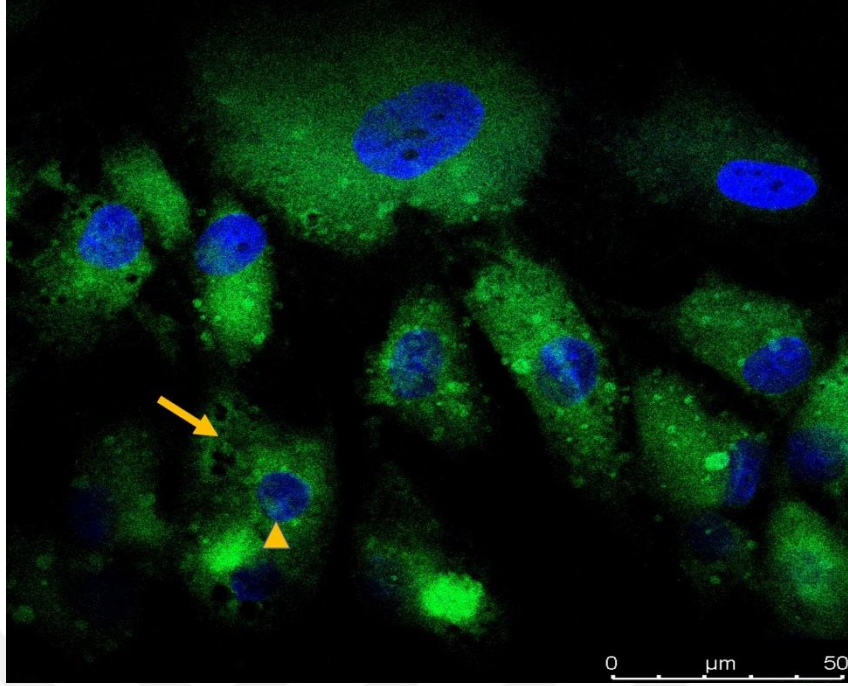


**Çizim 4.71.** Farklılaşma grubu 7. Gün P8 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP9 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

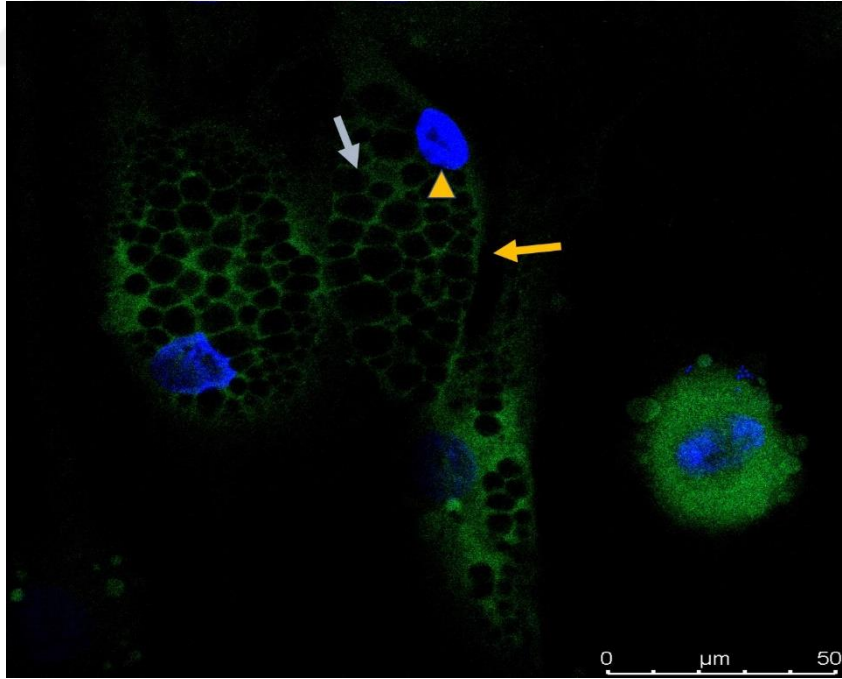


**Çizim 4.72.** Farklılaşma grubu 7. Gün P3 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP9 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

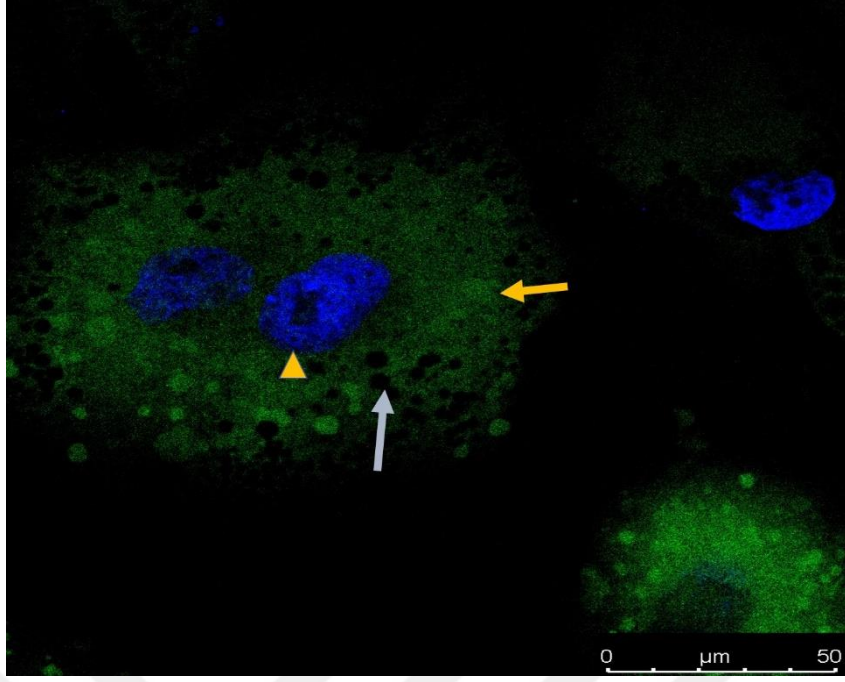




**Çizim 4.73.** Farklılaşma grubu 7. Gün P8 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP9 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu$ m, 400X Büyütme).

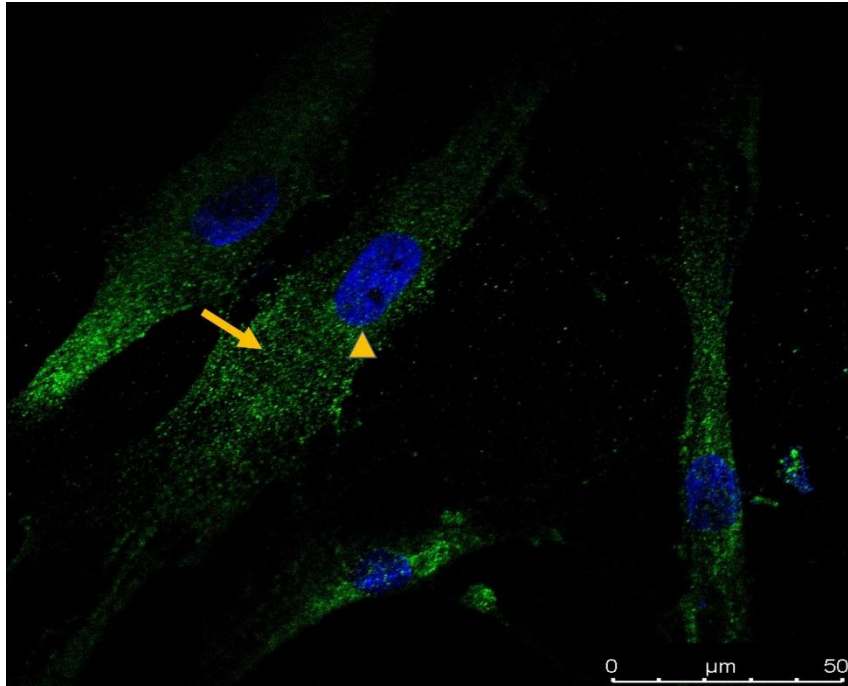


**Çizim 4.74.** Farklılaşma grubu 14. Gün P3 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; sarı ok, membrandaki AQP9 pozitif bölgeleri; gri ok, hücre içi lipit damlacıklarını işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu$ m, 400X Büyütme).

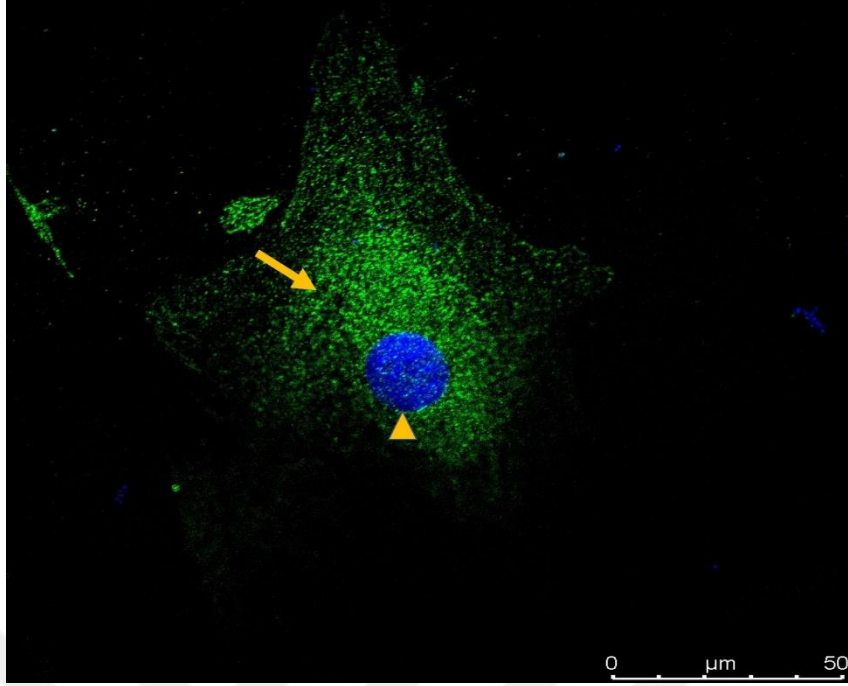


**Çizim 4.75.** Farklılaşma grubu 14. Gün P8 AQP9 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; sarı ok, membrandaki AQP9 pozitif bölgeleri; gri ok, hücre içi lipit damlacıklarını işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

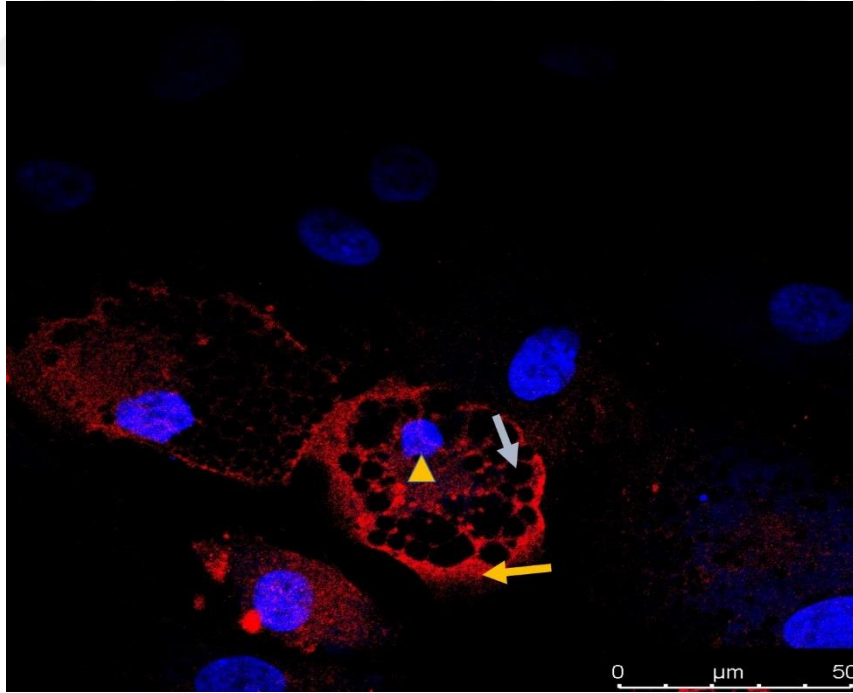
Farklılaşma grubu AQP10 fotomikrografları;



**Çizim 4.76.** Farklılaşma grubu 7. Gün P3 AQP10 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP10 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

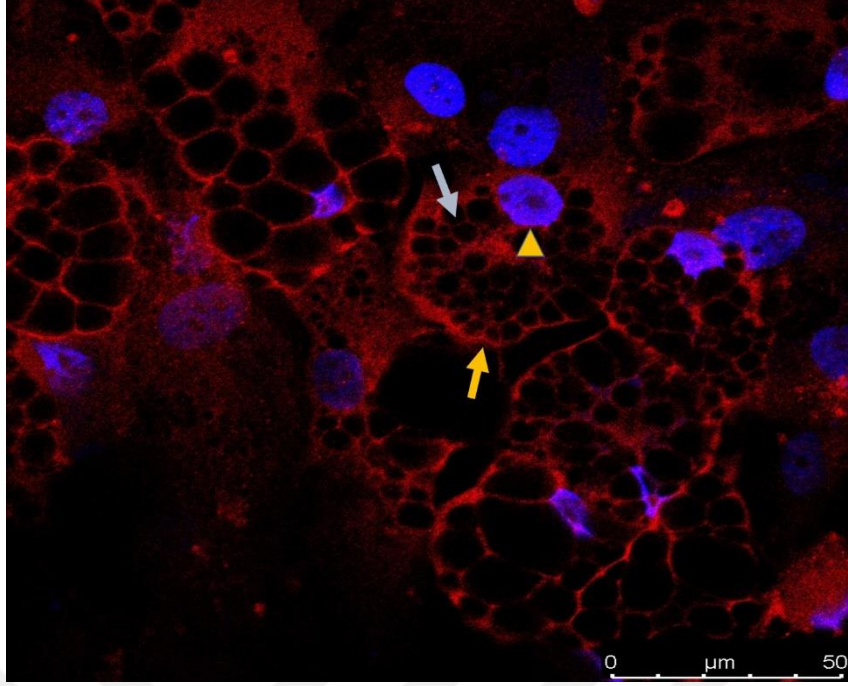


**Çizim 4.77.** Farklılaşma grubu 7. Gün P8 AQP10 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; ok, membrandaki AQP10 pozitif bölgeleri işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).



