



18. TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 Ekim 2023
Holiday Inn Hotel, ANKARA

BİLDİRİ KİTABI

www.tbk2023.org





18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi
Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



İçindekiler

Kurullar	3
Bilimsel Program	4
Konuşma Özetleri	8
Sözlü Bildiriler	18
Poster Bildiriler	137



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi

Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Kurullar

TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK DERNEĞİ YÖNETİM KURULU:

Dernek Başkanı

Prof. Dr. Turgut ULUTİN

Dernek 2. Başkanı

Prof. Dr. Ece KONAÇ

Genel Sekreter

Prof. Dr. Matem TUNÇDEMİR

Sayman

Prof. Dr. Ayhan DEVİREN

Üyeler

Prof. Dr. Ersan KALAY

Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ

Prof. Dr. Tuba EDGÜNLÜ

BİLİM KURULU:

Prof. Dr. Matem TUNÇDEMİR (Bilim Kurulu Başkanı)

Prof. Dr. Mustafa AKKİPRİK

Prof. Dr. Neşe ATABEY

Prof. Dr. Belgin ATAÇ

Prof. Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI

Prof. Dr. Esra ÇAĞAVI

Prof. Dr. Gülşah ÇEÇENER

Prof. Dr. Osman DEMİRHAN

Prof. Dr. Ayhan DEVİREN

Prof. Dr. Tuba EDGÜNLÜ

Prof. Dr. Mehtap KILIÇ EREN

Prof. Dr. Zuhale HAMURCU

Prof. Dr. Ersan KALAY

Prof. Dr. Murat KASAP

Prof. Dr. Sefa KIZILDAĞ

Prof. Dr. Çetin KOCAEFE

Prof. Dr. Ece KONAÇ

Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ

Prof. Dr. Melek ÖZTÜRK SEZGİN

Prof. Dr. Ahter Dilşad ŞANLIOĞLU

Prof. Dr. Turgut ULUTİN

Prof. Dr. Selma YILMAZER

DÜZENLEME KURULU:

Prof. Dr. Ece KONAÇ (Düzenleme Kurulu Başkanı)

Prof. Dr. Ayhan DEVİREN

Prof. Dr. Tuba EDGÜNLÜ

Prof. Dr. Ersan KALAY

Prof. Dr. Fatma SAVRAN OĞUZ

Doç. Dr. İlke ÖNEN

Prof. Dr. Atiye Seda YAR SAĞLAM

Prof. Dr. Matem TUNÇDEMİR

Prof. Dr. Turgut ULUTİN

Doç. Dr. Nuray VAROL

Öğr.Gör. Kübra Gizem ESENTÜRK YAYLA

Bilimsel Program

26 EKİM 2023, PERŞEMBE / 26 OCTOBER 2023, THURSDAY

	A SALONU / HALL A	B SALONU / HALL B
10:00-10:15	AÇILIŞ/ OPENING CEREMONY	
10:15-11:00	AÇILIŞ KONFERANSI / OPENING CONFERENCE Oturum Başkanları: Prof.Dr.Turgut ULUTİN -Prof.Dr.Matem TUNÇDEMİR Prof.Dr. Şermin GENÇ-Dokuz Eylül Üniversitesi. "Nörogenez'den Alzheimer'a Kodlamayan RNAlar"	
11:15-12:45	PANEL 1: Moleküler Sinirbilim/Molecular Neuroscience Oturum Başkanları: Prof.Dr.Selma YILMAZER - Prof.Dr.Ersan KALAY P1-Prof.Dr. Duygu GEZEN AK- İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa. "Amiloid Beta; Yeni Bir Mitokondriyal Transkripsiyon Düzenleyici" P2-Prof. Dr. Işıl KURNAZ- Gebze Teknik Üniversitesi. "Nörodejeneratif Hastalıklarda ETS Proteinleri" P3-Doç.Dr. Erkan KIRIŞ- Orta Doğu Teknik Üniversitesi "Multipl Skleroz hastalığında BDNF-TrkB Sinyal Yolağının İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücrelerinden Oluşturulan Oligodendrosit Modellerinde Araştırılması"	SERBEST BİLDİRİLER 1- Gen ve Hücre Tedavileri Oturum Başkanları: Doç. Dr. Ayşe ÇIRAKOĞLU- Prof. Dr. Eda BECER
12:30-13:30	ÖĞLE YEMEĞİ/ LUNCH	
13:30-14:15	KONFERANS 2: Gen ve Hücre Tedavileri/Gene and Cell Therapies Oturum Başkanı: Prof.Dr. Mehtap KILIÇ EREN Prof. Dr. Salih ŞANLIOĞLU- Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi. "Gen Tedavisinde Son Gelişmeler: Genetik Tıbbın Gücü"	SERBEST BİLDİRİLER 2- Biyoinformatik ve Hesaplamalı Biyoloji Oturum Başkanları: Doç. Dr. Çağrı ÖNER- Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem GÜNGÖRMEZ
14:30-16:15	PANEL 2: Gen ve Hücre Tedavileri/Gene and Cell Therapies Oturum Başkanları: Prof.Dr.Ahter Dilşad ŞANLIOĞLU - Prof.Dr. Ayşe Evrim BAYRAK P1- Prof.Dr. Tamer ÖNDER - Koç Üniversitesi. "Hücreyel yeniden programlama ile pluripotent kök hücrelerin üretiminde epigenetik faktörler" P2- Prof.Dr. Piotr TRZONKOWSKI- Gdańsk Tıp Üniversitesi-POLONYA. "T Regulatory Cells As A Drug -From Bench To Bedside" P3- Ass.Prof.Dr. Adil Doğanay DURU, Glycostem Therapeutics-HOLLANDA. "Stem-Cell Derived Natural Killer Cells: The New Hope For Cancer Immunotherapy"	
16:15-16:30	KAHVE MOLASI / COFFEE BREAK	
16:30-17:15	KONFERANS 3: Biyoinformatik ve Hesaplamalı Biyoloji/ Bioinformatic and Computational Biology Oturum Başkanı: Prof.Dr. Çetin KOCAEFE Prof.Dr. O. Uğur SEZERMAN-Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi. "Açıklanabilir Yapay Zeka ve Kişiyeye Özgü Tıp Uygulamaları"	SERBEST BİLDİRİLER 3- Moleküler Sinir Bilim Oturum Başkanları: Prof. Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN - Doç. Dr. Emrah YÜCESAN-Dr. Öğr. Üyesi Sinem FIRTINA
17:15-18:30	PANEL 3: Biyoinformatik ve Hesaplamalı Biyoloji/ Bioinformatic and Computational Biology Oturum Başkanları: Prof.Dr. Gülşah ÇEÇENER - Prof.Dr.Tuba EDGÜNLÜ P1- Doç.Dr. Barış Ethem SÜZEK. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi. "Klinikte Yeni Nesil Dizilemenin Kullanımını Destekleyen Biyoinformatik Yaklaşımları" P2- Dr.Öğr.Ü. Tuğba SÜZEK. Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi. "TCGANalyzer: Pan-Kanser Kohort ve Gen Keşfi İçin Moleküler ve Klinik Veri Görselleştirme Web Aracı"	
19:00	AÇILIŞ KOKTEYLİ/ OPENING COCKTAIL	



