

ÜROONKOLOJİ
DERNEĞİ - 1999



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel
Taksim - İstanbul

BİLDİRİ KİTABI





I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P01]

Serum M30 ve M65 seviyelerinin metastatik böbrek hücreli kanserde prognostik önemi

İbrahim Yıldız¹, Mer Basaran²

¹İzmir Katip Celebi Üniversitesi, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma hastanesi

²İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü

Giriş. Metastatik renal hücreli kanserde klinik gidişi öngören prognostik ön görü modelleri klinik faktörlere dayalıdır. Biyolojik belirteç arayışı halen devam etmektedir. Sitokeratinler, yalnızca epitelyal hücre tipinde eksprese edilen proteinler ve epitelyal hücre ölümü için uygun biyobelirteçlerdir. Sitokeratin 18, apoptoz sırasında kaspazlar tarafından parçalanır. Plazmada kaspazla parçalanmış CK18 varlığı, epitelyal hücre apoptozunu gösterirken, parçalanmamış CK18 bulunması da epitelyal hücre nekrozunu gösterir. M30 Apoptosense® tayini kaspazla parçalanmış keratin 18 düzeylerinin kantitatif olarak saptayan apoptoz için spesifik bir kantitatif testtir. M65® ELISA ise epitelyal hücrelerin toplam hücre ölümünün (apoptoz ve nekroz) miktar tayinine olanak sağlar. Çalışmamızda serum M30 ve M65 seviyelerinin metastatik RCC de prognostik önemi araştırılmıştır

Materyal-Metod: 39 hasta ve 39 kontrolden kanlar alındı. Hasta grubunda kan örnekleri sunitinib tedavi öncesi alındı.

Bulgular: Hastalar ve kontroller arasında medyan plazma M30 değerlerinde fark yoktu (53,7 vs. 49,1 U/l) (P= 0.31). Fakat, plazma M65 seviyeleri hastalarda kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksekti (P<0,001). Hasta grubunda PFS için M65 seviyesinin prognostik anlamlılığı ROC analizi kullanılarak değerlendirildi. ROC analizinde, öngörülen PFS için M65'in en iyi cut-off değeri %70,4'lük hassasiyet ve %66,7 spesifisite ile 313.6 U/l olarak hesaplandı. Serum M65 seviyeleri 313.6 U/l'den büyük olan hastaların, 313.6 U/l'den küçük olanlara daha kötü PFS değerleri vardı (7,6 aya 14 ay, P = 0,03). Serum M30 seviyeleri progresyon varlığı ve progresyona kadar geçen süre için anlamlı bulunmadı. Progresyonu predikte eden demografik ve klinikopatolojik değişkenler univariate, ardından multivariate analizde değerlendirildi. Cox regresyon modelinde, düşük hemoglobin seviyesi (p:0.03) ve sarkomatoid özelliklerin varlığı (p:0.02) kısa PFS ile korele bulunurken, serum M65 seviyelerinin PFS'ye etkisi doğrulanamadı.

Sonuç: Serum M65 seviyeleri kısa PFS ile ilişkili olabilir, fakat bu belirtecin önemi çok değişkenli analizde bir prognostik faktör olarak doğrulanmamıştır. Serum M30 ve M65 seviyelerinin prognostik önemini ve tedavi yanıtıyla ilişkisini daha iyi belirlemek için, prospektif, daha büyük hasta sayısı ve daha uzun izlem süresiyle yapılmış çalışmalara ihtiyaç vardır.



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P02]

At Nalı Böbrek Anomalisi Nedeniyle 46,X,i(Xq) Tipi Turner Sendromlu Bir Olgu

Etem Akbaş¹, Nazan Eras Erdoğan¹, Barış Akbaş², Öznur Bucak¹, Duygu Yolal¹

¹Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Mersin

²Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin

Turner Sendromu kız çocuğu doğumları için yaklaşık olarak 1/5000 oranında görülen ve klinik özellikleriyle ayırdedilebilen bir sendromdur. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğinden laboratuvarımıza Turner Sendromu ön tanısıyla gönderilen hastamızın 46,X,i(Xq) karyotipinde olduğu saptandı. 46,X,i(Xq) Turner Sendromunun yapısal kromozom düzensizliği gösteren grubunda yer alır. Turner sendromlular içinde % 15 gibi küçük bir grubu oluşturmaktadır. 15 Yaşındaki olgumuz 134 cm boyunda ve 37 kg ağırlığında. Boy kısalığına el ve ayak parmaklarındaki kısalık eşlik ediyor. Düşük saç çizgisi dış genitaler normal. Abdominal Ultrasonografide at nalı böbrek belirlendi. At nalı böbrek Klasik Turner sendromunun klinik bulguları içinde yer almakla beraber 46,X,i(Xq) grupta nadiren görülen bir anomalidir.

At nalı böbrek; Böbreklerde doğuştan itibaren görülen bir füzyon anomalisi olup böbrek orta çizgisiyle alt kutuplar arasında parankimal bir daralan bir bölge içerir. İki böbrek birleşerek at nalı şeklini almıştır.

Böbreklerle idrar torbası arasında yer alan üreterler, bu daralan bölgenin ön ve iç tarafından geçer. Bu nedenle ikincil tıkanmalara neden olarak üreterden idrar geçişinde problemlere neden olur. 46,X,i(Xq) karyotipiyle karakterize olgumuz klinik yönden değerlendirildi.



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P03]

Ürolojik Kanser Hücre Hatlarında, DNMT1 Wnt/ β -katenin Sinyal Yolağı Hedeflerinden Biri midir?

Nuray Varol¹, Ece Konaç¹, Cenk Yücel Bilen²

¹Gazi Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi, Üroloji Ana Bilim Dalı, Ankara

Amaç: DNA metilasyonu en önemli epigenetik mekanizmalardan biri olup, DNA metiltransferazlar (DNMT) tarafından katalizlenmektedir. Artmış DNMT1 ürogenital sistem tümörlerinde sıklıkla görülmekte, ancak bu artışın nedeni tam olarak bilinmemektedir. Çalışmamızda, ürogenital kanser hücre hatlarında (renal: Caki-2; mesane:T24 ve prostat: PC3) Wnt/ β -katenin sinyal yolağının DNMT1 ifadenmesi üzerine etkisi ve DNMT1 stabilitesinden sorumlu olan UHRF1 ve HAUSP (USP7) enzimlerin değişen ifade düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: GSK3 β inhibitörü olan SB216763'in sitotoksitesi zamana ve doza bağımlı olarak WST1, *WIF-1* geninin metilasyon profili MSP, *CTNNB1* (β -katenin) ve *WIF-1* hedef genlerin ifadenme değişimleri Real-time PCR ve β -katenin, DNMT1, pGSK3 β (Ser9), HAUSP ve UHRF1 protein düzeyleri western blot yöntemleri kullanılarak belirlendi.

Sonuçlar ve Yorum: Bulgularımıza göre, SB216763 düşük dozda hücre proliferasyonunun artışına neden olmaktadır. SB216763 uygulaması sonrasında *CTNNB1* mRNA ($p < 0.001$); β -katenin, pGSK3 β (Ser9) ve DNMT1'in ise protein düzeylerinde artış belirlendi. Kanser hücre tipine bağlı olarak aynı dozlarda HAUSP ve UHRF1 up-regüle veya down-regüle olduğu gözlemlendi. Ayrıca, DNMT1 inhibitörü olan DAC muamelesini takiben *WIF-1* geninin tekrardan ifadenmesini takiben, DNMT1, β -katenin, HAUSP ve UHRF1 protein düzeylerinde azalma belirlendi. β -katenin sinyal yolağı Caki-2 hücrelerinde DNMT1 kararlılığından sorumlu görüldü de; T24 ve PC3 hücrelerinde bu ilişki saptanmamıştır. Sonuç olarak, Wnt/ β -katenin sinyal yolağının DNMT1 geni ve regülasyonu üzerine etkilerinin belirlenmesi, yeni moleküler hedeflerin tanımlanmasına katkı sağlayabilecektir.