**Çizim 4.78.** Farklılaşma grubu 14. Gün P3 AQP10 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; sarı ok, membrandaki AQP10 pozitif bölgeleri; gri ok, hücre içi lipid damlacıklarını işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).





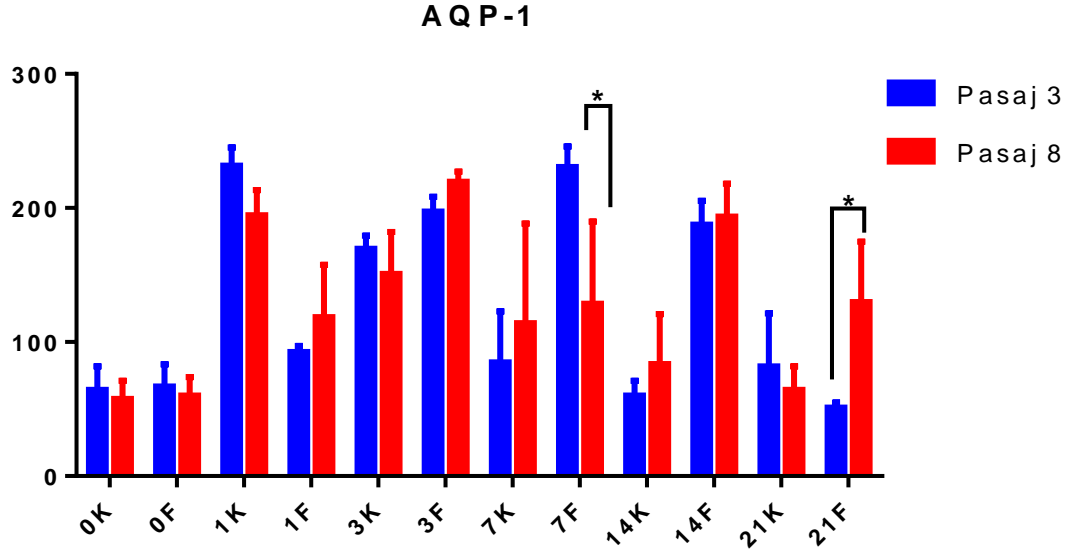
**Çizim 4.79.** Farklılaşma grubu 14. Gün P8 AQP10 immünfloresan boyamanın konfokal mikroskopik görüntüsü. Ok başı, DAPI ile boyanmış nükleusu; sarı ok, membrandaki AQP10 pozitif bölgeleri; gri ok, hücre içi lipid damlacıklarını işaret etmektedir (Ölçüm çubuğu: 50  $\mu\text{m}$ , 400X Büyütme).

### 4.6.3. Hücre Sayımı

#### AQP1 Değerlendirilmesi

İF boyamasında AQP1 boyanması skorlama ile değerlendirildiğinde elde edilen sonuçlara göre P3 ve P8’de kontrol ve farklılaşma gruplarında yükselme göstermektedir. Bir pik seviyesine ulaştıktan sonra düşmeye başlamaktadır.

Pasajlara göre AQP1 skoru P3 farklılaşma grubunda 7. Günde en yüksek değerine ulaşmıştır. İlerleyen günlerde hızlı bir düşüş göstermiştir. P8 farklılaşma grubunda AQP1 skoru, en yüksek 3. Günde görülmüştür. Farklılaşma grubunda 7 ve 21. Günde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmüştür (Çizim 4.80).



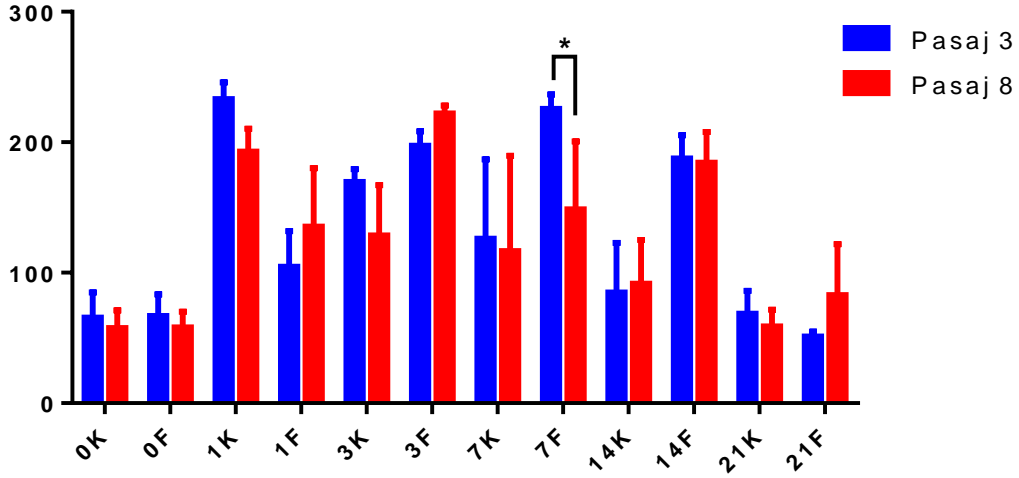
**Çizim 4.80.** AQP1 immünfloresan boyama hücre sayımı (skorlama) grafiği.  $P < 0.0005$  \* 7F ve 21F gruplarında için, Pasaj 3 ve Pasaj 8 arasında istatistiksel farklılık görülmüştür.

### AQP3 Değerlendirilmesi

İF boyamasında AQP3 boyanması skorlama ile değerlendirildiğinde elde edilen sonuçlara göre P3 ve P8’de kontrol ve farklılaşma gruplarında yükselme göstermektedir. Bir pik seviyesine ulaştıktan sonra düşmeye başlamaktadır.

P3 farklılaşma grubunda AQP3 skoru, 1. ve 3. Günlerde gittikçe yükselmiştir ve 7. Günde en yüksek değerine ulaşmıştır. P8 farklılaşma grubunda AQP3 skoru en yüksek 3. Günde görülmüştür. P3 ve P8 arasında farklılaşmanın 7. gününde (7F grubunda) istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür (Çizim 4.81).

### AQP-3

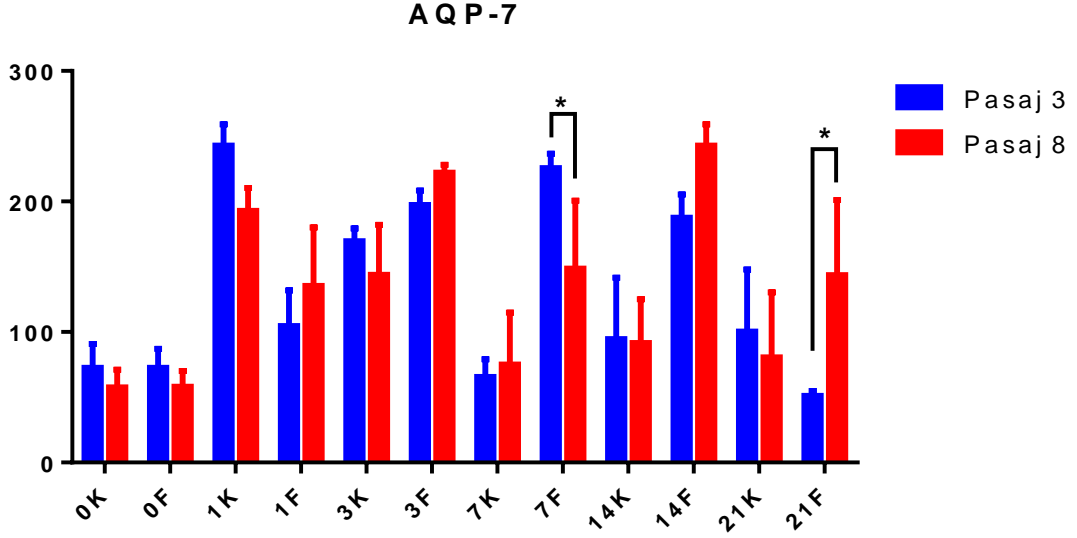


**Çizim 4.81.** AQP3 immünfloresan boyama hücre sayımı (skorlama) grafiği.  $P < 0.0005$  \* 7F grubunda Pasaj 3 ve Pasaj 8 arasında istatistiksel farklılık görülmüştür

### AQP7 Değerlendirilmesi

İF boyamasında AQP7 boyanması skorlama ile değerlendirildiğinde elde edilen sonuçlara göre P3 ve P8'de kontrol ve farklılaşma gruplarında yükselme göstermektedir. Bir pik seviyesine ulaştıktan sonra düşmeye başlamaktadır.

P3 farklılaşma grubunda AQP7 skoru, P3 farklılaşma grubunda 1. ve 3. günlerde gittikçe yükselmiştir ve 7. günde en yüksek değerine ulaşmıştır. P8 farklılaşma grubunda AQP7 skoru, 14. günde en yüksek görülmüştür. P3 ve P8 arasında 7F ve 21F gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmüştür (Çizim 4.82).

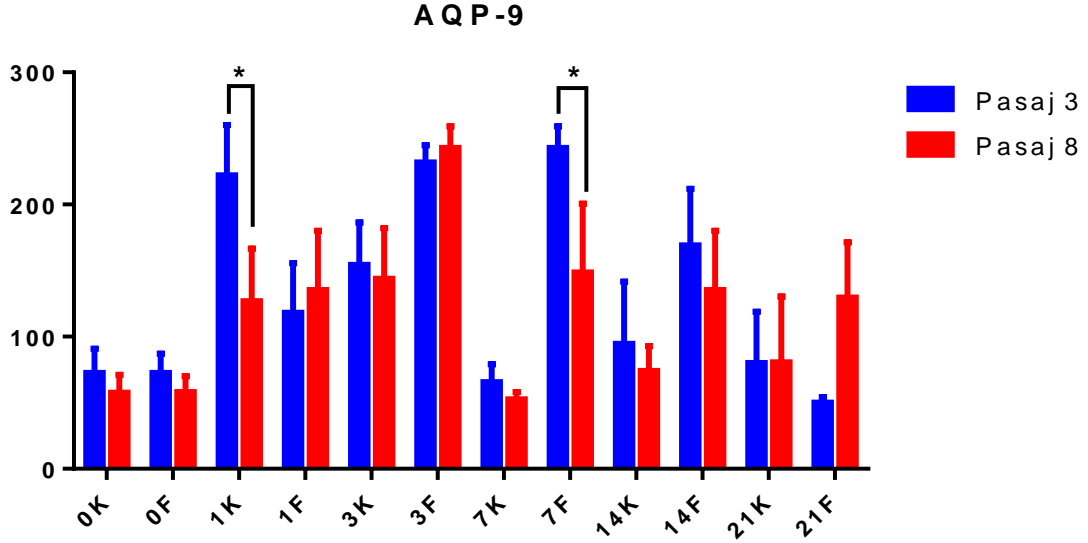


**Çizim 4.82.** AQP7 immünfloresan boyama hücre sayımı (skorlama) grafiği.  $P < 0.0005$  \* 7F ve 21F gruplarında Pasaj 3 ve Pasaj 8 arasında istatistiksel farklılık görülmüştür.

### AQP9 Değerlendirilmesi

İF boyamasında AQP9 boyanması skorlama ile değerlendirildiğinde elde edilen sonuçlara göre P3 ve P8'de kontrol ve farklılaşma gruplarında yükselme göstermektedir. Bir pik seviyesine ulaştıktan sonra düşmeye başlamaktadır.