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi

Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



27 EKİM 2023 – CUMA / 27 OCTOBER 2023, FRIDAY

	A SALONU / HALL A	B SALONU / HALL B
09:00-10:30	<p>PANEL 4: Hücre ve Organel Patolojileri/ Cell and Organel Pathologies.</p> <p>Oturum Başkanları: Prof.Dr. Sefa KIZILDAĞ - Prof. Dr. Bertan YILMAZ</p> <p>P1- Prof.Dr. Meltem AVCI ADALI, Tübingen Üniversitesi- ALMANYA “Synthetic mRNA-Based Approaches For Tissue Regeneration”</p> <p>P2- Doç.Dr. Elif Nur FIRAT KARALAR, Koç Üniversitesi. “Silyopatilerin Moleküler Mekanizmasının Çok Disiplinli Yaklaşımla Aydınlatılması”</p> <p>P3.Dr.Öğr.Üyesi.Hasan DEMİRCİ, Koç Üniversitesi. “Bakteriyel Ribozom Komplekslerinin Ortam Sıcaklığında Zaman Çözümlü Seri Femtosaniye Kristalografi Çalışmaları”</p>	<p>SERBEST BİLDİRİLER 4- Hastalıkta ve Sağlıkta Modellemeler</p> <p>Oturum Başkanları: Prof. Dr. Atiye Seda YAR SAĞLAM - Doç. Dr. Ekim Z.TAŞKIRAN-Doç. Dr. Aysin KANLI</p>
10:30-10:45	<p>KAHVE MOLASI / COFFEE BREAK- POSTER OTURUMU</p>	
10:45-12:15	<p>PANEL 5: Hastalıkta ve Sağlıkta Modellemeler/Modelings in Disease and Health</p> <p>Oturum Başkanları:Prof.Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI-Prof.Dr. Mahmut BALKAN</p> <p>P1.Doç.Dr.Fatima SUSANNA F.AERTS KAYA-Hacettepe Üniversitesi. “İmmün Yetmezliklerin Kök Hücre Gen Tedavisinin Geliştirilmesinde İn Vitro Ve İn Vivo Modellerin Rolü”</p> <p>P2.Prof.Dr.Esra ÇAĞAVİ-İstanbul Medipol Üniversitesi. “iPSC’den Kardiyovasküler Hastalık Modellerine: Sodyum İyon Kanalı Mutasyonları, Aritmi Ve Makrofaj Etkileşimleri”</p> <p>P3.Dr.Öğr.Üyesi.Zülfıye Yeliz AKKAYA ULUM-Hacettepe Üniversitesi. “Ailevi Akdeniz Ateşi Fare Modelinde miRNA’ların Terapötik Etkilerinin Araştırılması”</p>	<p>SERBEST BİLDİRİLER 5- Hücre ve Organel Patolojileri-1</p> <p>Oturum Başkanları: Prof. Dr. Hasibe VERDİ-Doç. Dr. Fatma KAYA DAĞISTANLI-Doç. Dr. Timuçin AVŞAR</p>
12:30-13:30	<p>KONFERANS 4: Hastalıkta ve Sağlıkta Modellemeler/ Modelings in Disease and Health</p> <p>Oturum Başkanı: Prof.Dr. Esra ÇAĞAVİ</p> <p>Prof.Dr.Hans CLEVERS-Hubrecht Institute- HOLLANDA (ONLINE) “Organoids To Model Human Disease”</p>	<p>SERBEST BİLDİRİLER 5- Hücre ve Organel Patolojileri-2</p> <p>Oturum Başkanları: Doç. Dr. Bilge ÖZSAİT SELÇUK- Dr. Öğr. Üyesi Gülper NACARKAHYA-Dr. Öğr. Üyesi Muammer Özgür ÇEVİK</p>
13:30-16:00	<p>ÖĞLE YEMEĞİ - SOSYAL PROGRAM/ LUNCH–SOCIAL PROGRAM</p> <p>Kurtuluş Savaşı Müzesi (I. TBMM Binası) Cumhuriyet Müzesi (II. TBMM Binası)</p>	
16:00-17:30	<p>KONFERANS 5: Hücre ve Organel Patolojileri/Cell and Organel Pathologies.</p> <p>Oturum Başkanı: Prof.Dr. Melek ÖZTÜRK</p> <p>Prof.Dr. Michelangelo CAMPANELLA-William Harvey Research Institute, Queen Mary University of London- İNGİLTERE. “The Mitochondrial Sites of Contact with the Nucleus: Form and Function”</p>	
17:30-18:00	<p>KAHVE MOLASI / COFFEE BREAK- POSTER OTURUMU</p>	
18:00-19:30	<p>EMEKLİLİK TÖRENİ/ RETIREMENT CEREMONY</p>	