Gazi Ü. Bilimsel Araştırma Projelerini Destekleme Programı-Proje No: 01/2013-06 tarafından desteklenmiştir.



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P04]

Prostat Kanseri Hastalarında HOXB13 Geni Mutasyonları

Davut Alptekin¹, Mehmet Ali Erkoç¹, Fatih Gökalp², Müzeyyen İzmirli³, Nermin Seda Ilgaz¹, Nihat Satar², Hüsnü Ümit Lüleyap¹

¹Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Adana

²Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Adana

³Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Adana

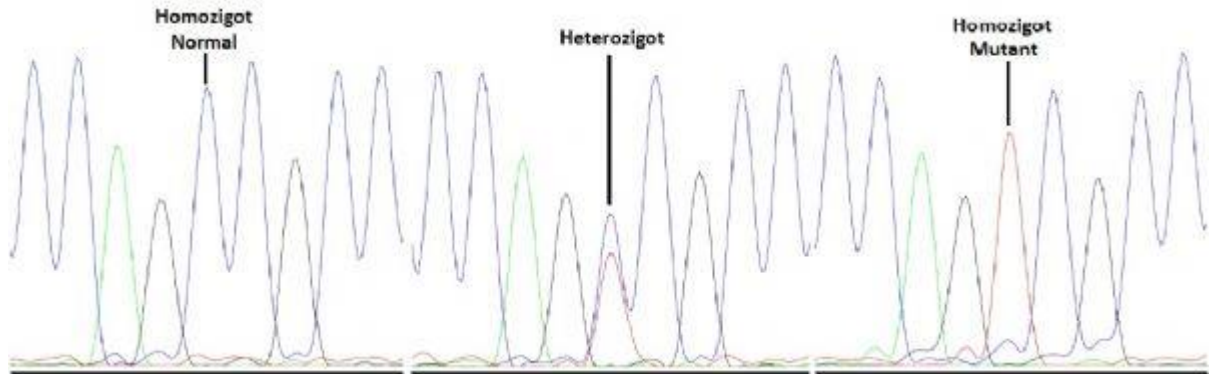
Prostat kanseri, Dünya genelinde akciğer kanserinden sonra erkeklerde en sık görülen ikinci kanser türüdür. Prostat kanseri olan erkeklerin yaklaşık %10'u bir veya daha fazla akraba öyküsüne sahiptir. Birinci derece de akrabası prostat kanseri olan bireylerin diğerlerinden 2-3 kat daha bu hastalığa yakalanma riski vardır. Prostat kanserinin kromozom 17q21-22 üzerinde yer alan Homeobox (HOX) gen ailesi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Homeobox geninin transkripsiyonu sonucu oluşan proteinin prostat kanserinin oluşumunda rol oynayan Androjen Reseptör Geni gibi hedef genlerin transkripsiyonunu düzenleme de önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. HOXB13 geni HOX gen ailesinin en önemli 5 üyesinden biri olup Homeobox 13'ün protein kodlayan gendeki kodon G84E (kodlanan bölgenin 407. bazı G→A değişimi) mutasyonunun prostat kanseri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada prostat kanseri hastalarının HOXB13 geni ekzon 1 ve 2 de ki mutasyonlarının prostat kanseri ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada; 47 prostat kanseri hastasından alınan kanlardan DNA izolasyonu yapılarak PCR tekniğine dayalı sekans analizi yapıldı. HOXB13 geni ekzon 1 ve 2'nin iki bölgesi 2 çift primer kullanılarak PCR ile çoğaltıldı. ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer'da analiz edildi.

Çalışma sonucunda G84E mutasyonu bulunmadı. Ancak kodlanan bölgenin 366. bazında 47 hastanın 33'ü normal homozigot (CC) genotipe sahip iken, 13 hastanın heterozigot (CT), bir hastanın ise mutant homozigot (TT) genotipe sahip olduğu bulundu (Şekil 1). 411. bazında ise 46 hasta normal homozigot (CC) genotipe sahip iken bir hastanın mutant heterozigot (CT) genotipe sahip olduğu bulundu. 513. bazında ise 33 hasta normal homozigot (TT), 11 hasta heterozigot (TC), 3 hasta ise mutant homozigot (CC) genotipe sahip olduğu bulundu. İkinci ekzonda mutasyona rastlanılmadı.

Sonuç olarak; HOXB13 geni ekzon 1'deki kodlanan bölgenin 366 ve 513. bazındaki değişiminin polimorfizm gösterdiği, amino asit değişimine neden olmadığı bu nedenle prostat kanseri ile ilişkili olmadığı ancak 411. bazdaki değişimin prostat kanseri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Şekil 1. Birinci ekzondaki 366. baz değişimi.





I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P05]

Renal hücreli karsinomda bazı tümör supressör, hücre döngüsü ve apoptotik genlerin mRNA düzeyinde karşılaştırmalı analizi

Ece Konaç¹, Ebru Alp², H. İlke Önen¹, Ali Furkan Batur³, İyimser Üre⁴, İpek Işık Gönül⁵, Sevda Menevşe¹, Sinan Sözen⁶

¹Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, 06510, Ankara

²Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, 28200, Giresun

³Sincan Devlet Hastanesi, Üroloji Kliniği, 06932, Ankara

⁴Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji AD, 26040, Eskişehir

⁵Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD, 06510, Ankara

⁶Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji AD, 06510, Ankara

Famlyal ve birçok sporadik renal hücreli karsinomda (RHK) Von Hippel-Lindau (VHL) tümör supressör genindeki ekspresyon değişimleri hücre çoğalmasında görev alan genlerin ifadesinde kontrol kaybıyla sonuçlanır. Matriks metalloproteinaz (MMP)'lar ve inhibitörleri (TIMP) ekstrasellüler matriks homeostazının sürdürülmesinde önemli rol oynarlar. RASSF1A insanlarda görülen birçok malignensilerde epigenetik olarak susturulmuş bir tümör baskılayıcı genidir. Anti-apoptotik proteinlerin ifade düzeyinin fazlalığı hastalığın tedaviye direnç göstermesine neden olmaktadır. Çalışmamızda, RHK'unda VHL, TIMP-3, RASSF1A, siklin D1 (CCND1), BCL2L1 ve BCL2 mRNA düzeyindeki ifadelerini araştırmayı amaçladık.

Neoadjuvan tedavi almamış 69 RHK olgusunun radikal nefrektomi spesimenlerindeki ayrı lokalizasyonlardan alındıktan sonra benign ve malign oldukları histopatolojik olarak doğrulanmasını takiben toplam 69 böbrek kanserli hasta (138 doku örneği) çalışma grubuna dahil edildi. Çalışmada genel olarak dokudan RNA izolasyonu, Revers transkriptaz PCR (RT-PCR), Kantitatif Real Time PCR yapıldı. mRNA ifade edilme düzeylerini normalize etmek için GAPDH housekeeping geni kullanıldı.

Malign doku normal doku ile karşılaştırıldığında TIMP3 tümör dokusunda 1.3 kat, RASSF1A 1.4 kat artış göstermesine rağmen istatistiksel olarak herhangi bir farklılık bulunmadı. Diğer yandan, malign dokuda VHL gen ifade düzeyinde ise normal dokuya göre 2.8 kat artış saptandı ($p < 0.05$). Onkositom olgularında ise TIMP3 kendi sağlıklı dokusuna göre 3.2 kat, RASSF1A 3.8 kat arttığı; VHL'nin ise 2.2 kat azaldığı belirlenmiştir ($p < 0.05$). Tümör ve normal doku örneklerine ait sonuçlar karşılaştırıldığında, hastaların tümör dokularında BCL2L1 3.53 kat, CCND1 2.82 kat, BCL2 1.96 kat artış belirlenmiştir ($p < 0.05$). Araştırılan genlerin ifadenme düzeyleri ile hastaların klinik özellikleri arasında uyumlu bir ilişki saptanmıştır.