P3 farklılaşma grubunda AQP9 skoru, P3 farklılaşma grubunda 1. ve 3. Günlerde gittikçe yükselmiştir ve 7. Günde en yüksek değerine ulaşmıştır. P8 farklılaşma grubunda AQP9 skoru, 7. günde en yüksek görülmüştür. P3 ve P8 arasında 7F grubunda ve 1K grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmüştür (Çizim 4.83).

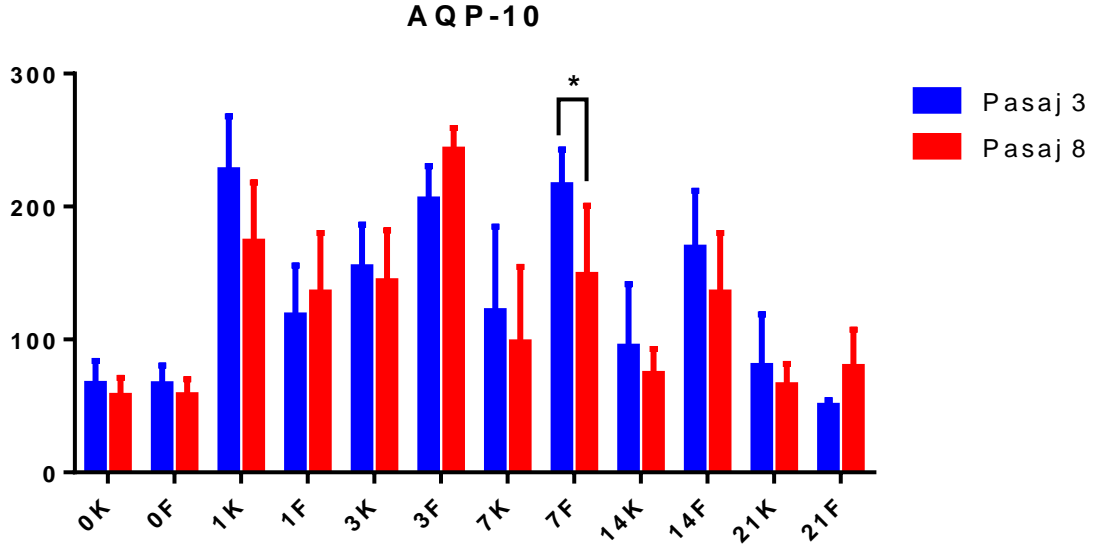


**Çizim 4.83.** AQP9 immünfloresan boyama hücre sayımı (skorlama) grafiği.  $P < 0.0005$  ++ 1K ve 7F gruplarında Pasaj 3 ve Pasaj 8 arasında istatistiksel farklılık görülmüştür.

#### **AQP10 Değerlendirilmesi**

İF boyamasında AQP10 boyanması H-skor ile değerlendirildiğinde elde edilen sonuçlara göre P3 ve P8'de kontrol ve farklılaşma gruplarında yükselme göstermektedir. Bir pik seviyesine ulaştıktan sonra düşmeye başlamaktadır.

P3 farklılaşma grubunda AQP10 skoru, P3 farklılaşma grubunda 1. ve 3. Günlerde gittikçe yükselmiştir ve 7. Günde en yüksek değerine ulaşmıştır. P8 farklılaşma grubunda AQP10 skoru, 3. Günde en yüksek görülmüştür. Gruplar kendi içlerinde karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur (Çizim 4.84).



**Çizim 4.84.** AQP10 immünfloresan boyama hücre sayısı (skorlama) grafiği.  $P < 0.0005$  \* 7F grubunda, Pasaj 3 ve Pasaj 8 arasında istatistiksel farklılık görülmüştür.

#### 4. TARTIŞMA

Çalışmamız, kök hücrelerin yaşlanmasının, farklılaşmasının ve AQP profilinin değerlendirildiği ilk geniş kapsamlı çalışmadır. Çalışmamızda Kİ-MKH'lerin yüzey belirteçlerine ve AQP'lerine bakılmıştır. Bunlara ek olarak, farklılaşma protokolü kullanılmış ve adipojenik farklılaşma oluşturulmuştur. Amacımız doğrultusunda, Kİ-MKH'lerin farklı AQP izoformlarını eksprese eden adiposit hücrelerine farklılaşp farklılaşmadıkları araştırılmıştır ve in vitro insan adiposit hücresinde oluşan AQP profil değişiklikleri değerlendirilmiştir. Aynı zamanda bu değişikliklerin ilerleyen pasajla yaşlanan hücrelerin ve değişen hücre fonksiyonlarının AQP'lerle ilişkisi ve adipositlere farklılaşırken değişen AQP miktarları incelenmiştir.

Çalışmamızda, Kİ-MKH'leri kullanılmıştır ve flow sitometri ile karakterizasyonunda CD105, CD73, CD90, CD44, CD13, CD166, CD29 belirteçleri pozitif bulunurken CD45, CD15, CD5, CD7, CD14, CD34 belirteçleri negatif bulunarak hücrenin mezenkimal kök hücre olduğunu gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada hücre karakterizasyonu için Uluslararası Hücresel Tedavi Topluluğu (ISCT) (Dominici ve diğ. 2006), Avrupa Tıp Ajansı (EMA) (Herberts ve diğ. 2011) ve Gıda ve İlaç Yönetimi (FDA) (Bailey 2012) tarafından önerilen; morfoloji, plastiğe yapışabilmesi, proliferatif kapasitesi, immünofenotipi, yaşlanma durumu, karyotip stabilitesi, gen ve miRNA ekspresyon profili değerlendirilmiştir (Kundrotas ve diğ. 2016).

Kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler en çok tercih edilen kök hücrelerdendir. Bazı çalışmalar dental pulpa kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin de kolay kullanılabilirliği, uzun süreler saklanabiliyor olması, çıkarılmasında etik sorunların bulunmaması, kolay erişilebilirliği ve multipotensisinden dolayı değerli bir seçenek haline geldiğini vurgulamaktadır (Cordeiro ve diğ 2008, G. T. Huang ve diğ., 2006, G. T. Huang 2009, Ohazamave diğ. 2004, Saber 2009, Woods ve diğ. 2009). Ancak yapılan birçok çalışmada da kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinin daha etkili olduğu ve tercih edilebilir olduğu söylenmektedir (Gonzaga ve diğ. 2017, Kim ve Park 2017).

Bulgularımız öncelikli olarak kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin morfolojik farklılaşma kapasitesini koruduğunu göstermiştir ve doğrulamıştır. Adipojenik farklılaşma için literatüre göre protokol hazırlanmıştır ve uygulanmıştır (Karaöz ve diğ. 2010). Kİ-MKH'lerin farklılaşma kapasitelerinde, farklı hücre pasajlarının kullanılmasının, protein veya gen ekspresyonları seviyesinde tespit edilen farklılıklar olup olmadığı

araştırılmıştır. Terminal farklılaşma işlemlerinin, hücreye özgü transkripsiyon faktörlerini ve çok çeşitli hücreyel kinazları, büyüme faktörlerini ve reseptörleri içeren kompleks bir etkileşimle düzenlendiği bilinmektedir. AQP'lerin de hücre farklılaşması sırasında değişmesinin farklılaşma mekanizmasına katkılarının olduğunu düşündürmüştür (Graziano ve diğ. 2018).

Bununla birlikte, adipojenik indüksiyon ve farklılaşma sonrası Kİ-MKH'ler gen ekspresyonu analizi ile doğrulanmıştır. AQP'ler için immünohistokimyasal boyama yapılmıştır. Her durumda, Kİ-MKH'lerin in vitro farklılaşması hakkında çok sayıda çalışma olmasına rağmen, morfoloji ve gen ekspresyonu değişikliklerinin AQP ekspresyonundaki modifikasyonlarla ilişkili olup olmadığını gösteren çalışma azdır. Bir çalışmada yağ dokusu kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin nöral farklılaşması değerlendirilmiş ve nöral farklılaşma sırasında ne tür AQP'lerin ifade edildiğini bilmek için zamana göre AQP1, 4, 7, 8 ve 9 değerleri incelenerek sistematik bir çalışma yapılmıştır (Avola ve diğ. 2017).

Lipid damlacık proteini ADFP ile ilgili yapılan çalışmalarda, lipitleri yüksek afinite ile bağladığı (Atshaves ve diğ. 2001, Frolov ve diğ. 2000, McIntosh ve diğ. 2012, 2010, Serrero ve diğ. 2000) ve lipit damlacık oluşumunda, trigliserid birikiminde (Fukushima ve diğ. 2005, Larigauderie ve diğ. 2006, Listenberger ve diğ. 2007, McIntosh ve diğ. 2012) , yağ asidi alımında ve lipoprotein düzenlemesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Atshaves ve diğ. 2000, Chang ve diğ. 2010, Frolov ve diğ. 2000, Gao ve Serrero 1999, Magné ve diğl. 2013). Bu bulgulara rağmen, bu süreçleri kolaylaştıran ADFP-lipid etkileşimlerinin yapısal ve fonksiyonel gereksinimleri hakkında çok az şey bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada ADFP, ligand bağlanması ve lipit damlacık hedeflemesi için gerekli yapısal ve fonksiyonel özellikler vurgulanmıştır (Najt ve diğ. 2014). Bizim çalışmamızda da adipojenik farklılaşmayı doğrulamak için zamana göre ADFP gen ekspresyonu analizi yapılmıştır. P3 farklılaşma grubu 21. Günde en yüksek seviyesi ölçülmüştür. P8 farklılaşma grubu 21. Günde yüksek bulunmaması, diğer grafikler göz önüne alındığında P8'deki yükselmelerin muhtemelen yaşlanmaya bağlı P3'e göre gecikmeli olduğu ve ilerleyen günlerde yükselebileceğini ancak deney 21. Günde sonlandığı için bu yüksekliğin görülemediğini düşündürmüştür. Ayrıca zamana göre AQP'lerin görünüşlerini belirlemek için, 0. Gün, 7. Gün ve 14. Günde AQP1, AQP3, AQP7, AQP9 ve AQP 10 antikoları ile immünfloresan boyama yapılmıştır. 14. Gün ve 21. Gün boyamalarında adiposit içi lipit damlacıkları immünfloresan görüntüleme de dikkat çekmiştir. Bazı makalelerde ve kitaplarda lipit damlacıklarının etrafında membran olmadığı söylense de bazı makaleler



damlacıkların etrafında tek tabakalı ve kendi proteinlerini içeren fosfolipit bir membrandan söz etmektedir (Cheung ve diğ. 2016, Cohen 2018, Lee ve diğ. 2013, McIntosh ve diğ. 2010). Bizim fotomikrograflarımızda da lipit damlacıklarının etrafında da pozitif ışımaya görülmüştür ve bu bize lipit damlacıklarının etrafında membran olabileceğini ve onun da kendine ait AQP proteinleri olabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda AQP protein ekspresyonları hem farklılaşma grubunda hem kontrol grubunda önce artmış sonra azalmıştır. Kondrojenik farklılaşma ile ilgili yapılan bir çalışmada AQP1 ve AQP3 protein ekspresyonları bizim çalışmamıza benzer şekilde güne göre değerlendirilmiştir. AQP1 bizim bulgularımıza benzer şekilde önce yükselip sonra düşerken, AQP3 seviyeleri günler ilerledikçe artmıştır ve 28. Günde en yüksek seviyesine ulaşmıştır (Graziano ve diğ. 2018). Bizim çalışmamızda ise AQP1 ve AQP3 farklılaşma grubunda P3'te 7. Gün en yüksek seviyesinde ölçülürken P8'de 3. Günde ölçülmüştür.

AQP1 bir su kanalı proteindir ve sadece suyun geçişine izin vermektedir. Retinada transepitelyal su hareketinde rol oynamaktadır (Stamer ve diğ. 2003). Farklılaşmamış insan embriyonik kök hücrelerinde, indüklenmiş pluripotent kök hücrelerde ve indüklenmiş pluripotent kök hücrelerden türemiş retinal pigment epiteli hücrelerinde AQP mRNA ekspresyonu (AQP1'den AQP12'ye kadar) kantitatif Real time PCR ile değerlendirilmiş, AQP1, AQP3, AQP4, AQP5, AQP6, AQP7, AQP10, AQP11, AQP12 bulunduğu; AQP2, AQP8, ve AQP9'un bulunmadığı gösterilmiştir (Juuti-Uusitalo ve diğ. 2013). Bizim çalışmamızda farklılaşma sonrası AQP10 gen ekspresyonu görülmezken; AQP9 gen ekspresyonu izlenmiştir. Çalışmamızda AQP1 protein konsantrasyonu P3 ve P8'de kontrol ve farklılaşma gruplarında yükselme göstermektedir. Bir pik seviyesine ulaştıktan sonra düşmeye başlamaktadır. Bu yükselme, mitotik aktivitenin yüksek olduğu günlerde gerçekleşmektedir. AQP1 fonksiyonel bir su kanalı olduğundan, hücre çoğalma hızının yüksek olduğu zamanlarda yüksek görülmüştür. Sonrasında çoğalmaya yer kalmadığı için AQP1 protein konsantrasyonlarını düşmeye başladığını düşündürmüştür. Ayrıca yapılan ölçümler AQP1 protein konsantrasyonu ile adipojenik farklılaşma arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Farklılaşma ile AQP1 protein konsantrasyonlarında değişiklikler olması AQP1'in adipojenik farklılaşma üzerinde etkisi olduğunu düşündürmüştür. AQP1 gen ekspresyonu ile protein ekspresyonu karşılaştırmalı değerlendirildiğinde 21. Günde düşen protein konsantrasyonlarının, AQP1 gen ekspresyonunu indüklediği görülmüştür. Sonuçlar incelendiğinde adipojenik farklılaşma ile AQP1 gen ekspresyonu arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Farklılaşma sonrası AQP1 gen ekspresyonundaki değişiklikler AQP1'in adipojenik farklılaşma üzerinde etkisi olduğunu düşündürmüştür.