28 EKİM 2023 CUMARTESİ/ 28 OCTOBER 2023, SATURDAY

	A SALONU / HALL A	B SALONU / HALL B
09:00- 09:45	<p>KONFERANS 6: İleri Gen Düzenleme Teknolojileri, Biyoteknoloji ve Biyomalzemeler/ Advanced Gene Editing Technologies, Biotechnology and Biomaterials. Oturum Başkanı: Prof.Dr. Ece KONAÇ</p> <p>Prof.Dr. Elif Damla ARISAN- Gebze Teknik Üniversitesi. "Kişileştirilmiş Tıp: Biyogirişimler İçin Yenilik Ekosistemi"</p>	<p>SERBEST BİLDİRİLER 6- Kanser Biyolojisi, Genetiği ve Epigenetiği-1 Oturum Başkanları: Doç. Dr. Pelin TELKOPARAN AKILLILAR- Doç. Dr. Nuray VAROL-Dr. Öğr. Üyesi Beren KARAOSMANOĞLU</p>
10:00-10:15	KAHVE MOLASI / COFFEE BREAK	
10:15-11:45	<p>PANEL 6: İleri Gen Düzenleme Teknolojileri, Biyoteknoloji ve Biyomalzemeler. Oturum Başkanları: Prof.Dr.Murat KASAP- Prof.Dr.Osman DEMİRHAN</p> <p>P1-Prof.Dr. Gizem DİNLER DOĞANAY-İstanbul Teknik Üniversitesi "Hedeflenemeyen Onkogenik Bölgelere Özgü Yenilikçi İlaç Geliştirilmesi"</p> <p>P2-Prof. Dr. Pınar YILGÖR HURİ-Ankara Üniversitesi. "Doku Mühendisliği Ve Rejeneratif Tıpta 3B Ve 4B Baskı Uygulamaları"</p> <p>P3- Prof.Dr. Haluk KÜLAH- Orta Doğu Teknik Üniversitesi. "BioMEMS: Biyomedikal Uygulamalar İçin Mikrosistemler"</p>	<p>SERBEST BİLDİRİLER 6- Kanser Biyolojisi, Genetiği ve Epigenetiği-2 Oturum Başkanları: Prof. Dr. Neslihan ABACI- Doç. Dr. Ayla SOLMAZ AVCIKURT- Doç. Dr. Nihal KARAKAŞ</p>
12:00-13:00	ÖĞLE YEMEĞİ	
13:00-13:45	<p>KONFERANS 7: Kanser Biyolojisi, Genetiği ve Epigenetiği/ Cancer Biology, Genetics and Epigenetics Oturum Başkanı: Prof.Dr.Neşe ATABEY</p> <p>Prof.Dr. Mehmet ÖZTÜRK- İzmir Tınaztepe Üniversitesi. "Kanser Tedavisinde Monoklonal Antikorlar Ve Rekombinant Protein Temeli Yaklaşımlar"</p>	<p>SERBEST BİLDİRİLER 6- Kanser Biyolojisi, Genetiği ve Epigenetiği-3 Oturum Başkanları: - Prof. Dr. Nuray ALTINTAŞ- Doç. Dr. İlke ÖNEN-Doç. Dr. Tuğba DİNÇER- Dr. Öğr. Üyesi İlyas YÜCEL</p>
14:00-16:00	<p>PANEL 7: Kanser Biyolojisi, Genetiği ve Epigenetiği/Cancer Biology, Genetics and Epigenetics. Oturum Başkanları: Prof.Dr. Belgin ATAÇ-Prof.Dr.Mustafa AKKİPRİK</p> <p>P1- Prof.Dr. Berrin TUNCA-Uludağ Üniversitesi. "Kanser Ve Kodlamayan RNA'lar"</p> <p>P2-Prof.Dr. Pınar OBAKAN YERLİKAYA-İstanbul Medeniyet Üniversitesi "Kanser Hücrelerinde Endoplazmik Retikulum Stres Kodunun Çözülmesi"</p> <p>P3- Doç.Dr. Özgür KÜTÜK-Başkent Üniversitesi. "Kanser Araştırmalarında ve Kişileştirilmiş Tedavide Tümör Organoidleri"</p> <p>P4-Prof.Dr. Nedime SERAKINCI-Uluslararası Kıbrıs Üniversitesi- KKTC. "İdrarda Prostat Kanseri Spesifik Genetik Biyobelirteç Tanımlanması"</p>	<p>SERBEST BİLDİRİLER 7-İmmünobiyoloji/ İmmünojenetik ve İmmunoterapötik Yaklaşımlar Oturum Başkanları: Prof. Dr. Selahattin TEKEŞ - Doç. Dr. Hayriye ŞENTÜRK ÇİFTÇİ</p> <p>SERBEST BİLDİRİLER 8- İleri Gen Düzenleme Teknolojileri, Biyoteknoloji ve Biyomalzeme Oturum Başkanları: Dr. Öğr. Üyesi Diclehan ORAL- Dr. Öğr. Üyesi Süheyla Esra ÖZKOÇER</p>
16:00-16:15	KAHVE MOLASI/ COFFEE BREAK	
16:15-17:45		<p>PROF.DR. ASIM CENANİ GENÇ ARAŞTIRMACI SUNUMLARI/ PROF.DR. ASIM CENANI YOUNG RESEARCHER PRESENTATIONS Oturum Başkanları: Prof.Dr. Ayhan DEVİREN-Doç.Dr. Yelda ARGÜDEN</p>
19:30	CUMHURİYET BALOSU-ÖDÜL TÖRENİ/ REPUBLIC BALL-AWARD CEREMONY	



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi

Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



29 Ekim 2023 PAZAR/ 29 OCTOBER 2023 SUNDAY

	A SALONU / HALL A	B SALONU / HALL B
09:30 - 10:15	KONFERANS 8: İmmünobiyoloji / İmmünogenetik ve İmmunoterapötik Yaklaşımlar. Oturum Başkanları: Prof.Dr.Fatma SAVRAN OĞUZ Prof.Dr. M.Tevfik DORAK, Kingston University-İNGİLTERE "HLA Bölgesindeki Hastalık İlişkili SNP'lerin Analizi"	
10:15 - 10:30	ARA / BREAK	
10:30 - 11:15	PANEL 8: İmmünobiyoloji / İmmünogenetik ve İmmunoterapötik Yaklaşımlar Oturum Başkanları: Prof.Dr.Zuhal HAMURCU- Prof.Dr. Çiğdem KEKİK ÇINAR P1- Doç.Dr. Ahmet EKEN. Erciyes Üniversitesi. "Gerçek Yaşamdan Sitoiskelet Defektlerinin İmmün Sistem Hücrelerinde Yaratıldığı Moleküler ve Fonksiyonel Çoklu Etkiler" P2-Dr.Öğr.Ü. Ebru KARPUZOĞLU. University of Georgia-ABD. "Östrojenin Bağışıklık Tepkileri ve İnflamasyon Üzerindeki Etkileri" (ONLINE)	
11:30-13:00	Tıbbi Biyoloji ve Genetik Lisansüstü Eğitiminin Geleceği / The Future of Graduate Education in Medical Biology and Genetics Oturum Başkanları: Prof.Dr.Turgut ULUTİN-Prof.Dr.Ece KONAÇ-Prof.Dr. Matem TUNÇDEMİR	
13:00	KAPANIŞ / CLOSING	