Renal hücreli böbrek kanseri gelişiminde bahsedilen gen ve ürünlerinin rolleri hastalığın moleküler temelini aydınlatılmasında ilgili genlerin proteomik ve epigenetik profillerini belirlemek suretiyle, erken tanı olanaklarının öngörüsünün sağlanabilmesinde ve buna bağlı post-op hastalık takibinin etkin şekilde yapılabilmesinde fikir verebileceği düşüncesindeyiz.



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P06]

Türk toplumunda apoptoz bağlantılı fas ve fasl genlerinin işlevsel genetik varyantları ile mesane kanserinin ilişkisi

Levent Verim¹, Özlem Timirci Kahraman², Habib Akbulut³, Alpaslan Akbaş⁴, Tülin Öztürk⁵, Saime Turan², İlhan Yaylım², Turgay İsbir⁶

¹Haydarpaşa Numune EA Hastanesi Üroloji kliniği, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi Moleküler Tıp Departmanı DETAE, İstanbul

³Bezmi Alem Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Departmanı, İstanbul

⁴Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Departmanı, Çanakkale

⁵İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Departmanı, İstanbul

⁶Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Biyoloji Departmanı, İstanbul

Araştırma konumuz olan FAS; aynı zamanda Tümör Nekroz Faktörü Reseptörü Süper Ailesi-6 (TNFRSF-6), CD95 veya APO-1 olarak da bilinen, çeşitli dokulardan salgılanan bir hücre yüzey reseptörü olup ölüm reseptörleri ailesinin potent bir üyesidir. TNFSF6/CD95LG olarak da adlandırılan Fas Ligand (FASL) ise yine TNF super ailesine ait bir tip-II transmembran proteindir. FASL ve onun yüzey reseptörü FAS'ın etkileşimi, apoptotik hücre ölümü ile sonuçlanan ölüm sinyali döngüsünü aktive eder.

Bu çalışmada, toplumumuzda ilk kez, apoptoz ile bağlantılı FAS ve FASL genlerinin işlevsel polimorfizminin mesane kanseri oluşumundaki rollerinin araştırılması amaçlanmıştır. 91 mesane kanserli hastanın ve 101 sağlıklı gönüllünün PCR ve RFLP analizi ile FAS-1377 G/A ve FASL-844 T/C gen polimorfizmleri için genotipleri hazırlanarak değerlendirilmiştir. Mesane kanserlilerde FAS-1377 G allel frekansı kontrol olgularının bulguları ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$) (Şekil 1). FASL-844 ün T allel taşıyan grubu homozigot FASL-844 CC genotipi ile karşılaştırıldığında önemli derecede mesane kanseri gelişme riski olduğu bulunmuştur ($p = 0,0027$) (Şekil 2). FAS-1377 GG genotipi ve FASL-844 alleli birbirinden bağımsız olarak artmış mesane kanseri riski ile bağlantılı olduğu saptandı. Ayrıca, gen ile gen etkileşimi analizi değerlendirildiğinde, FAS-1377AA ile FASL-844 TC frekanslarının mesane kanserli olgularda kontrol grubu bireylerine göre belirgin derecede düşük olduğu saptandı ($p < 0.001$) (Şekil 3). Bu çalışmanın bulgularının ışığında, FAS-1377G ve FASL-844 T allellerinin Türk toplumundaki mesane kanseri gelişiminde düşük penetrasyonlu risk faktörü olduğu sonucuna varılmıştır. Yine elimizdeki bulgulara göre, FAS 1377AA ve FASL 844 TC gen kombinasyonunun mesane kanserine karşı koruyucu etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Genler arası etkileşim için toplumsal bazlı daha geniş serilerde araştırmalara gereksinim vardır.

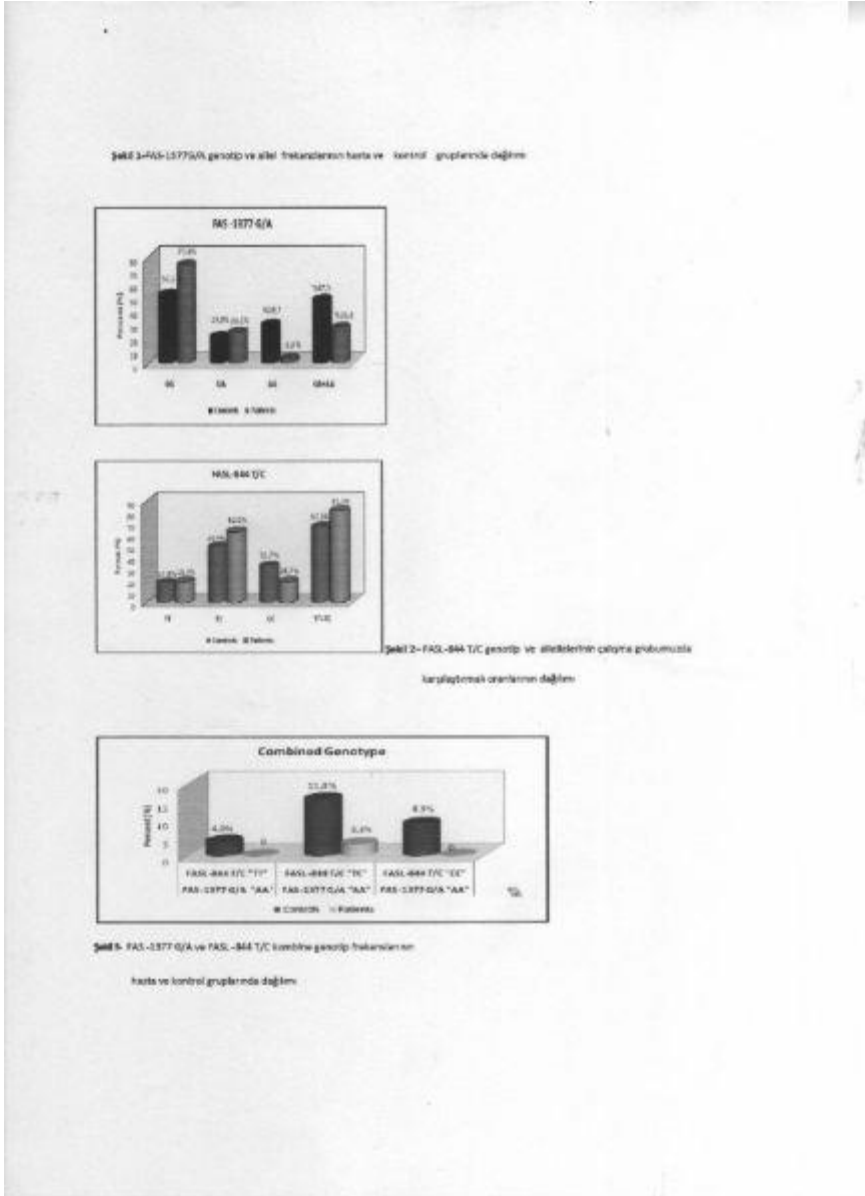


I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

şekil3



posterde mevcut üç şekil



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P07]

Sisplatin ve proteozom inhibitörü bortezomib'in insan mesane kanser hücrelerindeki sinerjistik etkisi

Ece Konaç¹, Nuray Varol¹, İlker Kılıçcıoğlu¹, Cenk Y. Bilen²

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD., 06510, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD., 06100, Ankara