AQP7 ve AQP10, aquaporin ailesine aittir ve fonksiyonel özelliklerine bağlı olarak, aquagliseroporinler alt grubuna dahildir (Madeira ve diğ. 2015). Sadece suya değil, aynı zamanda gliserol, üre ve diğer küçük çözünenlere de geçirgenlikleri bulunmaktadır. AQP7, gastrointestinal sistem, böbrek, iskelet kası, iç kulak ve erkek üreme sistemi gibi çeşitli dokularda bulunur, ancak yağ dokusu insanlarda ve kemirgenlerde AQP7 ekspresyonunun ana bölgesidir ve gliserol giriş çıkışını desteklediği rapor edilmiştir (Rojek ve diğ. 2008). Bizim çalışmamızda da AQP7'nin insan adiposit hücrelerindeki ekspresyonu ve lokalizasyonu gösterilmiştir. Ek olarak AQP7 ekspresyonu sadece adiposit hücrelerinde değil, farklılaşmaya alınmamış Kİ-MKH'lerde de tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada AQP7'nin, endotel hücresinin iyi bilinen bir göstergesi olan CD34 ile birlikte lokalizasyonu gösterilerek, AQP7'nin fare adipoz dokusunun plazma zarı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Skowronski ve diğ. 2007). AQP7 membran lokalizasyonu ile ilgili yapılan başka bir çalışmada, in-vitro kültürde farklılaşmış adipositlerde ekspresyonu ve lokalizasyonu doğrulanmıştır (Laforenza ve diğ. 2013). Yapılan lokalizasyon işaretlemeleri ile endotel hücresine ek olarak adiposit membranlarında bir AQP7 ekspresyonu görülmüştür. Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer bir şekilde farklılaşmış adiposit hücre membranlarında AQP7 protein ekspresyonu bulunmuştur. Adipoz doku ile ilgili yapılan çalışmada AQP10'un insan adiposit hücrelerinde eksprese edildiği ve yağ hücrelerinin plazma membranında lokalize olduğu gösterilmiştir. Deri altı yağ dokusundan izole edilmiş, kültürlenmiş ve farklılaştırılmış adipositlerde AQP10 mRNA ekspresyonu farklı miktarlarda olsa bile gösterilmiştir (Laforenza ve diğ. 2013). Ancak bizim çalışmamıza ait sonuçlarda AQP10 gen ekspresyonu görülmemiştir. Protein ekspresyonu ile karşılaştırmalı incelendiğinde 21. Günde düşen protein ekspresyonlarının AQP10 gen ekspresyonunu indüklediği görülmüştür. AQP 10 gen ekspresyonu değişikliklerinin yaşlanmaya bağlı olabileceğini düşündürmüştür. Çalışmamızda elde edilen sonuçlarda AQP7, AQP9 ve AQP10 protein konsantrasyonları ile adipojenik farklılaşma arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Farklılaşma ile AQP7, AQP9 ve AQP10 protein konsantrasyonlarında değişiklikler olması AQP7'nin adipojenik farklılaşma üzerinde etkisi olduğunu düşündürmüştür. Bizim çalışmamızda gen ekspresyonu ile protein ekspresyonu karşılaştırmalı değerlendirildiğinde 21. Günde düşen AQP7 ve AQP9 protein ekspresyonlarının AQP7 ve AQP9 gen ekspresyonlarını indüklediği görülmüştür. P8 farklılaşma grubunda 21. Günde AQP7 protein ekspresyonu, P3 21. Gündeki protein ekspresyonuna göre yüksek bulunmuştur ve korele olarak P3 21. Gün AQP7 gen ekspresyonu P8 21. Gün gen ekspresyonuna göre yüksek bulunmuştur. Hücrelerde AQP7 ve

AQP9 protein ekspresyonu düştüğünde AQP7 ve AQP9 gen ekspresyonu artmış olarak bulunmuştur.

AQP gen ekspresyonu analizlerinin yapıldığı çalışmalarda değişen AQP gen ekspresyonlarının hücrenin fonksiyonunu etkilediği ve değiştirdiği (Carpentier ve diğ. 2016, Chaube ve diğ. 2011), hastalıklara neden olabileceği veya ilaçlar için hedef nokta olabileceği söylenmiştir (Verkman 2009, Verkman ve diğ. 2014). Obezite, kanser gibi bulunduğumuz çağda dünya geneli için sorun oluşturan hastalıkların patogenezinin AQP ile ilişkisi araştırılmıştır (Calamita ve diğ. 2018, Huber ve diğ. 2012, Madeira ve diğ. 2015, Ribatti ve diğ. 2014, Rodríguez ve diğ. 2011)

Kemik iliği kaynaklı kök hücreler ile 2016 yılında yapılan çalışmada hücrelerin pasaj 3 ve P8' i yaşlanma açısından incelenmiş, 33 miRNA ve 13 genin değiştiği gözlemlenmiştir. Yapılan bu çalışma pasaj ilerlemesiyle hücrenin değiştiğini göstermesi açısından önemlidir (Kundrotas et al. 2016). Yaşlılığa bağlı cilt kuruluğu ile AQP arasındaki ilişkiye bakılan bir çalışmada yaşlılıkta AQP1, AQP3, AQP4, AQP7 ve AQP9 bizim sonuçlarımıza benzer şekilde düşük bulunmuştur (Ikarashi et al. 2017). Ancak kalp dokusu ve yaşlılık ile AQP1 ve AQP4 arasındaki ilişkinin incelendiği 2017' de yayınlanan çalışmada AQP1 ve AQP4'ün protein ekspresyonlarının yaşlılıkta arttığı görülmüştür (Bicakci et al. 2016).

Hücrelerdeki reaktif oksijen radikalleri fazlalığı ve nitrik oksit biyoyararlanımının azalması, büyük ölçüde metabolik bozuklukların, kardiyovasküler ve böbrek hastalıklarının, kırılabilirliğin ve yaşlanmanın gelişimi ile bağlantılı hücre fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır (Tamma ve diğ. 2018) . Farklılaşma, proliferasyon veya mobilite gibi çeşitli hücre fonksiyonlarının altında bulunan sinyal iletim yollarında AQP'lerin fonksiyonunun düzensizliği oksidatif strese ve sonunda hücre ölümüne neden olabilir (Tamma ve diğ. 2018). Bizim çalışmamızda yaşlanmaya bağlı oksidatif stresi değerlendirmek amacıyla SOD1 gen ekspresyonları incelenmiştir. Farklılaşma grubunda P3'te 21. Günde 4,27 kat arttığı, P8'de 21. Günde 3,71 kat arttığı bulunmuştur. Colla1 gen ekspresyonları değerlendirildiğinde de farklılaşma grubunda P3 21. Günde 5,6 kat artış görülürken, P8 21. Günde 6,17 kat artış izlenmiştir. Bulgularımız hücre yaşlanmasına bağlı oksidatif stresin arttığını ancak yaşlanmaya bağlı oksidatif strese yanıt oluşturma konusunda hücrelerin zorlandığını düşündürmüştür.

AQP'lerin vasküler, hepatik, testis veya böbrek fonksiyonunu modülasyonu, kardiyovasküler (vasküler sertlik / hipertansiyon, ateroskleroz), metabolik ve üreme

hastalıklarının (sperm hücre motilite bozukluğu) tedavisinde değerli olabilir. AQP'lerin, sağlığı geliştirmek ve yaşlanmayı iyileştirmek için yeni stratejiler geliştirmek amacıyla gıda fitokimyasal bileşiklerinin uyguladığı antioksidan ve antienflamatuar etkilere katılımını araştırmak için daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

AQP'ler kök hücre yaşlanma mekanizması ile ilgili yeni belirteçler olabilir. Potansiyel yeni belirteçler; kök hücrelerin yaşlanma mekanizmalarını daha iyi anlamak, temel bilime katkıda bulunmak, hücresel tedavi kalite kontrolünün geliştirilmesini kolaylaştırmak, hastalık süreçlerinde yeni bakış açıları sağlamak için yeni detaylar sunmaktadır.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

İleri pasaj mezenkimal kök hücrelerin AQP profili erken pasaj ile karşılaştırıldığında, anlamlı farklılıklar görülmüştür. P3 ve P8'deki hücreler farklılaştırıldığında oluşan hücrelerde değerlendirilen AQP profili farklı bulunmuştur. Hücre yaşlanmasının farklılaşma sürecinde değişikliklere neden olduğu, AQP'lerin hem yaşlanma sürecinde hem farklılaşma sürecinde etkilendiği/değiştiği görülmüştür. Yaşlanma ve farklılaşmadaki değişen AQP'lerin hücre fonksiyonları üzerine net etkilerinin anlaşılması için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Farklılaşma süreci çalışmamızda 21 gün gerçekleştirilmiştir. Sonuçlarımızda özellikle P8 farklılaşma grubunda yükselmesini beklediğimiz bazı değerler düşük ölçülmüştür. Yaşlanmaya bağlı hücre içi ürün ortaya çıkış süresinin uzayabileceği göz önüne alındığında, farklılaşma süresinin en az 28 güne tamamlanmasını önermekteyiz.

AQP'lerin, sağlığı geliştirmek ve yaşlanmayı iyileştirmek için yeni stratejiler geliştirmek amacıyla antioksidan ve antiinflamatuvar etkilere katılımını araştırmak için daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Hücre yaşlanma sürecine AQP'ler yeni belirteçler olabilir. Yaşlanma sürecine yeni potansiyel belirteçlerin bulunması, hücrelerin yaşlanma mekanizmalarını daha iyi anlayabilmek, bilime katkıda bulunabilmek, hücre tedavi kalite kontrolünün geliştirilmesini kolaylaştırabilmek, hastalık süreçlerinde yeni bakış açıları sağlayabilmek için yeni önemlidir.

AQP fonksiyonlarını daha detaylı değerlendirebilmek için gen susturma gibi moleküler teknikler ve in-vivo çalışmaların birlikte olduğu geniş çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Agre P, King LS, Yasui M, et al. Aquaporin water channels - from atomic structure to clinical medicine. *The Journal of Physiology*. 2002;542:3–16.
- Agre P, and Nielsen S. The aquaporin family of water channels in kidney. *Nephrologie*. 1996;17:409–15.
- Agre P, Sasaki S, and Chrispeels MJ. Aquaporins: a family of water channel proteins. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 1993;265:F461–F461.
- Aharon R, and Bar-Shavit Z. Involvement of aquaporin 9 in osteoclast differentiation. *The Journal of Biological Chemistry*. 2006;281:19305–9.
- Alison M, and Islam S. Attributes of adult stem cells. *The Journal of Pathology*. 2009;217:144–60.
- de Almeida FM, Marques SA, Ramalho B dos S, et al. Human Dental Pulp Cells: A New Source of Cell Therapy in a Mouse Model of Compressive Spinal Cord Injury. *Journal of Neurotrauma*. 2011;28:1939–49.
- Altman E, Yango P, Moustafa R, et al. Characterization of human spermatogonial stem cell markers in fetal, pediatric, and adult testicular tissues. *Reproduction (Cambridge, England)*. 2014;148:417–27.
- Anjos-Afonso F, Siapati EK, and Bonnet D. In vivo contribution of murine mesenchymal stem cells into multiple cell-types under minimal damage conditions. *Journal of Cell Science*. 2004;117:5655–64.
- in 't Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, et al. Isolation of Mesenchymal Stem Cells of Fetal or Maternal Origin from Human Placenta. *Stem Cells*. 2004;22:1338–45.
- Assady S, Maor G, Amit M, et al. Insulin production by human embryonic stem cells. *Diabetes*. 2001;50:1691–7.
- Atshaves BP, Starodub O, McIntosh A, et al. Sterol Carrier Protein-2 Alters High Density Lipoprotein-mediated Cholesterol Efflux. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275:36852–61.
- Atshaves BP, Storey SM, McIntosh AL, et al. Sterol Carrier Protein-2 Expression Modulates Protein and Lipid Composition of Lipid Droplets. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276:25324–35.
- Augello A, Kurth TB, and De Bari C. Mesenchymal stem cells: a perspective from in vitro cultures to in vivo migration and niches. *European Cells & Materials*. 2010;20:121–33.
- Avola R, Graziano ACE, Pannuzzo G, et al. Human Mesenchymal Stem Cells from Adipose Tissue Differentiated into Neuronal or Glial Phenotype Express Different Aquaporins. *Molecular Neurobiology*. 2017;54:8308–20.
- Badaut J, Fukuda AM, Jullienne A, et al. Aquaporin and brain diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2014;1840:1554–65.
- Baharvand H, and Aghdami N. Stem cell nanoengineering. n.d.
- Bai L, Lennon DP, Eaton V, et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells