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi
Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Konuşma Özetleri



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Amiloid Beta; Yeni Bir Mitokondriyal Transkripsiyon Düzenleyici

Duygu GEZEN AK

Sinirbilim Anabilim Dalı, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye

Enerji metabolizmasındaki mitokondriyal işlev bozuklukları Alzheimer Hastalığı (AH)'nın erken dönem özelliklerinden biri olarak kabul edilir. AH'nin ana patolojik bileşenlerinden biri olan amiloid beta (A β) 1-42, plazma zarı üzerinde bulunan amiloid öncü proteininin (APP) kesilmesi ile üretildiği için hücre dışı bir peptid olarak kabul edilir. Ancak A β 1-42'nin hücrelerin içinde üretildiği veya hücre dışı alandan hücre içine alındığı gösterilmiştir. A β 1-42'nin artmasının mitokondride birikmiş hasara neden olduğu, bunun da AH'nin klinik başlangıcından önce nöronal fonksiyon bozukluklarını tetikleyerek bilişsel gerilemeye sebep olabileceği ileri sürülmektedir. A β fragmanları mitokondriye taşınabilir ve orada lokalize olabilir ve patolojik koşullar altında agregatlar oluşturabilir. Ancak halen A β 'nin mitokondrideki varlığı ve işlevleri hakkında bilgi oldukça sınırlıdır. Daha önceki çalışmalarımızdan elde edilen bilgiler bize A β 'nin mtDNA transkripsiyonuna etki edebileceğine dair ipuçları sunmuştur. Ayrıca gerçekleştirdiğimiz çalışmalar, endojen A β 1-42'nin farklı hücre tiplerinde sitoplazma, nukleus ve mitokondride lokalize olabildiğini ve antibiyotiğe cevaben keskin bir şekilde hücre içi lokalizasyonunu değiştirebildiğini göstermiştir. Bu hareket belli uyaranların varlığında tetiklenen ve DNA'ya ulaşmasını sağlayan bir hareket olabilir ve mtDNA da hedefleri arasında bulunabilir. Devam eden çalışmalarımızdan elde ettiğimiz veriler A β fragmanlarının mitokondriyal DNA (mtDNA) doğrudan etkileşime girebileceğini, mitokondrideki RNA'ları veya transkripsiyon faktörlerini ve bu mtDNA'ya bağlanma kapasitelerini etkileyebileceğini ve böylece mtDNA transkripsiyon profilini değiştirebileceğini göstermektedir. Bu peptidin mitokondrideki fizyolojik ve patolojik rollerinin ortaya çıkarılması, patolojik protofibrillerin veya peptitlerin fibril formlarının ilerleyici nörodejenerasyon sürecinde birikmiş mitokondriyal hasar üzerindeki etkilerini daha iyi anlamamızı sağlayacaktır. Bu çalışma TÜBİTAK (Proje No:219Z179) tarafından desteklenmiştir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Multipl Skleroz Hastalığında BDNF-TrkB Sinyal Yolağının İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücrelerinden Oluşturulan Oligodendrosit Modellerinde Araştırılması

Erkan KIRIŞ

Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Ankara, Türkiye

Bir merkezi sinir sistemi hastalığı olan Multipl Skleroz (MS), demyelinizasyon (miyelin tabaka kaybı), inflamasyon, aksonal hasar ve nörodejenerasyon ile karakterize edilmektedir. Kesin bir tedavisi bulunmayan MS hastalığında, hastalığa neden olan ve/veya ilerleyişini hızlandıran etmenler kesin olarak bilinmemektedir. MS hastalarında zamanla gelişebilen özürlülük durumu, oligodendrosit (OL)'lerin yıkımı ile oluşan demiyelinizasyon ve sonrasında oluşan akson hasarı ve kaybı kaynaklıdır. MS'de remiyelinizasyon sürecinde de eksiklikler olduğu bilinmektedir, ancak bu eksikliklere neden olan moleküler mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Sinir sisteminin normal çalışmasında kritik önemdeki nörotrofin ailesinin bir üyesi olan Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF)'ün TrkB reseptörü aracılığıyla regüle ettiği sinyal yollarının oligodendrosit öncü hücreler (oligodendrocyte precursor cells; OPC) farklılaşmasını ve miyelinizasyonu etkilediği önerilmiştir ve bu sinyal yolağı uzun yıllardır MS ile ilişkilendirilmektedir. Ancak, bu bilgilerin önemli kısmı hayvan model sistemlerinden elde edilmiş olup, özellikle insan OPC ve OL hücrelerinde BDNF-TrkB yollarının aktif olup olmadığı ve bu sinyal yollarının OPC farklılaşmasında ve olgunlaşmasında etkisi olup olmadığı kesin bilinmemektedir. Yakın zamandaki çalışmalar remiyelinizasyonda, özellikle OL hücre dinamikleri kapsamında, kemirgen ve insan modelleri arasında önemli farklar olabileceğini önermektedir. Hastalıkların fizyolojik olarak alakalı insan model sistemleri kullanılarak modellenmesi için, hastaların kendi hücrelerinden elde edilen İndüklenmiş Pluripotent Kök Hücreler (iPKH) önemli bir kaynak olarak görülmektedir. Bu konuşmada MS hasta ve kontrol bireylerden oluşturduğumuz iPKH hatlarını kullanarak farklılaştırdığımız OL kültürlerinde TrkB reseptörünün bulunup bulunmadığının ve BDNF-TrkB sinyal yolağının OPC ve OL oluşumuna etkileri üzerine odaklanan çalışmalarımız özetlenecektir. Bu araştırma TÜBİTAK tarafından (No:119S801) desteklenmiştir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



TCGANalyzeR: Pan-Kanser Kohort Ve Gen Keşfi İçin Moleküler Ve Klinik Veri Görselleştirmesi İçin Bir Web Aracı

Talip Zengin^{1,2,#}, Başak Abak Masud^{2,#}, Tuğba Önal-Süzek^{2,3,*}

¹Moleküler Biyoloji ve Genetik, Mugla Sitki Kocman Üniversitesi, Mugla, 48000, Türkiye

²Biyoinformatik, Mugla Sitki Kocman Üniversitesi, Mugla, 48000, Türkiye

³Bilgisayar Mühendisliği, Mugla Sitki Kocman Üniversitesi, Mugla, 48000, Türkiye.