Sisplatin günümüzde kullanılan etkili bir anti-tümör ajan olup yaygın olarak farklı epitelyal orijinli tümörlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak, uzun süreli terapilerde direnç gelişimi sıkça görülen ve tedavide başarıyı engelleyen bir nedendir. Bu direnç mekanizmalarından biri azalmış apoptotik yanıttır. Mesane kanserini de içeren çok çeşitli kanser türlerinde sıklıkla Bcl-2 ifadenme düzeyi artmış olup sisplatin direnç gelişim mekanizmalarından birisi olarak tanımlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda proteozom inhibisyonunun hücre içerisinde artmış pro-apoptotik protein birikimine yol açarak hücreleri apoptoza yönlendirdiği gösterilmiştir. Çalışmamızda, sisplatin'in proteozom inhibitörü ile birlikte kullanımının dirence neden olan Bcl-2 üzerindeki etkisinin araştırılmasını amaçladık. Bu bağlamda, sisplatin (0-20 μ M) ve proteozom inhibitörü (0-300nM)'nin T24 insan mesane kanser hücre hattı üzerine sitotoksik etkisi zamana ve doza bağımlı WST-1; BCL-2 ve BCLxL hedef genlerinin ifadenme düzeyleri Real-time PCR; aktif kaspaz 3 protein düzeyi ELISA ve Bcl-2, BclxL, Bim, Bik, Kaspaz 8 ve Kaspaz 9 protein düzeyleri western blot yöntemleri kullanılarak belirlendi. Bulgularımıza göre, sisplatin ve proteozom inhibitörünün tek başlarına kullanımına nazaran kombinasyonlarının anti-apoptotik proteinler Bcl-2 ve BclxL'yi kontrole göre azalttığı gözlemlendi. Bununla birlikte pro-apoptotik proteinler Bim ve Bik ile Kaspazlar (Kaspaz3, Kaspaz8 ve Kaspaz9)'ın kontrole nazaran ekspresyonlarının arttığı belirlendi. Sonuç olarak; sisplatinin proteozom inhibitörü ile kombinasyonu tümör hücre proliferasyonunun kuvvetli inhibisyonunda sinerjistik etki sağlayabilmekte ve sisplatin direncinin engellenmesinde yeni moleküler hedeflerden biri olabileceğini düşünmekteyiz.



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P08]

LNCaP ve PC3 Hücre Hatlarında Proteazom ve Histon Deasetilaz İnhibisyonunun NFκB Yolağı Üzerine Etkisinin Araştırılması

İlker Kılıçcioğlu¹, Ece Konaç¹, Nuray Varol¹, Serhat Gürocak², Cenk Y. Bilen³

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, 06510, Ankara

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, 06510, Ankara; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD, 06510, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD, 06100, Ankara

Amaç: Androjen-bağımlı evreden metastatik androjen-bağımsız evreye geçiş olan kastrasyona dirençli prostat kanserinin tedavi sürecinde kanser hücreleri belli bir aşamadan sonra radyoterapi ve çeşitli kemoterapötiklere direnç geliştirmektedir. Çalışmamızda, insan prostat kanserli hücre hatları olan LNCaP ve PC3 hücrelerinde proteazom inhibitörü bortezomib (Velcade/PS-341) ve histon deasetilaz (HDAC) inhibitörü trichostatin A (TSA) ilaçlarının tekli ve/veya kombine dozlarının uygulanmasıyla NFκB yolağı üzerinden apoptotik etkiyi nasıl düzenleyebileceğini araştırdık.

Yöntem: Bu ilaçların hücre canlılığı üzerine olan etkileri WST-1; Kaspaz 3 ve IκBα genlerinin ifadenme değişiklikleri Real-time PCR ve western blot yöntemleri ile belirlendi. Ayrıca PC3 hücre hatlarında Bcl-2, Bcl-xl, Bim ve Bik proteinlerindeki ekspresyon değişiklikleri western blot yöntemi ile belirlendi.

Sonuçlar ve Yorum: İlaçların hücre canlılığını azaltıcı etkisine kombine dozlarda daha düşük doz ve sürede ulaşılrken, her iki hücre hattında da kaspaz 3 aktivasyonu düzeyinde anlamlı artış olduğu saptandı ($p < 0.05$). Bortezomib uygulanmasıyla NFκB inhibitörü IκBα birikimi, PC3 hücrelerinde tekli/kombine dozlarda anlamlı olarak gözlenirken, LNCaP hücrelerinde bu birikimi göremedik. Bortezomib uyguladığımız PC3 hücre hatlarında IκBα fosforilasyonunu gözlemlerken, LNCaP hücrelerinde göremedik. Bu fosforilasyonu özellikle prostat kanserinin metastatik invaziv formu olan ve androjenden bağımsız gelişen PC3 hücrelerinde görmemiz oldukça anlamlı olmuştur. Bu nedenle proteazom inhibisyonu indüklü IκBα degradasyonunun önlenmesi, NFκB yolağının hedef genlerinin aktive edilmemesi ve dolayısı ile apoptoza gidış sürecinin hızlanması açısından oldukça önemlidir. PC3 hücrelerine uyguladığımız çeşitli dozlarda pro-apoptotik Bim ve Bik proteinlerinin ekspresyon düzeylerinin artması hücrelerin apoptotik potansiyelinin de arttığını göstermiştir. Buna ek olarak Bcl-2 ve Bcl-xl anti-apoptotik proteinlerinde beklenen ekspresyon azalışını yalnızca kombine dozlarda gözlemledik. Bortezomib ve TSA arasındaki sinerji tümör baskılayıcıları uyararak apoptozu indüklemesi Bcl-2 ve Bcl-xl proteinlerindeki ifadenme azalışına neden olmuş olabilir. Sonuç olarak, elde ettiğimiz bulgular proteazom inhibisyonunun anti-apoptotik NFκB yolağının baskılanmasında önemli olduğunu göstermiştir.

Gazi Ü. Bilimsel Araştırma Projelerini Destekleme Programı-Proje No: 01/2012-47 tarafından desteklenmiştir.



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P09]

Açıklanamayan İnfertilitede Sperm MTHFR Gen Promotoru Hipermetilasyonu

Müjdegül Karaca¹, Ece Konaç¹, Buket Yurteri¹, Gürkan Bozdağ², Cenk Yücel Bilen³

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Ankara

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD., Ankara

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD., Ankara

Sperm DNA'sında MTHFR gen promotoru hipermetilasyonunun oligoastenoteratozoospermi (OAT) ve rekürren abortus vakalarında daha sık görüldüğü bilinmektedir. Sperm DNA metilasyon bozuklukları ayrıca başarısız ivf sonuçlarıyla da ilişkilidir. Bu çalışmada OAT olmaksızın sperm DNA'sında MTHFR gen promotoru hipermetilasyonunun infertilite ile ilişkisi olup olmadığının belirlenmesi hedeflenmiştir.

Çalışma, prospektif vaka kontrol çalışması olarak dizayn edilmiştir. Çalışma grubu, açıklanamayan infertilite tanısı konan 40 adet 20-40 yaş arası olgu ve kontrol grubu, benzer demografik özelliklerde 40 adet fertil birey olarak belirlenmiştir. Sperm DNA izolasyonu yapıldıktan sonra bisülfid spesifik PCR yöntemiyle metilasyon oranı tayin edilmiştir. Her iki grubun metilasyon oranları karşılaştırılmıştır.

Çalışma grubunda MTHFR gen promotoru hipermetilasyonu olan 11 birey (%27.5) saptanırken, kontrol grubunda hipermetilasyon tespit edilmemiştir. Açıklanamayan infertilite ile MTHFR gen promotoru hipermetilasyonu arasında anlamlı bir korelasyon ($p>0.05$) tespit edilmiştir.

Sperm epigenetik değişikliklerinin sayısı ve morfoloji anomalisi olmasa bile fertilité üzerinde etkisi bulunmaktadır. Erken embriyogenezde kritik rolü olan metilasyon, açıklanamayan bir çok ivf başarısızlığının altında yatan neden olabilir. Sperm metilasyon analizleri erkek subfertilitesinin etyolojisinin aydınlatılması ve infertilite tedavisinin geleceğinde potansiyel bir yol gösterici olabilir.