- induce Th2-polarized immune response and promote endogenous repair in animal models of multiple sclerosis. *Glia*. 2009;57:1192–203.
- Baikow A. No Title. *Centralbl F D Med Wiss*. 1870;8:371–173.
- Bailey AM. Balancing Tissue and Tumor Formation in Regenerative Medicine. *Science Translational Medicine*. 2012;4:147fs28-147fs28.
- Ballas CB, Zielske SP, and Gerson SL. Adult bone marrow stem cells for cell and gene therapies: implications for greater use. *Journal of Cellular Biochemistry Supplement*. 2002;38:20–8.
- BECKER AJ, McCULLOCH EA, and TILL JE. Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. *Nature*. 1963;197:452–4.
- Beitz E, Wu B, Holm LM, et al. Point mutations in the aromatic/arginine region in aquaporin 1 allow passage of urea, glycerol, ammonia, and protons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103:269–74.
- Beththausen J, Forsberg E, Augenstein M, et al. Production of cloned pigs from in vitro systems. *Nature Biotechnology*. 2000;18:1055–9.
- Bicakci H, Sarsilmaz M, Ocaklı S, et al. Investigation of the effects of aging on the expression of aquaporin 1 and aquaporin 4 protein in heart tissue. *The Anatolian Journal of Cardiology*. 2016;17:18–23.
- Biondi PA, Pace M, Brenna O, et al. Coupling of enzymes to polyacrylonitrile. *European Journal of Biochemistry*. 1976;61:171–4.
- Brasaemle DL, Barber T, Wolins NE, et al. Adipose differentiation-related protein is an ubiquitously expressed lipid storage droplet-associated protein. *Journal of Lipid Research*. 1997;38:2249–63.
- Brivanlou AH, Gage FH, Jaenisch R, et al. STEM CELLS: Enhanced: Setting Standards for Human Embryonic Stem Cells. *Science*. 2003;300:913–6.
- Calamita G, Bishai WR, Preston GM, et al. Molecular cloning and characterization of AqpZ, a water channel from *Escherichia coli*. *The Journal of Biological Chemistry*. 1995;270:29063–6.
- Calamita G, Perret J, and Delporte C. Aquaglyceroporins: Drug targets for metabolic diseases? *Frontiers in Physiology*. 2018;9:1–15.
- Campisi J. Senescent Cells, Tumor Suppression, and Organismal Aging: Good Citizens, Bad Neighbors. *Cell*. 2005;120:513–22.
- Can A. A Concise Review on the Classification and Nomenclature of Stem Cells. *Turkish Journal of Haematology : Official Journal of Turkish Society of Haematology*. 2008;25:57–9.
- CAN A. KÖK HÜCRE. ANKARA: AKADEMİSYEN TIP KİTABEVI; 2014.
- Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *Journal of Cellular Physiology*. 2007;213:341–7.
- Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *Journal of Orthopaedic Research*. 1991;9:641–50.

- Caplan AI, and Bruder SP. Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century. *Trends in Molecular Medicine*. 2001;7:259–64.
- Carbrey JM, Gorelick-Feldman DA, Kozono D, et al. Aquaglyceroporin AQP9: solute permeation and metabolic control of expression in liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003;100:2945–50.
- Carpentier GA, Garneau AP, Marcoux A-A, et al. Identification of key residues involved in Si transport by the aquaglyceroporins. *The Journal of General Physiology*. 2016;148:239–51.
- Castro E, Edland SD, Lee L, et al. Polymorphisms at the Werner locus: II. 1074Leu/Phe, 1367Cys/Arg, longevity, and atherosclerosis. *American Journal of Medical Genetics*. 2000;95:374–80.
- Chamberlain G, Fox J, Ashton B, et al. Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: Their Phenotype, Differentiation Capacity, Immunological Features, and Potential for Homing. *Stem Cells*. 2007;25:2739–49.
- Chang BH-J, Li L, Saha P, et al. Absence of adipose differentiation related protein upregulates hepatic VLDL secretion, relieves hepatosteatosis, and improves whole body insulin resistance in leptin-deficient mice. *Journal of Lipid Research*. 2010;51:2132–42.
- Chaube R, Chauvigné F, Tingaud-Sequeira A, et al. Molecular and functional characterization of catfish (*Heteropneustes fossilis*) aquaporin-1b: Changes in expression during ovarian development and hormone-induced follicular maturation. *General and Comparative Endocrinology*. 2011;170:162–71.
- Chen J, Li Y, Wang L, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Stroke*. 2001;32:1005–11.
- Cheung W, Gaunt E, Lever A, et al. Rotavirus Replication: The Role of Lipid Droplets. *Viral Gastroenteritis Mol. Epidemiol. Pathog.*, Academic Press; 2016, p. 175–87.
- Choi K. Hemangioblast development and regulation. *Biochemistry and Cell Biology = Biochimie et Biologie Cellulaire*. 1998;76:947–56.
- Christensen BC, Houseman EA, Marsit CJ, et al. Aging and Environmental Exposures Alter Tissue-Specific DNA Methylation Dependent upon CpG Island Context. *PLoS Genetics*. 2009;5:e1000602.
- Chun SY, Lim GJ, Kwon TG, et al. Identification and characterization of bioactive factors in bladder submucosa matrix. *Biomaterials*. 2007;28:4251–6.
- Cohen S. Lipid Droplets as Organelles. *International Review of Cell and Molecular Biology*. 2018;337:83–110.
- Conte M, Franceschi C, Sandri M, et al. Perilipin 2 and Age-Related Metabolic Diseases: A New Perspective. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*. 2016;27:893–903.
- Cooper GJ, and Boron WF. Effect of PCMBs on CO<sub>2</sub> permeability of *Xenopus* oocytes expressing aquaporin 1 or its C189S mutant. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 1998;275:C1481–6.
- Cordeiro MM, Dong Z, Kaneko T, et al. Dental Pulp Tissue Engineering with Stem Cells from Exfoliated Deciduous Teeth. *Journal of Endodontics*. 2008;34:962–9.



- Crisan M, Casteilla L, Lehr L, et al. A Reservoir of Brown Adipocyte Progenitors in Human Skeletal Muscle. *Stem Cells*. 2008;26:2425–33.
- d'Aquino R, De Rosa A, Laino G, et al. Human dental pulp stem cells: from biology to clinical applications. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*. 2009;312B:408–15.
- Day RE, Kitchen P, Owen DS, et al. Human aquaporins: Regulators of transcellular water flow. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2014;1840:1492–506.
- Denker BM, Smith BL, Kuhajda FP, et al. Identification, purification, and partial characterization of a novel Mr 28,000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules. *The Journal of Biological Chemistry*. 1988;263:15634–42.
- Devine SM. Mesenchymal stem cells: Will they have a role in the clinic? *Journal of Cellular Biochemistry*. 2002;85:73–9.
- Devuyt O, Nielsen S, Cosyns JP, et al. Aquaporin-1 and endothelial nitric oxide synthase expression in capillary endothelia of human peritoneum. *The American Journal of Physiology*. 1998;275:H234–42.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8:315–7.
- Donehower LA. p53: guardian AND suppressor of longevity? *Experimental Gerontology*. 2005;40:7–9.
- Duan X, Chang JH, Ge S, et al. Disrupted-In-Schizophrenia 1 Regulates Integration of Newly Generated Neurons in the Adult Brain. *Cell*. 2007;130:1146–58.
- Endo M, Jain RK, Witwer B, et al. Water Channel (Aquaporin 1) Expression and Distribution in Mammary Carcinomas and Glioblastomas. *Microvascular Research*. 1999;58:89–98.
- Eriksson UK, Fischer G, Friemann R, et al. Subangstrom resolution X-ray structure details aquaporin-water interactions. *Science (New York, NY)*. 2013;340:1346–9.
- Evans MJ, and Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*. 1981;292:154–6.
- Flach C-F, Qadri F, Bhuiyan TR, et al. Differential expression of intestinal membrane transporters in cholera patients. *FEBS Letters*. 2007;581:3183–8.
- Flachsbart F, Caliebe A, Kleindorp R, et al. Association of *FOXO3A* variation with human longevity confirmed in German centenarians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106:2700–5.
- Fortier LA. Stem cells: Classifications, controversies, and clinical applications. *Veterinary Surgery*. 2005;34:415–23.
- Frolov A, Petrescu A, Atshaves BP, et al. High Density Lipoprotein-mediated Cholesterol Uptake and Targeting to Lipid Droplets in Intact L-cell Fibroblasts. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275:12769–80.
- Fu D, Libson A, Miercke LJ, et al. Structure of a glycerol-conducting channel and the basis for its selectivity. *Science (New York, NY)*. 2000;290:481–6.

- Fukushima M, Enjoji M, Kohjima M, et al. Adipose differentiation related protein induces lipid accumulation and lipid droplet formation in hepatic stellate cells. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal*. 2005;41:321–4.
- Furat Rencher S, Kurnaz Ozbek S, Eraldemir C, et al. Effect of resveratrol and metformin on ovarian reserve and ultrastructure in PCOS: an experimental study. *Journal of Ovarian Research*. 2018;11:55.
- Gambino YP, Maymó JL, Pérez-Pérez A, et al. 17Beta-estradiol enhances leptin expression in human placental cells through genomic and nongenomic actions. *Biology of Reproduction*. 2010;83:42–51.
- Gao J, and Serrero G. Adipose Differentiation Related Protein (ADRP) Expressed in Transfected COS-7 Cells Selectively Stimulates Long Chain Fatty Acid Uptake. *Journal of Biological Chemistry*. 1999;274:16825–30.
- Gerbeau P, Amodeo G, Henzler T, et al. The water permeability of Arabidopsis plasma membrane is regulated by divalent cations and pH. *The Plant Journal : For Cell and Molecular Biology*. 2002;30:71–81.
- Gonzaga VF, Wenceslau CV, Lisboa GS, et al. Mesenchymal Stem Cell Benefits Observed in Bone Marrow Failure and Acquired Aplastic Anemia. *Stem Cells International*. 2017;2017:8076529.
- Gorin MB, Yancey SB, Cline J, et al. The major intrinsic protein (MIP) of the bovine lens fiber membrane: characterization and structure based on cDNA cloning. *Cell*. 1984;39:49–59.
- Goujon. Sur les Propriétés Physiologiques de la Moelle des Os Sur les Propriétés Physiologiques de la Moelle des Os. *J de l'Anatomie et de La Physiologie Normales et Pathologiques de l'Homme et Des Animaux*. 1869;6:399.
- Graziano ACE, Avola R, Pannuzzo G, et al. Aquaporin1 and 3 modification as a result of chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cell. *Journal of Cellular Physiology*. 2018;233:2279–91.
- de Groot BL, Frigato T, Helms V, et al. The mechanism of proton exclusion in the aquaporin-1 water channel. *Journal of Molecular Biology*. 2003;333:279–93.
- Gunnarson E, Zelenina M, and Aperia A. Regulation of brain aquaporins. *Neuroscience*. 2004;129:945–53.
- Gupta AB, Verma RK, Agarwal V, et al. MIPModDB: a central resource for the superfamily of major intrinsic proteins. *Nucleic Acids Research*. 2012;40:D362-9.
- Guzel E, Basar M, Ocak N, et al. Bidirectional Interaction Between Unfolded-Protein-Response Key Protein HSPA5 and Estrogen Signaling in Human Endometrium1. *Biology of Reproduction*. 2011;85:121–7.
- Han HS, Kim KB, Jung JH, et al. Anti-apoptotic, antioxidant and anti-aging effects of 6-shogaol on human dermal fibroblasts. *Biomedical Dermatology*. 2018;2:27.
- Hara-Chikuma M, Sohara E, Rai T, et al. Progressive adipocyte hypertrophy in aquaporin-7-deficient mice: adipocyte glycerol permeability as a novel regulator of fat accumulation. *The Journal of Biological Chemistry*. 2005;280:15493–6.
- Harel, and Harel. Cryopreservation and Cell Banking for Autologous Mesenchymal Stem