*Sorumlu Yazar.

#Eş birinci yazarlar.

Motivasyon: 33 kanser türünden yaklaşık 11.000 kanser hastasının çok boyutlu moleküler ve klinik verilerini içeren Kanser Genom Atlası (TCGA) veri tabanının büyük boyutu ve karmaşıklığı, bu değerli kaynağın etkili bir şekilde kullanılmasına engel olmaktadır. Bu nedenle, mutasyonların, transkriptom profilinin, kopya numarası varyasyonunun ve klinik verilerin bütünleştirici bir görselleştirmesini sunma ana fikriyle TCGANalyzeR adında bir web uygulaması geliştirdik.

Sonuçlar: Önceden analiz ettiğimiz TCGA verilerinin bütünleştirici görselleştirilmesi için çeşitli yeni ek modüllerle TCGANalyzeR'ı sunuyoruz: (i) Sürücü tahminiyle basit nükleotid varyasyonları; (ii) Tekrarlayan kopya numarası değişiklikleri; (iii) Metilasyon verisi (iv) miRNA verisi (v) Yolak zenginleştirilmesi ve hayatta kalma analizi ile tümörde normale karşı farklı ekspresyon; (vi) TCGA klinik verileri ve hayatta kalma analizi; (vii) Literatürden, derlenmişTCGADData ve BiocOncoTK R paketlerinden harici alt kohortlar; (v) iClusterPlus R paketi veya imza tabanlı ifade analizi kullanılarak belirlenen dahili hasta kümeleri.

TCGANalyzeR kaynağı, klinik onkologlara ve kanser araştırmacılarına çoklu omik ve pan-kanser TCGA verilerinin etkileşimli ve bütünleştirici temsillerini, alt grup analizi ve görselleştirmenin kullanılabilirliği ile sağlar. TCGANalyzeR, pan-kanser karşılaştırmaları için kendi özel gen setlerini oluşturmak, literatürden derlenmiş kohortları (MSI, Immune, PAM50, Triple Negative, IDH1, miRNA, vb.) kendi oluşturduğumuz iCluster+ hasta kümeleriyle karşılaştırarak özel hasta alt grupları oluşturmak ve görselleştirmek için kullanılabilir. Çalışmamızda üç kanser: meme kanseri, kolon kanseri ve glioblastoma üzerine kullanım senaryoları ile çoklu kohort analizi örnekleri sunulacaktır. TCGANalyzeR web üzerinde <http://tcganalyzer.mu.edu.tr> adresinde ücretsiz olarak mevcuttur.

Klinikte Yeni Nesil Dizilemenin Kullanımını Destekleyen Biyoinformatik Yaklaşımları

Barış E. Süzek^{1,2}, Akif Ayaz³, Başak Abak Masud^{1,3}, Sinem Darwish³, Erdem Türk^{1,2}

¹ *Biyoinformatik Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi*

² *Bilgisayar Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi*

³ *Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi, İstanbul Medipol Üniversitesi*

Tüm ekzom dizileme (TED) klinikte kullanımı giderek artan önemli bir tanı aracıdır. TED sonucu elde edilen verilerden hastalıklarla ilişkili varyantların belirlenmesi ve TED analizlerinde hastalıkla ilişkili aday varyantların kaçırılmaması kritiktir. Son yıllardaki çalışmalarımızı bu iki temel gereksinim çerçevesinde yoğunlaştırdık ve klinikte kullanılmak üzere iki biyoinformatik ürünü geliştirdik.

Bu ürünlerden ilki olan MediVar klinikte TED-temelli tanı sürecini hızlandırmak, klinisyenlerin asgari hata yapmalarını sağlamak ve tanı raporlarının oluşturulmasını kolaylaştırmak amacıyla arayüzleri bir tıbbi genetik uzmanının görüşleriyle oluşturulmuş bir sistemdir. MediVar klinisyenlerin hasta fenotiplerini kaydetmeye, varyantların çeşitli şekillerde filtrelenmesine, raporlanacak varyantların seçimine ve raporların belli bir şablonda oluşturulmasına olanak sağlamaktadır. Geri planda MediVar verilerin tekrar kullanılmasına olanak sağlamak amacıyla sorgu ve saklama işlevlerine sahiptir. MediVar bugüne kadar binlerce hastanın hastalığının tanısında kullanılırken eş zamanlı olarak sürekli iyileştirilmiş bir sistemdir.

İkinci ürün TED'de kapsanmayan bölgelerdeki zararlı varyantları (İng. Deleterious Variants on Uncovered Regions in Whole-Exome Sequencing (DEVOUR)) bulmaya yöneliktir. DEVOUR TED'lerin ekzom yakalama kitlerinin kısıtları ve dizileme sorunları sonucu kapsanamayan (veya çok düşük derinlikli) bölgelerdeki hastalıkla ilişkili olabilecek varyant bölgeleri TED hizalamaları ile klinik önemi olan varyantları içeren veritabanlarını (Örn. ClinVar) listeler. Bu araç klinisyenler bu listelerle ve hastanın fenotiplerini eş zamanlı değerlendirmesine ve kaçırılmış varyantların başka tetkik araçlarıyla test edilmesine olanak sağlar. DEVOUR kamusal alanlardan indirilen TED verilerinde test edilmiş ve doğrulanmıştır.

Çalışmalarımızda klinik tanı için TED'in kapsadığı ve kapsayamadığı bölgelere yönelik araçlar geliştirdik. Sonuç olarak, klinik tanıda, konu insan olunca, yeni dizileme analizlerinin, kullanılan teknolojilerin güçlü ve zayıf yönlerinin göz önünde bulundurularak, değerlendirilmesinin önemini bir kez daha gördük. Önümüzdeki yıllarda benzer araçların geliştirilebilmesi için disiplinlerarası çalışma yetkinliğinin ve kültürünün artırılmasına yönelik çalışmalar yapılması olumlu olacaktır.