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P10]

Yüzeyel Mesane Kanseri ve MEFV Gen Değişimleri

Hikmet Köseoğlu¹, Filiz Özdemir², Ramazan Yavuz Akman¹, Ayşe Nur Buyru²

¹Başkent Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji ABD

²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD

Giriş Bazı kanser tiplerinde MEFV gen mutasyonlarının ilişkili olabileceği öne sürülmüştür.

Çalışmamızda yüzeyel mesane kanseri (TCC) hastalarında MEFV gen değişimleri ve bu gen değişimlerinin yüzeyel mesane kanseri klinik özellikleri ile olası ilişkisi araştırıldı.

Metod Aralık 2013- Temmuz 2014 tarihleri arasında TUR-MT uygulanan ve patolojisi yüzeyel mesane kanseri ile uyumlu gelen ve izlemdeki yüzeyel mesane kanseri hastalarından çalışmaya katılmaya onay verenlerden periferik venöz kan alınarak lenfosit DNA'ları izole edildi. MEFV geninin en sık mutasyona uğrayan 2,3,5 ve 10. eksonları analiz edildi. Gen değişim oranları tespit edilerek mesane kanseri kliniko-patolojik özellikleri ile olası ilişkisi değerlendirildi.

Bulgular Toplam 49 olgu değerlendirilmeye alındı. Olguların % 67' si erkek ve % 33' ü kadın hasta idi. Yaş ortalaması 69,1± 11,3 yıl idi. Hastaların %41'inde kan örnekleme TUR-MT öncesinde, diğer % 59 hastanın kan örneklemeleri takip sistoskopileri ve/veya nüks TUR-MT öncesinde alınmıştır. Takipli hastaların ortalama izlem süreleri 31,6 ± 18,6 ay idi. İzlem hastalarındaki nüks oranı % 35 idi. Hastaların %84'ü aktif sigara içicisi veya sigara öyküsü pozitif idi. Sigara tüketim miktarı 43,3±29,1 paket-yıl idi. Hastaların % 6'sında sekonder ürolojik kanser (prostat kanseri) mevcuttu. % 65 tek odaklı tümörler mevcut olup ortalama tümör çapı 17,0±12,1 mm idi. Olgular %69 pTa ve % 31 pT1 idi. Histolojik dereceleri % 16,7 PUNLMP, % 45,8 düşük derece ve % 37,5 yüksek dereceli saptandı.

MEFV geni analizlerinde %16 MEFV gen mutasyonu saptandı. Bir SNP olan R202Q polimorfizmi hastaların % 41 'inde saptandı. MEFV geni mutasyon alelleri ve dağılımları sırasıyla V726A (%4,1), R761H (%4,1), E148Q (%4,1), V487M (%2), ve K695R (%2) olarak saptandı. Gen değişimleri içinde R202Q polimorfizmi istatistiksel anlamlı olarak en sık görülen MEFV gen değişimidir. MEFV mutasyonları ile mesane kanseri pT evresi, histolojik derece ve odak sayısı (1 vs ≥2 odak) arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Genel popülasyonda nadir görülen V487M mutasyonu %2 oranında saptanmıştır. Takip hastalarının takipteki nüks varlığı ile R202Q polimorfizm varlığı arasında anlamlı korelasyon (Spearman korelasyon katsayısı: 0,454 p=0,013) saptanmıştır. Sonuç MEFV geni mutasyonu ile yüzeyel mesane kanseri kliniko-patolojik özellikleri arasında belirgin ilişki saptanmamıştır. Sadece takip hastalarının takipteki nüks varlığı ile R202Q polimorfizmi arasında anlamlı ilişki saptandı.



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P11]

Yeni nesil DNA dizileme tekniği ile multifokal mesane tümörlerinin kökeninin belirlenmesi

Ömer Acar¹, Ezgi Özkurt², Gülfem Demir², Hilal Saraç³, Can Alkan⁴, Tarık Esen³, Mehmet Somel², Nathan Lack³

¹VKV Amerikan Hastanesi, Üroloji Bölümü, İstanbul

²Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

³Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul

⁴Bilkent Üniversitesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Ankara

Giriş-Amaç: Multifokal mesane tümörlerinin kökenini açıklamak için iki temel teori ortaya konmuştur. "Klonal" hipoteze göre; birinci tümör odağından açığa çıkan hücreler intratümöral/intraepitelyal migrasyon yolu ile farklı bir lokalizasyonda tümör gelişmesine neden olmaktadır. "Alan" hipotezinde ise; karsinojenik süreci tetikleyen bir uyarı ile ürotelyal hücre gruplarında gelişen genetik mutasyonların farklı odaklarda senkron tümör gelişimi ile sonuçlandığı savunulmuştur. Her iki teorinin de birbirinden farklı genetik altyapıları olabileceği varsayımına dayanarak yeni nesil DNA dizileme tekniği ile multifokalitenin sebebinin açıklanmaya çalıştık.

Materyal-Method: Tanı anında multifokal mesane tümörü olan 1 hastadan, transüretral rezeksiyon sırasında örneklem yapıldı. Tümör odaklarının bazal ve periferik kısımları (2 tümör odağı, 4 doku örneği) ile beraber normal mukoza (1 doku örneği) örnekledi. Elde edilen doku örneklerinin ekzomları yeni nesil DNA dizileme tekniği kullanılarak incelendi.

Bulgular: Tanımlanan toplam 1935 tek nükleotid varyantının (TNV) 873'ünün normal mukoza dahil bütün doku örneklerinde bulunduğu tespit edildi. Geri kalan 872 TNV'nin ise tümöral doku örneklerinin en azından birinde var olduğu ve normal mukozada bulunmadığı saptandı. Bu kanser ilişkili mutasyonların %50'sinden fazlasının (477/872) farklı lokasyonlardan elde edilmiş olan bütün tümör örnekleri tarafından paylaşıldığı saptandı.

1935 adet TNV'nin 307'sinin (%15.9) protein dizilimi ve yapısı üzerinde fonksiyonel etkisinin olabileceği tespit edildi. Tümör odakları tarafından paylaşılan TNV'lerdeki fonksiyonellik sıklığı, bütün örneklerde var olan TNV'lerdekinden %58 oranında daha fazlaydı ($p=0.0002$).

Popülasyon genetik modelinde; tümör odaklarının klonal hipoteze uygun bir şekilde oluştuğunu destekleyen bulgular tespit edildi. Dahası, tümöral dokulardaki mutasyonlarda, normal dokudakine kıyasla 4.4 kat daha fazla oranda TpC mutasyonu olduğu saptandı. Tümöral odakların hepsi tarafından paylaşılan öncül mutasyonların, karsinogenezin daha sonraki aşamalarında yer alan mutasyonlara göre daha fazla sayıda TpC mutasyonu barındırdığı (%25.3 vs. %14.6, $p=0.003$) kaydedildi.

Sonuç: Multifokal mesane tümörleri, klonal hipotezi destekler biçimde, birbirlerine yüksek oranda benzerlik gösteren genetik altyapıya sahiptir. Tümöral odaklar tarafından paylaşılan öncül karsinogenetik mutasyonlar APOBEC enzim hiperaktivitesi ile ilişkili olabilir.



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P12]

Türkiyede mesane kanseri ile NOS3 geni GLU298ASP polimorfizmi arasındaki ilişki

Levent Verim¹, Bahar Toptaş², Nazlı Ezgi Özkan², Canan Cacina², Saime Turan², Gurbet Korkmaz², İlhan Yaylım²

¹Haydarpaşa Numune EA Hastanesi Üroloji kliniği, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi Moleküler Tıp Anabilim Dalı, DETAE, İstanbul

Bu çalışmanın amacı, NOS3 G894T polimorfizminin mesane kanseri için bir risk faktörü olarak değerlendirilip değerlendirilemeyeceğine ışık tutmaktır.