- Cell-Based Therapies. *Cell & Tissue Transplantation & Therapy*. 2013;1.
- Hasetine W. A brave new medicine. A conversation with William Hasetine.. Interview by Joe Flower. *Health Forum Journal*. n.d.;42:28–30, 61–5.
- Hatakeyama S, Yoshida Y, Tani T, et al. Cloning of a New Aquaporin (AQP10) Abundantly Expressed in Duodenum and Jejunum. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2001;287:814–9.
- Hattori H, Ishihara M, Fukuda T, et al. Establishment of a novel method for enriching osteoblast progenitors from adipose tissues using a difference in cell adhesive properties. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2006;343:1118–23.
- Van Heemst D, Beekman M, Mooijaart SP, et al. Reduced insulin/IGF-1 signalling and human longevity. *Aging Cell*. 2005;4:79–85.
- Herberts CA, Kwa MSG, and Hermsen HPH. Risk factors in the development of stem cell therapy. *Journal of Translational Medicine*. 2011;9:29.
- Herrera M, and Garvin JL. Novel role of AQP-1 in NO-dependent vasorelaxation. *American Journal of Physiology Renal Physiology*. 2007;292:F1443-51.
- Horsefield R, Norden K, Fellert M, et al. High-resolution x-ray structure of human aquaporin 5. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105:13327–32.
- Horwitz EM, Gordon PL, Koo WKK, et al. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: Implications for cell therapy of bone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99:8932–7.
- Huang GT-J, Sonoyama W, Chen J, et al. In vitro characterization of human dental pulp cells: various isolation methods and culturing environments. *Cell and Tissue Research*. 2006;324:225–36.
- Huang GT. Pulp and dentin tissue engineering and regeneration: current progress. *Regenerative Medicine*. 2009;4:697–707.
- Huber VJ, Tsujita M, and Nakada T. Aquaporins in drug discovery and pharmacotherapy. *Molecular Aspects of Medicine*. 2012;33:691–703.
- Huebert RC, Jagavelu K, Hendrickson HI, et al. Aquaporin-1 Promotes Angiogenesis, Fibrosis, and Portal Hypertension Through Mechanisms Dependent on Osmotically Sensitive MicroRNAs. *The American Journal of Pathology*. 2011;179:1851–60.
- Hwang C-S, Loftus TM, Mandrup S, et al. ADIPOCYTE DIFFERENTIATION AND LEPTIN EXPRESSION. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 1997;13:231–59.
- Ianus A, Holz GG, Theise ND, et al. In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *Journal of Clinical Investigation*. 2003;111:843–50.
- Ikarashi N, Kon R, Kaneko M, et al. Relationship between Aging-Related Skin Dryness and Aquaporins. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18.
- Ikeda E, Yagi K, Kojima M, et al. Multipotent cells from the human third molar: feasibility of cell-based therapy for liver disease. *Differentiation*. 2008;76:495–505.

- Imamura M, Inoguchi T, Ikuyama S, et al. ADRP stimulates lipid accumulation and lipid droplet formation in murine fibroblasts. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2002;283:E775–83.
- Isasi RM, and Knoppers BM. Beyond the permissibility of embryonic and stem cell research : substantive requirements and procedural safeguards 2006;21:2474–81.
- Ishibashi K. Aquaporin superfamily with unusual npa boxes: S-aquaporins (superfamily, sip-like and subcellular-aquaporins). *Cellular and Molecular Biology (Noisy-Le-Grand, France)*. 2006;52:20–7.
- Ishibashi K, Hara S, and Kondo S. Aquaporin water channels in mammals. *Clinical and Experimental Nephrology*. 2009;13:107–17.
- Ishibashi K, Kuwahara M, Gu Y, et al. Cloning and functional expression of a new water channel abundantly expressed in the testis permeable to water, glycerol, and urea. *The Journal of Biological Chemistry*. 1997;272:20782–6.
- Itskovitz-Eldor J, Schuldiner M, Karsenti D, et al. Differentiation of human embryonic stem cells into embryoid bodies compromising the three embryonic germ layers. *Molecular Medicine (Cambridge, Mass)*. 2000;6:88–95.
- Jensen UB, Yan X, Triel C, et al. A distinct population of clonogenic and multipotent murine follicular keratinocytes residing in the upper isthmus. *Journal of Cell Science*. 2008;121:609–17.
- Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*. 2002;418:41–9.
- Jiao J, and Chen DF. Induction of Neurogenesis in Nonconventional Neurogenic Regions of the Adult Central Nervous System by Niche Astrocyte-Produced Signals. *Stem Cells*. 2008;26:1221–30.
- Jing Z, Qiong Z, Yonggang W, et al. Rat bone marrow mesenchymal stem cells improve regeneration of thin endometrium in rat. *Fertility and Sterility*. 2014;101:587-594.e3.
- Johansson I, Larsson C, Ek B, et al. The Major Integral Proteins of Spinach Leaf Plasma Membranes Are Putative Aquaporins and Are Phosphorylated in Response to Ca<sup>2+</sup> and Apoplastic Water Potential. *THE PLANT CELL ONLINE*. 1996;8:1181–91.
- Jung JS, Preston GM, Smith BL, et al. Molecular structure of the water channel through aquaporin CHIP. The hourglass model. *The Journal of Biological Chemistry*. 1994;269:14648–54.
- Junker JPE, Sommar P, Skog M, et al. Adipogenic, Chondrogenic and Osteogenic Differentiation of Clonally Derived Human Dermal Fibroblasts. *Cells Tissues Organs*. 2010;191:105–18.
- Juuti-Uusitalo K, Delporte C, Grégoire F, et al. Aquaporin expression and function in human pluripotent stem cell-derived retinal pigmented epithelial cells. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2013;54:3510–9.
- Karaöz E, Doğan BN, Aksoy A, et al. Isolation and in vitro characterisation of dental pulp stem cells from natal teeth. *Histochemistry and Cell Biology*. 2010;133:95–112.
- KARIHTALA P, and SOINI Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS*. 2007;115:81–103.

- Kayingo G, Bill RM, Calamita G, et al. Chapter 8 Microbial water channels and glycerol facilitators. *Current Topics in Membranes*. 2001;51:335–70.
- Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, et al. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *Journal of Clinical Investigation*. 2001;108:407–14.
- Keilhoff G, Goihl A, Langnäse K, et al. Transdifferentiation of mesenchymal stem cells into Schwann cell-like myelinating cells. *European Journal of Cell Biology*. 2006;85:11–24.
- Kim B-S, Baez CE, and Atala A. Biomaterials for tissue engineering. *World Journal of Urology*. 2000;18:2–9.
- Kim CFB, Jackson EL, Woolfenden AE, et al. Identification of Bronchioalveolar Stem Cells in Normal Lung and Lung Cancer. *Cell*. 2005;121:823–35.
- Kim HJ, and Park J-S. Usage of Human Mesenchymal Stem Cells in Cell-based Therapy: Advantages and Disadvantages. *Development & Reproduction*. 2017;21:1–10.
- Kim HT, Kim YH, Nam JW, et al. Study of 5'-Flanking Region of Human Cu/Zn Superoxide Dismutase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1994;201:1526–33.
- Kim JY, Jung KJ, Choi JS, et al. Modulation of the age-related nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) pathway by hesperetin. *Aging Cell*. 2006;5:401–11.
- King LS, Choi M, Fernandez PC, et al. Defective Urinary Concentrating Ability Due to a Complete Deficiency of Aquaporin-1. *New England Journal of Medicine*. 2001;345:175–9.
- King LS, Kozono D, and Agre P. REVIEWS FROM STRUCTURE TO DISEASE : THE EVOLVING TALE OF 2004;5.
- Kirscht A, Kaptan SS, Bienert GP, et al. Crystal Structure of an Ammonia-Permeable Aquaporin. *PLoS Biology*. 2016a;14:e1002411.
- Kirscht A, Survery S, Kjellbom P, et al. Increased Permeability of the Aquaporin SoPIP2;1 by Mercury and Mutations in Loop A. *Frontiers in Plant Science*. 2016b;7:1249.
- Kitchen P, and Conner AC. Control of the Aquaporin-4 Channel Water Permeability by Structural Dynamics of Aromatic/Arginine Selectivity Filter Residues. *Biochemistry*. 2015;54:6753–5.
- Konstantinov IE. In search of Alexander A. Maximow: the man behind the unitarian theory of hematopoiesis. *Perspectives in Biology and Medicine*. 2000;43:269–76.
- Krane CM, and Goldstein DL. Comparative functional analysis of aquaporins/glyceroporins in mammals and anurans. *Mammalian Genome*. 2007;18:452–62.
- Krause DS, Theise ND, Collector MI, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell*. 2001;105:369–77.
- Kreda SM, Gynn MC, Fenstermacher DA, et al. Expression and Localization of Epithelial Aquaporins in the Adult Human Lung. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2001;24:224–34.
- Kundrotas G, Gasperskaja E, Slapsyte G, et al. Identity, proliferation capacity, genomic

- stability and novel senescence markers of mesenchymal stem cells isolated from low volume of human bone marrow. *Oncotarget*. 2016;7:10788–802.
- Kuriyama H, Kawamoto S, Ishida N, et al. Molecular cloning and expression of a novel human aquaporin from adipose tissue with glycerol permeability. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1997;241:53–8.
- Kuriyama H, Shimomura I, Kishida K, et al. Coordinated regulation of fat-specific and liver-specific glycerol channels, aquaporin adipose and aquaporin 9. *Diabetes*. 2002;51:2915–21.
- Laforenza U, Gastaldi G, Grazioli M, et al. Expression and immunolocalization of aquaporin-7 in rat gastrointestinal tract. *Biology of the Cell*. 2005;97:605–13.
- Laforenza U, Scaffino MF, and Gastaldi G. Aquaporin-10 Represents an Alternative Pathway for Glycerol Efflux from Human Adipocytes. *PLoS ONE*. 2013;8:e54474.
- Lanza RP, Cibelli JB, West MD, et al. The ethical reasons for stem cell research. *Science (New York, NY)*. 2001;292:1299.
- Larigauderie G, Cuaz-Perolin C, Younes AB, et al. Adipophilin increases triglyceride storage in human macrophages by stimulation of biosynthesis and inhibition of  $\beta$ -oxidation. *FEBS Journal*. 2006;273:3498–510.
- Lee H, Peng Y, and Guo Y. Analysis of Lipid Droplet Dynamics and Functions in *Drosophila melanogaster*. *Methods in Cell Biology*. 2013;116:53–69.
- Lee VM, and Stoffel M. Bone marrow: an extra-pancreatic hideout for the elusive pancreatic stem cell? *The Journal of Clinical Investigation*. 2003;111:799–801.
- Levenberg S, Golub JS, Amit M, et al. Endothelial cells derived from human embryonic stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99:4391–6.
- Li H, Kamiie J, Morishita Y, et al. Expression and localization of two isoforms of AQP10 in human small intestine. *Biology of the Cell*. 2005;97:823–9.
- Liang J, Wan M, Zhang Y, et al. Nanog and Oct4 associate with unique transcriptional repression complexes in embryonic stem cells. *Nature Cell Biology*. 2008;10:731–9.
- Lin Y, Weisdorf DJ, Solovey A, et al. Origins of circulating endothelial cells and endothelial outgrowth from blood. *Journal of Clinical Investigation*. 2000;105:71–7.
- Listenberger LL, Ostermeyer-Fay AG, Goldberg EB, et al. Adipocyte differentiation-related protein reduces the lipid droplet association of adipose triglyceride lipase and slows triacylglycerol turnover. *Journal of Lipid Research*. 2007;48:2751–61.
- Liu C, Li C, Liang D, et al. Aquaporin expression in response to water-deficit stress in two *Malus* species: relationship with physiological status and drought tolerance. *Plant Growth Regulation*. 2013;70:187–97.
- Ludwig TE, Bergendahl V, Levenstein ME, et al. Feeder-independent culture of human embryonic stem cells. *Nature Methods*. 2006;3:637–46.
- LUI SI, BARBACHAN J, CHIES J, et al. Behavior of Human Dental Pulp Cells Exposed to Transforming Growth Factor-Beta1 and Acidic Fibroblast Growth Factor in Culture. *Journal of Endodontics*. 2007;33:833–5.