Bu çalışmaların TED'de kapsanmayan bölgelerdeki zararlı varyantları (İng. Deleterious Variants on Uncovered Regions in Whole-Exome Sequencing (DEVOUR)) tespitine yönelik kısmı TÜBİTAK'ın 120E522 no'lu "İnsan Tüm Ekzom Dizileme Tekniklerinin Kapsamadığı Klinik Önemi Olan Varyantları Tespit Eden ve Anlamlandıran Sistem" adlı proje desteğiyle gerçekleştirilmiştir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



İmmün Yetmezliklere Yönelik Gen Terapisinin Geliştirilmesinde İn Vitro ve İn Vivo Modellerin Rolü

Fatima AERTS KAYA^{1,2,3}

¹ Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kök Hücre Bilimleri AD, Ankara, Türkiye

² Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara, Türkiye

³ Hacettepe Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ankara, Türkiye

Primer immün yetmezlikler (PID'ler), T, B ve/veya NK hücrelerinin eksikliği ile karakterize edilir. Çeşitli gen mutasyonlarına bağlı olarak gelişebilen bu bağışıklık sistemi problemleri, ağır kombine immün yetmezlik (SCID) veya yaygın değişken immün yetmezlik (CVID) olarak sınıflandırılabilir. Çocuklarda sıklıkla tedaviye dirençli, tekrarlayan enfeksiyonlarla birlikte gelişme geriliği görülür. Destekleyici tedavi verilmediğinde ve/veya hematopoetik kök hücre (HKH) nakli olmadığında bu çocuklar genellikle yaşamlarının ilk yılında yitirirler.

Bu hastalıkların nadir olması nedeniyle araştırma amacıyla kullanılacak yeterli sayıda kök hücre elde etmek genellikle zordur. IL2-Rg ve RAG2 gibi bazı SCID'ler için fare modelleri geliştirilmişken Griscelli tip 2 (GS-2) SCID gibi daha da nadir görülen immün sistemi hastalıkları için ne in vivo ne de in vitro modeller geliştirilmiştir. RAG2 fare modelini, kodon optimize edilmiş RAG2 lentiviral vektörlerimizin terapötik verimliliğini test etmek ve klinik ortamda kullanılacak gen tedavi (hazırlık) protokollerini geliştirmek için prelinik bir hastalık modeli olarak kullandık. GS-2 için, 3 farklı mutasyona sahip 4 farklı hastadan geliştirilmiş farklı uyarılmış pluripotent kök hücre (uPKH) modelleri geliştirdik. Bu modelleri kullanarak, GS-2'nin eksik RAB27A geninin eklenmesi için kodon optimize edilmiş lentiviral konstraktların yanı sıra RAB27A geninin ekzon 3 ve ekzon 7'sinde bulunan mutasyonlarının doğrudan düzeltilmesi için CRISPR/Cas9 bileşenleri geliştirip test ettik.

Bu modelleri immün yetmezlik HKH gen tedavisinin prelinik etkinliğinin araştırılması ve test edilebilmesi, ayrıca verileri diğer hematopoetik ve/veya immün sisteminin başka genetik bozuklukları araştırmak amacıyla ve benzeri in vitro ve in vivo modellerin geliştirilmesi için kullanabilir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



iPSC'den Kardiyovasküler Hastalık Modellerine: Sodyum İyon Kanalı Mutasyonları, Aritmi ve Makrofaj Etkileşimleri

Esra ÇAĞAVI

İstanbul Medipol Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Ritim bozuklukları ve taşikardi ölümlü sonuçlanabilen fibrilasyonlara yol açabilmektedir. Yüksek atım hızlarıyla karakterize olan taşikardi, çeşitli iyon kanalı genlerindeki mutasyonlar ile ilişkilendirilmekle beraber genetik faktörlerin klinik heterojenite ve hastalık mekanizmaları henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, taşikardi fenotipi ile ilişkili yeni bir SCN5A gen mutasyonunu tanımladık ve hem işlevsel olarak hem de immüno-kardiyak etkileşimler yönleriyle karakterize ettik. Öncelikle, iki taşikardi hastasının periferik mononükleer kan hücrelerinden yeniden programlama ile iPSC ürettik ve kardiyomyositlere (iPSC-CM) farklılaştırdık. Yapılan genetik analizler sonucu, SCN5A geninde heterozigot p.F1465L mutasyonu olduğunu literatürde ilk kez tanımladık. Gen ekspresyonu ve immünositokimyasal analizler, hastalardan üretilen iPSC-CM'lerde SCN5A mRNA seviyeleri ve kodladığı NaV1.5 hücre içi lokalizasyonunun sağlıklı bireylerden üretilmiş iPSC-CM'lerle benzerliğini gösterdi. Elektrofizyolojik ve kasılma-görüntü analizleri, hasta kökenli iPSC-CM'lerde yüksek atım hızları ve aritmik olayların sağlık kardiyak kültürlerle oranla anlamlı ölçüde arttığını ve flekainid uygulaması ile seçici olarak azaltılabildiğini ortaya koydu. Patch-clamp analizleri hastadan üretilen iPSC-CM'lerde voltaja bağlı aktivasyonda, sağlıklı kontrol kültürlerle kıyasla negatif bir kayma olduğunu ve SCN5A+/p.F1465L varyantı ile ilişkili bir fonksiyon kazanımı aktivitesini gösterdi. Ardından makrofajların (MΦ) hasta kaynaklı iPSC-CM'lerin aritmik aktivitesi üzerindeki hücresel ve fonksiyonel rolünü değerlendirdik. iPSC-CM ve MΦ kokültürlerinin elektron mikroskobu ve immün boyamaları hücrelerin doğrudan membran temasları oluşturduğunu gösterdi. Kardiyak kasılmaların Flou-4 ile hücre içi Ca²⁺ analizleri, sağlıklı CM'lerle doğrudan temas halinde olan sağlıklı MΦ'ların kasılma frekanslarını anlamlı ölçüde hızlandırdığını ve MΦ'lerin sağlıklı kalp kültürleri üzerindeki pozitif kronotropik etkisini ortaya koydu. Kültürlerde yapılan ritim analizleri, SCN5A gen mutasyonunu taşıyan MΦ'ların kardiyomyositlerde aritmik olayları arttırdığını gösterdi. Önemli olarak, sağlıklı MΦ'lar ile kokültür edilen taşikardik hasta kaynaklı CM'lerin kasılma frekansının büyük ölçüde azaldığı ve daha ritmik atımlar sergilediği tespit edildi. Bu bulgular hastalık fenotipinin iyileşmesine işaret etmektedir. Sonuç olarak, aritmi hastalarında üretilen iPSC-CM'lerde yeni tanımladığımız patojenik SCN5A+/p.F1465L varyantıyla ilişkili taşikardinin klinik bulgularına benzer bir in vitro model oluşturuldu ve MΦ'ların aritmik kardiyomyositler üzerinde fonksiyonel düzenleyici rolü olabileceği gösterilmiştir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Ailevi Akdeniz Ateşi Fare Modelinde miRNA'ların Terapötik Etkilerinin Araştırılması