Nitrik oksid (NO) endotelial hücrelerden salınan kısa ömürlü bir küçük molekül olup vazodilatasyon, düz kas gevşemesi, başışıklık vb fizyolojik fonksiyonlarda rol alır. Ancak NO yüksek miktarlarda salındığında, dokuları serbest radikallerin etkilerinden koruyabilir. NO ve türevleri bazı durumlarda DNA hasarı ve p53 ün tümör baskılayıcı işlevlerini azaltarak kanser gelişimine neden olabilmektedirler. L-Arjininden NO üretiminden Nitrik Asit Sentaz (NOS) sorumludur. Vücutta endotelial NOS (eNOS) ve nöronal NOS (n NOS) olarak iki tür NOS vardır. eNOS'un, NOS3 geni tarafından kodlanıp, mesane tümörü endotelial hücrelerinden salındığı bilinmektedir. NOS3 G894T polimorfizminin koroner arter hastalığı, hipertansiyon da olduğu gibi bazı kanserlerle de bağlantılı olduğu düşünülmektedir ancak risk faktörü olduğu henüz tartışmalıdır.

Bu çalışmada yaş ve cinsiyet dağılımı benzerlik gösteren 66 mesane kanserli hasta ile 88 sağlıklı gönüllüde NOS3 G894T gen polimorfizmi araştırıldı. Genomik DNA kan örneklerinden tüzetilme tekniği ile ekstrakte edildi. Ekstrakte DNA, PCR ile amplifiye edildi. Genotipleme için "PCR-restriksiyon uzunluk fragmanı polimorfizmi" (PCR-RFLP) tekniği kullanıldı.

Araştırmamızda NOS3 Glu298Asp genotip ve allel frekanslarına göre, mesane kanserli hastalar ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.0002$, $p=0.0029$, sırasıyla). GT frekansı, mesane kanserlilerde, kontrollere göre 1.7 kat fazla bulunmuştur ($p=0.0002$). GT genotipi olan hastalar arasında, senede 30 paketten fazla sigara içenlerde belirgin oranda mesane kanseri gelişme riski saptanmıştır [$p=0.04$, $OR=1,35(0.982-1.855)$]. Bunun yanısıra, GG genotipi taşıyan hastalarda diğer genotiplere göre 3.3 kat daha az mesane kanseri riski olduğu saptandı [$p<0.0001$, $OR=0.301(0.141-0.641)$]. Mesane kanseri ile yaş, cinsiyet, alkol kullanımı veya hastalık evresi ile önemli bir bağlantısı saptanmadı.

Bu çalışmada, Türk mesane kanserli hastalarda ilk kez NOS3 Glu298Asp genpolimorfizmi araştırılmıştır. Sonuç olarak toplumumuzda NOS3 Glu298Asp genotiplemesinin mesane kanseri gelişme yatkinlığına yorum getirmede yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Çalışmanın daha geniş bir hasta grubunda tekrarlanması eldeki verileri kuvvetlendirecektir



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

resim

		Hastalar	Kontrol	OR	95%CI
Genotip	GG	7 (10.6)	31(35.1)	0.30	0.14-0.64
	GT	49(74.2)	44(50)	1.48	1.15-1.91
	TT	13 (14.8) 10(15.2)	13(14.1)	1.02	0.48-2.19
P Value		P=0.002			
Alleller	G	63 (47.7)	106(39.8)		
	T	69 (52.3)	70(39.8)		
P Value		P=0.029			

Mesane kanserli hastalar ve kontrol grubunda NOS3 Glu298Asp için Genotipler ve Allellerin frekansları



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P13]

Erkek İnfertilitesinden Sorumlu Y Kromozomu Mikrodelesyonlarının Saptanmasına Yönelik Moleküler Genetik Tanı Kiti

Çetin Kocaefe

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.

Korunmasız cinsel yaşam sürdüren çiftlerin %90'ı ikinci senenin sonunca çocuk sahibi olabilmektedir. Bu durumun olmaması hali, infertilite (kısırlık) olarak adlandırılmaktadır. İnfertilite olgularının %15-20'sinde altta yatan bir neden saptanamazken, saptanabilen durumların %50'si kadın %50'si de erkekten köken almaktadır. Erkek tipi infertilitenin tanısında sperm analizlerinden yararlanılabilmektedir. Spermiyogram analizi, sperm nitelik ve niceliği ile ilgili bilgi verebilmektedir. Erkek sperm sayısında gözlenen bozukluklar oligospermi (azlık) ve azospermi (hiç olmaması) olarak adlandırılmaktadır. Bu durumdaki hastalarında %20'sinde Y kromozomunda mikrodelesyonlar saptanmaktadır. Bu Y kromozomu mikrodelesyonları tanısı aile planlaması ve uygun yardımcı üreme tekniklerinin seçilebilmesi için önemlidir. Ülkemizde Y-kromozomu mikrodelesyonlarını saptamak amacı ile sınırlı sayıda genetik bölgeyi kapsayan ve yurt dışından ithal edilen tanı kitleri kullanılmaktadır. Bu çalışma kapsamında geliştirilen yeni bir tanı kiti ile tek seferde birden çok gen bölgesinin bir arada incelenebilmesi sağlanmıştır. Tarafımızca geliştirilmiş olan bu tanı kiti, en güçlü yönü olan in silico primer tasarımı sayesinde çoklu (multipleks) polimeraz zincir reaksiyonu yaklaşımı kullanarak Y-kromozomunda delesyon gözlenen birden çok bölgeyi bir arada çoğaltarak analizi mümkün kılmaktadır. Bu amaca yönelik olarak geliştirme süreci tamamlanmış olan kısmı ile Y kromozomunda mikrodelesyondan sorumlu 3 farklı bölgede 13 farklı lokusun taraması gerçekleştirilebilmektedir. Mevcut hali ile geliştirilmiş olan bu tanı kiti, dünyada genel kullanımda olan benzerlerine üstünlük sağlayabilmekte, 3 farklı lokusun daha ilavesi ile benzerlerinden daha üstün bir hale de gelebilecektir. Bu tanı kiti, moleküler tanıda dışa bağımlılığın önlenmesi, düşük maliyetli ve topluma özgü tanı hizmeti sağlanması amacıyla üretim ve geliştirme sürecindedir. Bu tanı kiti, Avrupa Birliği Genetik Testler Çerçeve Standartları (EEA/EMQN) minimum kriterlerinin çok üzerinde, düşük maliyetli ve yaygın uygulamaya hazırdır. Ülkemizin, dış pazarda rekabet şansı olan, özgün fikri mülkiyet hakları kazandırmayı amaçlayan ve yurt dışına bağımlılığı da ortadan kaldırmayı hedefleyen bu tanı kitinin tamamlanması sürecinde yaygın kullanıma sunulabilmesi için moleküler üroloji, tıbbi biyoloji ve genetik camialarının katılımı ile farkındalık yaratma ve yaygın kullanıma yönelik çok merkezli uygulama projesi başlatma amacıyla sunulmuştur.



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P14]

Yaşlanmanın Erkek Üreme Sistemi Üzerine Etkileri

Gülgeç Neslihan Taşkurt¹, Sezgin Güneş¹, Ramazan Aşçı²

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Samsun

Amaç: Yaşlanma, tüm ökaryotik canlılarda görülen, organizmanın molekül, hücre, doku, organ ve sistemler düzeyinde meydana gelen değişikliklerdir. Günümüzde çiftlerin çoğunlukla sosyoekonomik nedenlerle çocuk sahibi olmayı ertelemeleri, yaşlanmanın üreme sistemi üzerine etkilerinin araştırılmasının önemini arttırmıştır. Bildiride yaşlanmanın erkek üreme sistemi üzerine etkilerinin özetlenmesi ve bu etkilere yol açan mekanizmaların tartışılması amaçlandı.

Yöntem: PubMed yayınları ilgili anahtar kelimelerle tarandı.