- Luttun A, Ross J, Verfaillie C, et al. Differentiation of multipotent adult progenitor cells into functional endothelial and smooth muscle cells. *Current Protocols in Immunology*. 2006;Chapter 22:Unit 22F.9-Unit 22F.9.
- Ma T, Fukuda N, Song Y, et al. Lung fluid transport in aquaporin-5 knockout mice. *The Journal of Clinical Investigation*. 2000;105:93–100.
- Madeira A, Moura TF, and Soveral G. Aquaglyceroporins: implications in adipose biology and obesity. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2015;72:759–71.
- Maeda N, Hibuse T, and Funahashi T. Role of Aquaporin-7 and Aquaporin-9 in Glycerol Metabolism; Involvement in Obesity. *Aquaporins*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; n.d., p. 233–49.
- Magné J, Aminoff A, Perman Sundelin J, et al. The minor allele of the missense polymorphism Ser251Pro in perilipin 2 (PLIN2) disrupts an  $\alpha$ -helix, affects lipolysis, and is associated with reduced plasma triglyceride concentration in humans. *The FASEB Journal*. 2013;27:3090–9.
- Majo F, Rochat A, Nicolas M, et al. Oligopotent stem cells are distributed throughout the mammalian ocular surface. *Nature*. 2008;456:250–4.
- Masuya, M. Drake CJ, Fleming PA, Reilly CM, Zeng H, Hill WD, Martin-Studdard A, Hess DC OM. Hematopoietic origin of glomerular mesangial cells. *Blood*. 2003;101:2215–8.
- MAURO A. Nature of solvent transfer in osmosis. - PubMed - NCBI. *Science*. 1957;126:252–3.
- McCord JM, and Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry*. 1969;244:6049–55.
- McCulloch EA, and Till JE. Proliferation of Hemopoietic Colony-Forming Cells Transplanted into Irradiated Mice. *Radiation Research*. 1964;22:383.
- McIntosh AL, Senthivayagam S, Moon KC, et al. Direct interaction of Plin2 with lipids on the surface of lipid droplets: a live cell FRET analysis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2012;303:C728–42.
- McIntosh AL, Storey SM, and Atshaves BP. Intracellular Lipid Droplets Contain Dynamic Pools of Sphingomyelin: ADRP Binds Phospholipids with High Affinity. *Lipids*. 2010;45:465–77.
- Mimeault M, and Batra SK. Recent Progress on Tissue-Resident Adult Stem Cell Biology and Their Therapeutic Implications. *Stem Cell Reviews*. 2008;4:27–49.
- Mitsuoka K, Murata K, Walz T, et al. The structure of aquaporin-1 at 4.5-Å resolution reveals short  $\alpha$ -helices in the center of the monomer. *Journal of Structural Biology*. 1999;128:34–43.
- Mizuno H. Adipose-derived stem and stromal cells for cell-based therapy: current status of preclinical studies and clinical trials. *Current Opinion in Molecular Therapeutics*. 2010;12:442–9.
- Monzani E, Bazzotti R, Perego C, et al. AQP1 Is Not Only a Water Channel: It Contributes to Cell Migration through Lin7/Beta-Catenin. *PLoS ONE*. 2009;4:e6167.



- Moore KL. Klinik Yönleriyle İnsan Emriyolojisi. 10th ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2016.
- Morinaga T, Nakakoshi M, Hirao A, et al. Mouse aquaporin 10 gene (AQP10) is a pseudogene. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2002;294:630–4.
- Motomura W, Inoue M, Ohtake T, et al. Up-regulation of ADRP in fatty liver in human and liver steatosis in mice fed with high fat diet. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2006;340:1111–8.
- Murata K, Mitsuoka K, Hirai T, et al. Structural determinants of water permeation through aquaporin-1. *Nature*. 2000;407:599–605.
- Murrell W, Féron F, Wetzig A, et al. Multipotent stem cells from adult olfactory mucosa. *Developmental Dynamics*. 2005;233:496–515.
- Nagano MC. Homing Efficiency and Proliferation Kinetics of Male Germ Line Stem Cells Following Transplantation in Mice1. *Biology of Reproduction*. 2003;69:701–7.
- Najt CP, Lwande JS, McIntosh AL, et al. Structural and functional assessment of perilipin 2 lipid binding domain(s). *Biochemistry*. 2014;53:7051–66.
- Nakhoul NL, Davis BA, Romero MF, et al. Effect of expressing the water channel aquaporin-1 on the CO<sub>2</sub> permeability of *Xenopus* oocytes. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 1998;274:C543–8.
- Nauta AJ, and Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*. 2007;110:3499–506.
- Németh-Cahalan KL, and Hall JE. pH and Calcium Regulate the Water Permeability of Aquaporin 0. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275:6777–82.
- Nicchia GP, Frigeri A, Nico B, et al. Tissue distribution and membrane localization of aquaporin-9 water channel: evidence for sex-linked differences in liver. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry : Official Journal of the Histochemistry Society*. 2001;49:1547–56.
- Nielsen S, Chou CL, Marples D, et al. Vasopressin increases water permeability of kidney collecting duct by inducing translocation of aquaporin-CD water channels to plasma membrane. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1995;92:1013–7.
- Nolen-Walston RD, Kim CF, Mazan MR, et al. Cellular kinetics and modeling of bronchioalveolar stem cell response during lung regeneration. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2008;294:L1158–65.
- Noor R, Mittal S, and Iqbal J. Superoxide dismutase--applications and relevance to human diseases. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2002;8:RA210-5.
- Nozaki K, Ishii D, and Ishibashi K. Intracellular aquaporins: clues for intracellular water transport? *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*. 2008;456:701–7.
- Ohazama A, Modino SAC, Miletich I, et al. Stem-cell-based Tissue Engineering of Murine Teeth. *Journal of Dental Research*. 2004;83:518–22.
- Okahira M, Kubota M, Iguchi K, et al. Regulation of aquaporin 3 expression by magnesium ion. *European Journal of Pharmacology*. 2008;588:26–32.

- Oswald J, Boxberger S, Jørgensen B, et al. Mesenchymal Stem Cells Can Be Differentiated Into Endothelial Cells In Vitro. *STEM CELLS*. 2004;22:377–84.
- P. De Miguel M, Fuentes-Julián S, and Alcaina Y. Pluripotent Stem Cells: Origin, Maintenance and Induction. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2010;6:633–49.
- Pao GM, Wu L-F, Johnson KD, et al. Evolution of the MIP family of integral membrane transport proteins. *Molecular Microbiology*. 1991;5:33–7.
- Peng Y, Huang S, Cheng B, et al. Mesenchymal stem cells: A revolution in therapeutic strategies of age-related diseases. *Ageing Research Reviews*. 2013;12:103–15.
- Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science (New York, NY)*. 1999;284:1168–70.
- Phinney DG, and Prockop DJ. Concise Review: Mesenchymal Stem/Multipotent Stromal Cells: The State of Transdifferentiation and Modes of Tissue Repair-Current Views. *Stem Cells*. 2007;25:2896–902.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science (New York, NY)*. 1999;284:143–7.
- Poulsom R, Forbes SJ, Hodiwalla-Dilke K, et al. Bone marrow contributes to renal parenchymal turnover and regeneration. *The Journal of Pathology*. 2001;195:229–35.
- Preston GM, and Agre P. Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons: member of an ancient channel family. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1991;88:11110–4.
- Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, et al. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science (New York, NY)*. 1992;256:385–7.
- Preston GM, Jung JS, Guggino WB, et al. The mercury-sensitive residue at cysteine 189 in the CHIP28 water channel. *The Journal of Biological Chemistry*. 1993;268:17–20.
- Priller J, Persons DA, Klett FF, et al. Neogenesis of cerebellar Purkinje neurons from gene-marked bone marrow cells in vivo. *The Journal of Cell Biology*. 2001;155:733–8.
- Procaccini C, Jirillo E, and Matarese G. Leptin as an immunomodulator. *Molecular Aspects of Medicine*. 2012;33:35–45.
- Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, et al. Chimerism of the Transplanted Heart. *New England Journal of Medicine*. 2002;346:5–15.
- Reubinoff BE, Pera MF, Fong C-Y, et al. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. *Nature Biotechnology*. 2000;18:399–404.
- Ribatti D, Ranieri G, Annese T, et al. Aquaporins in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2014;1840:1550–3.
- Richey DP LE. Importance of facilitated diffusion for effective utilization of glycerol by *Escherichia coli*. - PubMed - NCBI. *J Bacteriol*. 1972;112:784–90.
- Rodríguez A, Catalán V, Gómez-Ambrosi J, et al. Aquaglyceroporins serve as metabolic gateways in adiposity and insulin resistance control. *Cell Cycle*. 2011;10:1548–56.
- Rojek A, Praetorius J, Frøkiaer J, et al. A Current View of the Mammalian Aquaglyceroporins. *Annual Review of Physiology*. 2008;70:301–27.

- Roudier N, Ripoche P, Gane P, et al. AQP3 deficiency in humans and the molecular basis of a novel blood group system, GIL. *The Journal of Biological Chemistry*. 2002;277:45854–9.
- Saadoun S, Papadopoulos MC, Davies DC, et al. Increased aquaporin 1 water channel expression in human brain tumours. *British Journal of Cancer*. 2002;87:621–3.
- Saber SE-DM. Tissue engineering in endodontics. *Journal of Oral Science*. 2009;51:495–507.
- Saito K, Kageyama Y, Okada Y, et al. Localization of aquaporin-7 in human testis and ejaculated sperm: possible involvement in maintenance of sperm quality. *The Journal of Urology*. 2004;172:2073–6.
- Salmerón C, Johansson M, Asaad M, et al. Roles of leptin and ghrelin in adipogenesis and lipid metabolism of rainbow trout adipocytes in vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2015;188:40–8.
- Sanchez-Lara PA, Zhao H, Bajpai R, et al. Impact of Stem Cells in Craniofacial Regenerative Medicine. *Frontiers in Physiology*. 2012;3:188.
- Serrero G, Frolov A, Schroeder F, et al. Adipose differentiation related protein: expression, purification of recombinant protein in Escherichia coli and characterization of its fatty acid binding properties. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2000;1488:245–54.
- SETHE S, SCUTT A, and STOLZING A. Aging of mesenchymal stem cells. *Ageing Research Reviews*. 2006;5:91–116.
- Sharon JL, and Puleo DA. The use of N-terminal immobilization of PTH(1–34) on PLGA to enhance bioactivity. *Biomaterials*. 2008;29:3137–42.
- Sharpless NE, and DePinho RA. How stem cells age and why this makes us grow old. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2007;8:703–13.
- Shelden MC, Howitt SM, Kaiser BN, et al. Identification and functional characterisation of aquaporins in the grapevine, *Vitis vinifera*. *Functional Plant Biology*. 2009;36:1065.
- Shibata T, Naruse K, Kamiya H, et al. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves diabetic polyneuropathy in rats. *Diabetes*. 2008;57:3099–107.
- da Silva Meirelles L, Caplan AI, and Nardi NB. In Search of the In Vivo Identity of Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells*. 2008a;26:2287–99.
- da Silva Meirelles L, Caplan AI, and Nardi NB. In Search of the In Vivo Identity of Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells*. 2008b;26:2287–99.
- Skowronski MT, Kwon T-H, and Nielsen S. Immunolocalization of aquaporin 1, 5, and 9 in the female pig reproductive system. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry : Official Journal of the Histochemistry Society*. 2009;57:61–7.
- Skowronski MT, Lebeck J, Rojek A, et al. AQP7 is localized in capillaries of adipose tissue, cardiac and striated muscle: implications in glycerol metabolism. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2007;292:F956–65.
- Smith BL, and Agre P. Erythrocyte Mr 28,000 transmembrane protein exists as a multisubunit oligomer similar to channel proteins. *The Journal of Biological Chemistry*.

1991;266:6407–15.

Smith MA, Court EL, and Smith JG. Stem cell factor: laboratory and clinical aspects. *Blood Reviews*. 2001;15:191–7.

Solter D. Mammalian cloning: advances and limitations. *Nature Reviews Genetics*. 2000;1:199–207.

Stamer WD, Bok D, Hu J, et al. Aquaporin-1 channels in human retinal pigment epithelium: role in transepithelial water movement. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2003;44:2803–8.

Stem Cell Basics I. | stemcells.nih.gov. n.d. <https://stemcells.nih.gov/info/basics/1.htm> (accessed May 6, 2019).

Tabata Y. Current status of regenerative medical therapy based on drug delivery technology. *Reproductive BioMedicine Online*. 2008;16:70–80.

Tajkhorshid E, Nollert P, Jensen MØ, et al. Control of the selectivity of the aquaporin water channel family by global orientational tuning. *Science (New York, NY)*. 2002;296:525–30.

Takahashi K, and Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*. 2006;126:663–76.

Tamma G, Valenti G, Grossini E, et al. Review Article Aquaporin Membrane Channels in Oxidative Stress , Cell Signaling , and Aging : Recent Advances and Research Trends 2018;2018.

Targett-Adams P, Chambers D, Gledhill S, et al. Live Cell Analysis and Targeting of the Lipid Droplet-binding Adipocyte Differentiation-related Protein. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278:15998–6007.

Taupin P. Therapeutic potential of adult neural stem cells. *Recent Patents on CNS Drug Discovery*. 2006;1:299–303.

Tekeli S, Arısu Naghavi E, Gökçe B, et al. Stem cells; mesenchymal stem cells and current clinical applications. *Istanbul Bilim University Florence Nightingale Transplantation Journal*. 2016;1:72–83.

Theise ND, Badve S, Saxena R, et al. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2000;31:235–40.

Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science (New York, NY)*. 1998;282:1145–7.

Tietz PS, Marinelli RA, Chen X-M, et al. Agonist-induced coordinated trafficking of functionally related transport proteins for water and ions in cholangiocytes. *The Journal of Biological Chemistry*. 2003;278:20413–9.