Yeliz Z. AKKAYA-ULUM

Hacettepe Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) hastalığı, pyrin proteinini kodlayan MEFV (Mediterranean FeVer) genindeki mutasyonların neden olduğu otozomal resesif geçiş gösteren otoinflamatuar bir hastalıktır. AAA hastalığında görülen fenotipik heterojenite, AAA'nin basit bir monogenik hastalık olmadığını göstermiştir. Bu nedenle epigenetik faktörlerin bu varyasyonların sebeplerinden biri olabileceği öne sürülmüştür. miRNA'lar, transkripsiyon sonrası seviyede, genom ifadesini düzenlemede kritik rol oynayan küçük kodlamayan RNA'lardır. Düzensiz miRNA ifadesinin, kanser, inflamatuvar ve otoimmün hastalıkları içeren geniş bir hastalık yelpazesinde etki gösterdiği belirlenmiştir. Grubumuzun daha önce tamamladığı çalışmalarda, homozigot AAA hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla farklı şekilde ifade edilen miRNA'lar olduğu ortaya konmuştur. Yaptığımız fonksiyonel çalışmalara göre, bu miRNA'lardan bazılarının sitokin salınımı, kaspaz-1 aktivitesi ve hücre göçü gibi birçok inflamatuvar süreçle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle bu miRNA'ların AAA hastalığının fenotipinden sorumlu olabileceğini düşünüyoruz.

Son yıllarda, miRNA bazlı tedavi edici ajanların, otoinflamatuar hastalıkların tedavisi için umut verici olduğu belirlenmiştir. Hücre kaynaklı membran vezikülleri içerisinde sınıflandırılan mikroveziküller biyoyumluluk özellikleri nedeniyle ideal miRNA gönderim vektörleri olarak dikkati çekmektedir. Bu nedenle çalışmalarımızda, AAA fare modelinde miRNA'ların mikroveziküller aracılı potansiyel terapötik kullanımının değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Bu çalışmaların sonucunda, AAA hastalığı için miRNA yüklü formülasyonlar ile tedavi yaklaşımının önerilebilmesinin yanı sıra diğer otoinflamatuar hastalıkların da tedavi edilmesi için miRNA'ların hedef moleküller olarak değerlendirilmesi ve yeni stratejilerin geliştirilmesine yönelik seçenek sunulması mümkün olacaktır.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Hedeflenemeyen Onkogenik Bölgelere Özgü Yenilikçi İlaç Geliştirilmesi

Gizem DİNLER DOĞANAY

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre 2020 yılında 10 milyon insan kansere bağlı komplikasyonlar nedeniyle hayatını kaybetmiştir. Kansere bağlı ölümler arasında meme (2.26 milyon) ve akciğer kanseri (2.21 milyon) ilk iki sıradaki kanser türleridir. Bu iki kanseri ölüm sayısında kolon, prostat, deri ve mide kanseri takip etmektedir. Kanser tedavisinde kanser türü, alt tipi, çok sayıda farklı oluşum mekanizması ve kazanılmış ilaç direncine bağlı olarak spesifik tedavi yöntemleri ve kombinatif terapiler kullanılmaktadır. Ancak bu yaklaşımlar gün geçtikçe artan ölüm sayılarını düşürmeye yetmemekte ve alternatif ilaç moleküllerinin keşfine olan ihtiyacı gözler önüne sermektedir. İnsan kanserlerinin %33'ünde RAS ailesi proteinleri mutant formdadır, ancak klinikte RAS mutantlarını doğrudan hedefleyebilen inhibitörler mevcut değildir. RAS-mutant kanserlerde hücre sağkalımında C-Raf proteinine bağımlılığın geliştiği ve bu nedenle bu kanserlerde C-Raf'ın hedeflenmesinin eş zamanlı tedavi stratejisi olarak değerlendirilebileceği öngörülmektedir. Bag-1 proteininin küçük izoformunun (Bag-1S) MAPK yolağında görev alan C-Raf serin-treonin kinaz ile kompleks oluşturarak kanser hücrelerinde hücre sağkalımını arttırdığı bilinmektedir. Anti-apoptotik Bag-1 proteini farklı hücre yolaklarında görev alan çok sayıda etkileşim ortağı sayesinde proliferasyon, migrasyon, hücre sağkalımı, transkripsiyon ve apoptoz dahil olmak üzere çeşitli hücresel süreçlerin düzenlenmesinde görev almaktadır. Önceki çalışmalarımızda, Bag-1S/C-Raf kompleksine ait ara yüzün belirlenmesinin ardından bu ara yüzleri hedef alan peptitler tasarlanmış ve Bag-1S'ye bağlanan peptitlerden birinin Bag-1S/C-Raf etkileşimini bozduğu bulunmuştur. Ayrıca, BAG domeni üzerinden gerçekleşen Akt, HSP70 ve Beclin1 gibi hücre sağkalımını farklı yollar üzerinden düzenleyen diğer bileşenlerle olan etkileşimlerini de inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu bölgenin moleküler uğrak noktası olarak görev aldığı anlaşılmıştır. Bu tarz uğrak noktaları inhibe edildiği takdirde kanserde alternatif seçilebilecek eş zamanlı tıkanmış olabilecektir. Böylece, 15 yıldır protein-protein etkileşimlerini (PPI) hedefleyen araştırmalarımız neticesinde ve atomik seviyede gerçekleştirilen çalışmalarımız sayesinde bu uğrak noktasını hedefleyen bir molekül keşfedilmiştir. İnhibitör peptidin KRAS-mutant HCT-116 kolon kanseri ve Bag-1 proteinini aşırı ifade eden MCF-7 meme kanseri, N-RAS mutant SNU-387 karaciğer kanseri ve B-Raf mutant SK-MEL-28 melanoma hücrelerinde kontrol peptite kıyasla hücre canlılığına olan sitotoksitesi ve inhibitör peptidin MAPK yolağı üzerindeki moleküler etkisi öncül çalışmalarımızda gösterilmiş, zebra balığı modellerinde ilk çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Sunumumda bu molekülün keşif serüvenini anlatıp, geliştirdiğimiz teknolojik yaklaşımların farklı protein-protein etkileşim yüzey keşiflerinde de nasıl kullanıldığına da değineceğim. Yaptığımız çalışmalar ile, kanserde terapötik olarak kullanılma potansiyeli taşıyan yeni bir aday ilaç molekülü tespit edilmiş ve olası yeni moleküller için de farklı PPI yüzeyleri keşfedilmiştir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Kanser ve Kodlamayan RNA'lar; Glial Tümörler