Bulgular: Yaşlanma erkek cinsiyet organlarında işlevsel, hacimsel ve histolojik değişimlere yol açarken, spermatozoada da genetik ve epigenetik değişimlere neden olur. Semen konsantrasyonu, sperm sayısı, üretimi ve kalitesi yaşlanmayla birlikte değişir. Reaktif oksijen türleri ve çevresel faktörler oksidatif stresi artırır. Artan oksidatif stres spermatozoada DNA hasarına neden olur. Ayrıca, hipotalamo-hipofizier-gonadal aks ve üreme ile ilgili fonksiyonlar yaşlanmadan etkilenir. Genel olarak yaşlanmayla birlikte geriye dönüşümü olmayan işlevsel kayıplar meydana gelirken, somatik hücrelerin aksine gamet hücrelerinin kromozomlarının telomerleri kısalmaz. Dolayısıyla yaşlı babaların çocukları tüm kromozomlarda daha uzun telomerlerle doğar.

Sonuç: Paternal yaşlanma, cinsiyet organları ve spermatozoada fizyolojik, genetik ve epigenetik değişikliklere neden olmaktadır. Bu değişimler, cinsiyet organlarını, sperm kalitesi ve sayısını, hipotalamo-hipofiziyal-gonadal aksı etkileyerek erkeklerin üreme fonksiyonları üzerinde rol oynar.

Paternal Yaşlanmanın Etkisi

	Çalışma Grubu	Paternal Yaşlanmanın Etkisi	Referans
Kromozomal Sapmalar	Yaş aralığı: 25-51	Dengeli translokasyon ihtimali her 10 yılda iki katına çıkmıştır (odds ratio (OR) = 2.19, 95% confidence interval (CI) 1.23 to 3.90).	Thomas, 2009
DNA Fragmentasyonu	İnfertil, yaş aralığı: 38±6	%SDF, PA ile pozitif korelasyonlu bulunmuştur (p<0.00001).	Belloc ve ark., 2014
De novo DNA Mutasyon	Yaş aralığı: 22-80	PA ile FGFR3 mutasyonu artmıştır (p<0.001).	Wyrobek ve ark., 2006
Hastalık Riski	Yaş grupları: <24, 25-34, >35	Yarık damak (p=0.037), diafragmatik hernia (p= 0.001), RVOTO (p= 0.002) ve PVS (p= 0.011), multiple veya kompleks defekt (p= 0.007) görülme oranı paternal yaşla artmıştır.	Green ve ark., 2010
Telomer Uzunluğu	Yaş aralığı: 18-68	Sperm telomer uzunluğu her yıl 57 bç artmıştır (p= 0.0002).	Aston ve ark., 2012
Apoptozis	Fertil, yaş aralığı: 20-68	Sperm fosfotidilserin translokasyonu (erken apoptotik biyomarker) ifadesi paternal yaşla birlikte artmıştır (p<0.01).	Colin ve ark., 2010



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P15]

Serum HER-2/neu düzeylerinin mesane tümörlerindeki klinik önemi

Mustafa Bilal Tuna¹, Ömer Burak Argun², Mahir Bülent Özgen³, Yıldız Dinçer⁴

¹Acıbadem Aile Hastanesi

²Acıbadem Maslak Hastanesi

³Sultanbeyli Devlet Hastanesi

⁴İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Giriş-Amaç: Mesane kanseri tanısının erken dönemde konması; sağkalım açısından çok önemli bir faktördür. Bu alandaki tüm gelişmelere rağmen; tanı konması ve rekürrenslerin saptanması için gerekli tanısal belirteçler sınırlıdır. Bu durum mesane kanserli hastalarda; yeni belirteçlere olan ihtiyacı doğurmuştur. Literatürde; serumdaki bazı büyüme faktörlerinin prediktif ve prognostik potansiyelleri olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmamızda; HER-2/neu (sHER-2/neu), insülin benzeri büyüme faktörü(IGF-1) ve epidermal büyüme faktörlerinin(EGF) mesane kanserli hastalarda prediktif rolünün olup olmadığını saptamayı amaçladık.

Materyal-Metod: Mesane tümürlü 37 hasta ve bu hastalarla yaş olarak eşlenik 27 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi. Kan örnekleri operasyondan hemen önce alındı ve sHER-2/neu, IGF-1 ve EGF serum düzeyleri ELISA metodu ile ölçüldü.

Bulgular: Mesane tümürlü hasta grubunda; kontrol grubuna kıyasla serum sHER-2/neu düzeyleri artmış, serum IGF1 düzeyleri ise azalmış olarak bulundu. Serum EGF düzeyleri bakımından; hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Çalışma grubundaki mesane tümörlerinin hepsi yüksek gradeliydi, 3 hastada uzak metastaz tespit edildi. Lokal invazyon, tümör boyutu, metastaz ile serum sHER-2/neu, IGF-1, EGF düzeyleri arasında ilişki saptanmadı. Serum sHER-2/neu'nin prediktif değeri; 37 mesane tümürlü hastadan ve 27 sağlıklı gönüllüden toplanan serum sHER-2/neu değerlerinden, ROC eğrisi kullanılarak hesaplandı. Serum sHER-2/neu düzeyini cut-off olarak 4.7 ng/mL olarak aldığımızda; mesane kanseri tanısının, %100 sensitivite, %78 spesifite, %86 pozitif prediktif değer, %100 negatif prediktif değer ve %90.6 doğrulukla saptandığı görüldü.

Sonuç: Çalışmamızda; mesane kanseri tanısında serum sHER-2/neu kullanışlı bir prediktif belirteç olarak bulundu; ancak IGF-1 ve EGF için böyle bir ilişki tespit edilmedi.

Gruplardaki serum sHER-2/neu, IGF-1 ve EGF düzeyleri

	sHER-2/neu (ng/mL)	IGF-1 (ng/mL)	EGF (pg/mL)
Urinary bladder Cancer group (n=37)	8.4 (5.0 -20.8) ^a	32 (8 -144) ^b	67 (16 -300)
Control group (n=27)	4.0 (1.0 – 12.8)	60 (12-136)	81 (28 – 220)

"a" p=0.000 and "b" p=0.017 versus control group

Hasta ve Tümör Karakteristik Özellikleri

	Mesane Tümürlü Hastalar (n=37)
--	--------------------------------



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

Yaş(yıl)	54(37-21)
Cinsiyet	
Erkek	32
Kadın	5
Tümör Grade'i	
Yüksek	37
Düşük	0
Kas invazyonu olan hastalar	8
Kas invazyonu olmayan hastalar	29
Uzak metastazı olan hastalar	3
Tümör Boyutu	
>3 cm	4
<=3 cm	33



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P16]

Prostat Histopatolojisinde İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 Reseptör Ekspresyonu

Soner Ulusoy¹, Uğur Yücetaş¹, Erkan Erkan¹, Kemal Behzatoğlu², Mustafa Kadıhasanoğlu¹, Ali Ferruh Akay¹, Mahmut Gökhan Toktaş¹

¹İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği

²İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği

Giriş: İleri yaş erkeklerde en sık rastlanan kanser türü olan prostat kanserinin gelişiminde bilinen risk faktörleri (Yaş, kalıtım, vb.) dışında moleküler farklılıklar da suçlanmaktadır. Bunların içinden IGF sinyal yolağındaki bozuklukların, prostat kanseri ile birlikte birçok malignitenin gelişim sürecinde rol aldığını gösteren çalışmalar vardır. Bundan yola çıkarak bu çalışmada normal, premalign ve malign prostat dokularında karşılaştırmalı olarak IGF-1R ekspresyonunu değerlendirerek IGF-1 yolağının prostat adenokarsinomu gelişimindeki önemini ortaya koymaya çalıştık.

Materyal-Metod: Kliniğimizde, 1 Ocak ile 31 Aralık 2013 tarihleri arasında serum PSA yüksekliği ve/veya PRM'de anormal bulgu saptanarak prostat kanseri şüphesi ile TRUS eşliğinde prostat biyopsisi yapılan hastalara ait spesmenler tarandı. İmmünohistokimyasal çalışma için uygun parafin bloğu olan benign, HGPIN ve HGPIN in eşlik ettiği prostatik adenokarsinomu olan toplamda 54 spesmen IGF-1 reseptör ekspresyonu açısından incelendi. Hasta grupları; immunohistokimyasal olarak boyanma yoğunluğuna (zayıf, orta ve yoğun) göre karşılaştırıldı.