Tocci A, and Forte L. Mesenchymal stem cell: use and perspectives. *The Hematology Journal : The Official Journal of the European Haematology Association*. 2003;4:92–6.

Törnroth-Horsefield S, Wang Y, Hedfalk K, et al. Structural mechanism of plant aquaporin gating. *Nature*. 2006;439:688–94.

Tournaire-Roux C, Sutka M, Javot H, et al. Cytosolic pH regulates root water transport

- during anoxic stress through gating of aquaporins. *Nature*. 2003;425:393–7.
- Verdoux L, Grondin A, and Maurel C. Structure-function analysis of plant aquaporin AtPIP2;1 gating by divalent cations and protons. *The Biochemical Journal*. 2008;415:409–16.
- Verkman AS. Aquaporins: translating bench research to human disease. *Journal of Experimental Biology*. 2009;212:1707–15.
- Verkman AS, Anderson MO, and Papadopoulos MC. Aquaporins: important but elusive drug targets. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2014;13:259–77.
- Verkman AS, Hara-Chikuma M, and Papadopoulos MC. Aquaporins--new players in cancer biology. *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*. 2008;86:523–9.
- Wakayama T, Perry ACF, Zuccotti M, et al. Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature*. 1998;394:369–74.
- Wallace IS, and Roberts DM. Distinct transport selectivity of two structural subclasses of the nodulin-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporin channels. *Biochemistry*. 2005;44:16826–34.
- Wang F, Yin Y, Ye X, et al. Molecular insights into the heterogeneity of telomere reprogramming in induced pluripotent stem cells. *Cell Research*. 2012;22:757–68.
- Wang J, Ding F, Gu Y, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells promote cell proliferation and neurotrophic function of Schwann cells in vitro and in vivo. *Brain Research*. 2009;1262:7–15.
- Watt AJ, and Forrester LM. Deriving and identifying hepatocytes from embryonic stem cells. *Stem Cell Reviews*. 2006;2:19–22.
- Weiner LP. Definitions and Criteria for Stem Cells. *Methods Mol. Biol.*, vol. 438, 2008, p. 3–8.
- Willcox BJ, Donlon TA, He Q, et al. FOXO3A genotype is strongly associated with human longevity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105:13987–92.
- Wilmot I, Schnieke AE, McWhir J, et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*. 1997;385:810–3.
- Wilson A, Butler PE, and Seifalian AM. Adipose-derived stem cells for clinical applications: a review. *Cell Proliferation*. 2011;44:86–98.
- Woods EJ, Perry BC, Hockema JJ, et al. Optimized cryopreservation method for human dental pulp-derived stem cells and their tissues of origin for banking and clinical use. *Cryobiology*. 2009;59:150–7.
- Yoo JJ, Olson J, Atala A, et al. Regenerative medicine strategies for treating neurogenic bladder. *International Neurology Journal*. 2011;15:109–19.

## ÖZGEÇMİŞ

ARAŞTIRMA GÖREVLİSİ AYŞEGÜL AYTEKİN

E-Posta Adresi : dr.a.albayrak@gmail.com

Telefon (İş) : 3037309-262

Telefon (Cep) : 5069010090

Faks :

Adres : Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kat:3 Histoloji Ve Embriyoloji AD

### **Öğrenim Bilgisi**

Doktora Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Histoloji-  
Embriyoloji (Dr) 2013-

Lisans Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi/Tıp Pr. 2003-2009

### **Projelerde Yaptığı Görevler:**

İleri pasaj mezenkimal kök hücrelerin aquaporin profilinin erken pasaj mezenkimal kök hücrelerle karşılaştırılması ve adipojenik farklılaşma verimi üzerindeki etkisinin belirlenmesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Yürütücü:YAZIR YUSUFHAN,Araştırmacı:AYTEKİN AYŞEGÜL,Araştırmacı:YARDIMOĞLU YILMAZ MELDA, , 17/10/2017 (Devam Ediyor) (ULUSAL)

### **Eserler**

#### **Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makale ve bildirimler:**

AYTEKİN AYŞEGÜL,YAZIR YUSUFHAN,TAŞDEMİR RABİA,FURAT RENÇBER SELENAY HÜMEYRA,YARDIMOĞLU YILMAZ MELDA (2015). Metaphors About Histology Education In StudentsOf Faculty Of Medicine. Turkish Online Journal of Educational Technology (Yayın No: 2265825)

ERİMŞAH SEVİLAY,TERZİ ELÇİN HAKAN,FIRAT TÜLİN,KÜKNER AYSEL,AYTEKİN AYŞEGÜL (2015). Metaphors Of Medical Students About Embryology Education. Turkish Online Journal of Educational Technology (Yayın No: 2266512)

YARDIMOĞLU YILMAZ MELDA,ADİLİ OSMANİ Liridona,AYTEKİN AYŞEGÜL,ERALDEMİR FATMA CEYLA,ACAR ESRA,YILDIZ DEMİR KÜRŞAT,BAYDEMİR CANAN (2017). Effects of Atorvastatin on the Renal Tissue in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats”, ICHC “From Molecules to Diseases” ABSTRACT

BOOK ICHC 2017 Kervansaray Lara Hotel, ANTALYA May 18 - 21, 2017,. 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, 2017, 473-474. (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3551426)

YAZIR YUSUFHAN,FURAT RENÇBER SELENAY HÜMEYRA,GACAR GÜLÇİN,AYTEKİN AYŞEGÜL,ÖNDER SELEN,UTKAN TİJEN (2017). Resveratrol exhibits antidepressant-like behavior in the rat chronic unpredictable mild stress model through reducing serum corticosterone, peripheral inflammation and neuroinflammation and also maintaining hippocampal BDNF levels. 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry (Tam Metin Bildiri/Poster)(Yayın No:3920543)

AYTEKİN AYŞEGÜL,TAŞDEMİR RABİA,YAZIR YUSUFHAN,YARDIMOĞLU YILMAZ MELDA (2016). The Evaluation Of The Levels Of Hystology Self Efficacy Beliefs Of Students Of Dentistry Faculty. International Congress on Education 2016 (/)(Yayın No:2847257)

AYTEKİN AYŞEGÜL,YAZIR YUSUFHAN,TAŞDEMİR RABİA,FURAT RENÇBER SELENAY HÜMEYRA,YARDIMOĞLU YILMAZ MELDA (2015). Metaphors About Histology Education In StudentsOf Faculty Of Medicine. International Conference On New Horizons In Education (/)(Yayın No:2267665)

ERİMŞAH SEVİLAY,TERZİ ELÇİN HAKAN,FIRAT TÜLİN,KÜKNER AYSEL,AYTEKİN AYŞEGÜL (2015). Metaphors Of Medical Students About Embryology Education. International Conference On New Horizons In Education (/)(Yayın No:2267320)

### **Üniversite Dışı Deneyim**

2009-2013 Doktor SAĞLIK BAKANLIĞI, (Kamu)

### **EKLER**

**EK1: Etik Kurul Onayı**





T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR  
ETİK KURULU



Etik Kurul Bilgileri	Adı	Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	Adres	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Ara Kat 41380 Umuttepe Yerleşkesi /KOCAELİ
	Telefon	0262 303 74 50
	Faks	0262 303 74 63
	E-Posta	gokaetikkurul@kocaeli.edu.tr

Başvuru Bilgileri	Araştırmacının Adı	İleri pasaj mezenkimal kök hücrelerin aquaporin profilinin erken pasaj mezenkimal kök hücrelerle karşılaştırılması ve adiopojenik farklılaşma verimi üzerindeki etkisinin belirlenmesi			
	Araştırma Proje Numarası	KÜ GOKAEK 2017/59			
	Sorumlu Araştırmacı Unvanı/Adı/Soyadı	Doç. Dr. Yusufhan YAZIR			
	Sorumlu Araştırmacının Uzmanlık Alanı	Histoloji ve Embriyoloji			
	Araştırma Merkezi	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi KÖGEM			
	Destekleyici				
	Araştırmacının Türü	<b>Doktora Tezi</b>			
Araştırmaya Katılan Merkezler	Tek Merkezli	Çok Merkezli	Ulusal	Uluslararası	
	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Değerlendirilen Belgeler	Belge Adı	Var	Yok	Açıklama
	Başvuru Dilekçesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Başvuru Formu	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Araştırmacının Türü	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Rutin muayene sırasında elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırma-Hücre ve Doku Kültürü Çalışması
	Araştırma Protokolü	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Kullanılacak Form Örnekleri	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Aydınlatılmış Onam Formu	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Araştırma Bütçesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Literatür Örneği	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Taahhütname	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Biyolojik Materyal Transfer Anlaşması	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	İzin Belgeleri	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Başhekimlik Onayı	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Özgeçmişler	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Değişiklik Bilgi Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	Proje Sonuç Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Diğer	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		

KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onay Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Onay formu	21.09.2016/KOGOEK01.1	1/2

Karar Bilgileri	Karar No: KÜ GOKAEK 2017/3.30   Proje No: 2017/59   Tarih: 01/07 2017
	Doç. Dr. Yusufhan YAZIR sorumluluğunda yapılan ve yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçesi, amacı, yaklaşım ve yöntemleri, gönüllüler için beklenen yarar ve riskler dikkate alınarak değerlendirilmiş ve araştırmanın ilgili protokol doğrultusunda belirtilen merkezlerde yürütülmesi etik açıdan, <input checked="" type="checkbox"/> Uygun bulunmuştur. <input type="checkbox"/> Eksikliklerin tamamlanması koşulu ile uygun bulunmuştur.* <input type="checkbox"/> Uygun bulunmamıştır.*

Dayanakları	Hasta Hakları Yönetmeliği (01.08.1998/23420); Biyoloji ve Tıbbın Uygulanması Bakımından İnsan Hakları ve İnsan Haysiyetinin Korunması Sözleşmesi: İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesinin Uygun Bulunduğuna Dair Kanun (09.12.2003/25311); Biyotıp Araştırmalarına İlişkin İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesine Ek Protokolün Onaylanmasının Uygun Bulunduğuna Dair Kanun (29.03.2011/27899); İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik (13.04.2013/28617); Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği (06.09.2014/29111); Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi; İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu; Türk Tabipleri Birliği Hekimlik Meslek Etiği Kuralları; Türk Tabipleri Birliği Araştırma Etiği Bildirgesi
-------------	--

**Etik Kurul Üyeleri**

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişki		Toplantıda Bulunma		İmza
Prof. Dr. Kadir Babaoğlu Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Kotluoğlu
Prof. Dr. İ. Erdem Okay Üye	Genel Cerrahi	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Haluk Emre Özel Üye	Restoratif Diş Tedavisi	Kocaeli Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Canan Baydemir Üye	Biyostatistik	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Selcen Göçmez Üye	Farmakoloji	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Özlem Yıldız Gündoğdu Üye	Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Yusufhan Yazır Üye	Histoloji ve Embriyoloji	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	İlişkili
Yrd. Doç. Dr. Aslıhan Akpınar Raportör	Tıp Tarihi ve Etik	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ceyla Eraldemir Üye	Biyokimya	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\* Gerekçe ve öneriler:

KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onay Formu	Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su:	Sayfa
	Onay formu	21.09.2016/KOGOEK01.1	2/2

## EK2: Tez Denetleme Listesi

### Tez Denetleme Listesi

- ✓ Kapak ve iç kapak sayfalarında BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA şeklinde elde edilen unvanlar yazıldı (Kapak sayfasına danışman adı yazılmamalıdır).
- ✓ Kapak sayfasına mezun olunan PROGRAMIN (Anabilim dalının değil) adı yazıldı.
- ✓ Tez kapağı sırt kısmına kılavuzda belirtilen çizimde (yazının yönüne dikkat!) ad, program,yıl yazıldı.
- ✓ Onay sayfası uygun çizimde hazırlandı (kazanılan unvanlar BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA olmalıdır) imzalatıldı (Enstitü Müdürü'nün imzası da gereklidir, imzaların aynı renk kalemle atılmasına dikkat edilmelidir).
- ✓ Dizinler kılavuzda belirtildiği gibi sıralandı.
- ✓ Ön sayfalara i, ii, iii şeklinde Roma rakamları konuldu.
- ✓ Sayfa numaraları kılavuzda belirtildiği şekilde konuldu.
- ✓ Sayfa düzeni kılavuzda belirtildiği şekilde yapıldı.
- ✓ Ana metin yazı boyutu 12 olacak biçimde basıldı.
- ✓ Dipnot yazı boyutu 10 olacak şekilde basıldı.
- ✓ Ana metin satır aralığı 1.5 olacak şekilde yazıldı.
- ✓ Kaynaklar abecesel sıralamaya göre yazıldı.
- ✓ Kaynak gösterme ilkelerine ve yazım kurallarına uyuldu.
- ✓ Ekler kılavuzda belirtildiği gibi verildi.

31/05/2019

Danışman: Prof. Dr. Yusufhan YAZIR