Bulgular: Toplamda patoloji sonucu benign olan 10, HGPIN olan 23 ve HGPIN'in eşlik ettiği 21 hastanın patoloji spesmenleri incelendi. Bu hasta grupları arasında yaş haricinde klinik ve biyopsi öncesi laboratuvar bulguları açısından istatistiki fark yoktu. Patoloji sonucu benign olan grubun tamamında IGF1-R ekspresyonu açısından zayıf boyanma saptandı. HGPIN veya prostatik adenokarsinomlu dokularda benign dokuya göre anlamlı olarak daha yoğun immünohistokimyasal boyanma saptandı ($p < 0,0001$). HGPIN ile prostatik adenokarsinom arasında boyanma yoğunluğu açısından fark görülmedi ($p = 0.098$).

Sonuç: Çalışmamızda prostatik adenokarsinomda ve prekürsörü olan HGPIN'de IGF1-R ekspresyonu normal prostat dokusuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Bu, IGF1-R'nin prostat kanseri gelişim sürecinde rolü olabileceğini düşündürmektedir.



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P17]

CD133^{high}/CD44^{high} Prostat Kanser Kök Hücrelerinde Kök Hücre Sinyali Sferoid Formasyonu ile Değişme Gösterir

Gülperi Öktem¹, A. Bilir², R. Uslu³, S. İnan⁴, S. B. Demiray⁵, H. Avcı⁴, S. Ayla⁶, O. Sercan⁷, A. Uysal¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir.

²İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul.

³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji Anabilim Dalı Bornova, İzmir

⁴Celal Bayar University Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa.

⁵Celal Bayar Üniversitesi Fen ve Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Manisa.

⁶Süleymaniye Kadın Hastalıkları ve Doğum Araştırma Hastanesi, İstanbul, Turkey

⁷Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

Giriş: Kanser kök hücresi (KKH) tümör oluşumu hakkında yeni ipuçları vermektedir ve bu hücrelerle ilişkili yolların ortaya konması, hedeflenen tedavilerin geliştirilmesini kolaylaştırmaktadır. Çeşitli tümör tiplerinden izole edilen KKH'leri hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak serum içeren ortamlarda kültüre edildiklerinde farklılaşmaktadırlar. Ancak bu farklılaşmadan sorumlu olan faktörler henüz tam olarak ortaya konmamıştır.

Çalışmamızda CD133^{high}/CD44^{high} prostat KKH'lerinin tanımlanması ve bu hücrelerin profillerinin izole edilmeyen hücreler ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Daha sonra bu iki popülasyondan 3D multisellüler sferoidler oluşturulmuş ve farklılaşmada kök hücreye ilişkin genomik karakteristikleri ile araştırılmıştır.

Materyal-Metod: Hücre döngüsü regülasyonunun PCR analizleri, embriyonik ve mezenseyal hücre soylarına ilişkin belirteçler, TERT ve Notch sinyali araştırılmıştır. Gruplar CD117, Notch1, Jagged1, Delta1, Sox2, c-myc, Oct4, KLF4, CD90 ve SSEA1 immunohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: En belirgin gen değişikliği, tek tabaka olarak çoğaltılan hücrelerin sferoid olarak devam ettirildiği CD133^{high}/CD44^{high} pozitif popülasyonda saptanmıştır. Bu grupta en dikkat çekici up-regülasyon ise kollajen Tip9a1 (COL9A1), Islet1 (ISL1) ve Siklin D2 olarak bulunmuştur. Sırasıyla Jagged1, DLL3 ve Notch1, Notch sinyal yolağında up regüle olan genler olarak değerlendirilmiştir. Immunohistokimyasal analiz, izole edilen tek tabaka hücrelerde Jagged1, Sox2, Oct4 ve Klf-4 immunoreaktivitesinin diğer popülasyona göre arttığını göstermiştir.

Sonuçlar: İnsan tümörlerinden izole edilen KKH'leri bir süre sonra hücresel özelliklerini değiştirebilirler ve daha önceki yüzey antijenlerini koruyarak transkripsiyon veya translasyonel düzeyinde bir farklılaşma gösterirler. Aslında bu farklılaşmanın da malign süreç ve tümör büyümesinden sorumlu olan ana mekanizma olabileceği düşünülmektedir.



I. Moleküler Üroloji Toplantısı

27 Eylül 2014

Elite World Hotel, Taksim - İstanbul

[P18]

Prostat Kanseri Kök Hücreleri Üç Boyutlu Tümör Formasyonu Oluştururken JAK/STAT Yolağı, Interselüler Adezyon Molekülü (ICAM) ve Vasküler Hücre Adezyon Proteini (VCAM) İle Etkileşmektedir

Gülperi Öktem¹, Fahriye Düzağaç¹, Sevinç İnan², Fatma Şimşek³, Eda Açıkgöz⁴, Ummü Güven¹, Hadi Rouhrazı⁵, Kenan Demir⁴, Emine Özçınar⁶

¹Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök Hücre A.D.

²Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji A.D.

³İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Histoloji ve Embriyoloji AD

⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji A.D.

⁵Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Onkoloji A.D.

⁶İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji A.D.

Kanser hücrelerinin heterojen popülasyonları üç boyutlu tümör formasyonu (sferoid) oluşturabilen kanser kök hücreleri (KKH) içermektedir. Sferoidler tümör mikroçevresini iki boyutlu kültüre göre daha doğru yansıtmakta ve son yıllarda yapılan çalışmalarda sıkça kullanılmaktadır. JAK/STAT sinyal yolağı hücre döngüsü kontrol noktalarının regülasyonunda, hücre proliferasyonunda, angiogenez yoluyla onkogenез sürecinde ve özellikle metastazda etkin rolü olan bir sinyal iletim mekanizmasıdır. Çalışmamızda KKH'leri; sferoid olarak ve tek tabakalı kültürde sürdürdüklerinde JAK/STAT yolağı ve onunla bağlantılı moleküller olan ICAM ve VCAM immunoreaktif yanıtı yönüyle incelenmiştir. İnsan prostat kanseri DU145 hücre hattından akış sitometrisi tekniğiyle izole edilen CD133⁺/CD44⁺ hücre yüzey belirteçlerine sahip hücreler ve bunların dışında kalan popülasyon (non-sorting/bulk population) hücreleri KKH ve KKH-olmayan 2 grup şeklinde uygun koşullar sağlanarak sferoid ve tek tabakalı olarak sürdürülmüşlerdir. Protein ifadelerindeki değişimler immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. Yapılan analiz sonucunda Jak1 molekülünün non-sorting gurubunda Jak2'nin sorting hücrelerinde yoğun immunoreaktivite gösterdiği izlenmiştir. Monolayer kültürlerde Stat2 immunoreaktivitesinin non-sorting gurupta KKH gurubuna göre artmış olduğu ve Stat5'in her iki gurupta azalmış ekspresyonu belirlenmiştir. Kanser kök hücreleri üç boyutlu hücre kültürüne taşındıklarında immunoreaktivitelerini devam ettirdikleri izlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda KKH'sinin malign potansiyelinin oluşmasında Jak/Stat yolağında Jak2 molekülünün aktif rol oynadığı, ancak Jak1, Stat2 ve Stat5'in zayıf eksprese olduğu gözlenmiştir. Kanser kök hücrelerinin monolayer kültürlerde ortaya koydukları zayıf immunoreaktivitelerini üç boyutlu kültürlerde artarak devam ettirdiği belirlenmiştir. Bütün bu veriler ışığında kanser kök hücrelerinin *in vivo* tümör organizasyonunda moleküler sinyalizasyonunu arttırarak invaze olduğu ve metastaz yaptığı düşünülmüştür.