Berrin TUNCA

Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Beyin tümörleri tüm kanserlerin yalnızca yaklaşık olarak %3'ünü oluştursa da, kanser türlerinin en ölümcüllerinden biri olarak kabul edilmektedir. Yüksek dereceli gliomalarda kanser tedavilerinde sağlanan son gelişmeler de hastaların prognozunda istenen iyileşmeyi sağlayamamıştır. İlaçlara direnç gösteren ve agresif seyreden bu tümörlerin tedavisinde kullanılacak daha efektif olan yeni terapötik hedeflerin bulunmasına ve bu kapsamda yapılacak moleküler çalışmalarla bu hastalar için alternatif tedavi stratejilerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Epigenetik, DNA dizisinden bağımsız olarak genomda meydana gelen dinamik ve kalıtsal değişikliklerdir. Anormal epigenetik değişiklikler, düzensiz genetik ekspresyonların başlamasına yol açarak tümör oluşumunu teşvik edebilir. Epigenetik düzenleyiciler dışsal faktörlere duyarlı ve geri döndürülebilir olduğundan, günümüzde kanser tedavilerinde umut verici hedefler haline gelmektedir. Son zamanlarda çeşitli epigenetik düzenleyici ilaçların tek başına veya kemoterapi ile kombinasyon halinde kullanımı, anti-tümöral etkilerin artırılması ve ilaç direncinin aşılması konusunda ilgi çekici sonuçlar ortaya koymuştur. Kanserleşme sürecinde DNA ve RNA metilasyonları, histon modifikasyonları ve kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar) temel epigenetik düzenleme mekanizmalarıdır. İnsan genomunun %70'inden fazlasını kaplayan ncRNA'lar düzenleyici etkilere sahiptirler. Kanser çalışmalarında en sıklıkla miRNA'lar ve uzun ncRNA'lar (lncRNA'lar) üzerinde durulmuştur. LncRNA'lar transkripsiyonel, transkripsiyon sonrası, kromatin modifikasyonları ve epigenetik modifikasyonlar ile çeşitli seviyelerde gen ekspresyonunu düzenlemektedirler. LncRNA'lar, beyin tümörlerinde tümör baskılayıcı veya onkogenik işlevlere sahip olduklarından kişiselleştirilmiş tedavi için çekici terapötik hedefler haline gelmişlerdir. Birçok hücreyel sürecin kontrolüne dahil olan lncRNA MALAT1'in tümör oluşumu, metastaz, prognoz ve tedavi direnci ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir. MALAT1'in baskılanmasının yüksek dereceli gliomalarda tedavide yaygın olarak kullanılan temozolomid duyarlılığını artırdığı ve tedavideki etkilerini iyileştirdiği belirlenmiştir. Bu sebeple LncRNA temelli kanser tedavileri umut vericidir. Ancak lncRNA'ların hedeflenmelerindeki güçlükler sebebiyle onların ifadelerinin azaltılması veya işlevlerinin engellenmesinde sentetik oligonükleotid temelli moleküler ürünlerden farklı yaklaşımlara da ihtiyaç duyulmaktadır. İlaç keşfine ilişkin çalışmalar, epigenetik düzenlemelerde etkili olabilen biyoaktif moleküllerin kanser tedavisine yeni bir yaklaşım sağlayabileceğini ve nanoteknolojik ilaç dağıtım sistemleri ile oluşturulabilen ilaç kombinasyonlarının potansiyel bir strateji olabileceklerini göstermektedir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi
Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Sözlü Bildiriler

Akut T-Hücreli Lösemide Transkripsiyon Faktörü LEF1'in INSL5 ile İlişkisi

Zeliha Emrence¹

¹Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

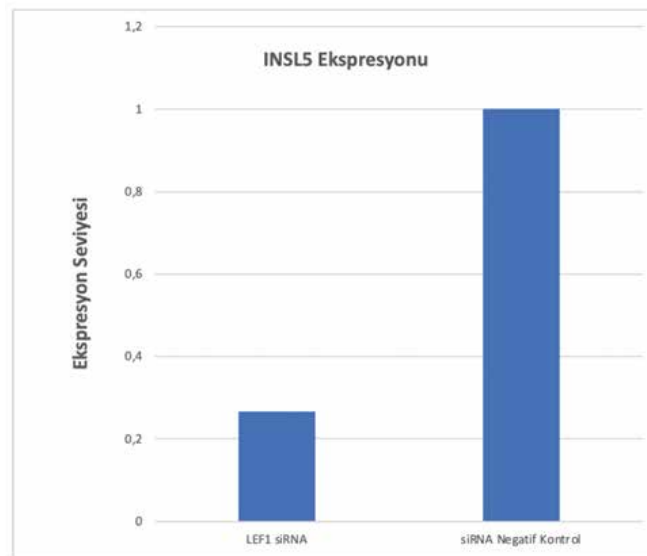
Amaç: Lenfoid Enhancer Faktör1 (LEF1), LEF1/TCF (T hücre faktörü) transkripsiyon faktör ailesine aittir. LEF1, WNT sinyal yolunun ana transkripsiyon faktörü olarak fonksiyon göstermektedir. LEF1'in ayrıca TGF- β 3 ve Notch sinyal yolu gibi b-kateninden bağımsız yollarda da rol aldığı gösterilmiştir. Önceki çalışmalarımızda Jurkat (akut lenfoblastik lösemi) hücrelerinde, LEF1'in genom üzerinde bağlanma bölgelerini bulmak amacıyla LEF1'e spesifik antikorla ChIP dizileme yaparak belirlediğimiz LEF1'in yeni transkripsiyonel hedeflerinden INSL5 ile ilişkisini göstermeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: siRNA kullanarak LEF1'i baskıladığımız ve western blot ile doğruladığımız Jurkat hücrelerinde kantitatif RT-PCR ile INSL5 ekspresyonundaki değişim incelendi. Hiçbir geni hedeflemeyen siRNA (siRNA negatif kontrol) ile transfekte edilmiş hücreler ve ayrıca transfekte edilmemiş aynı koşullarda büyütülmüş hücreler kontrol olarak kullanıldı.

Sonuçlar: siRNA ile transfeksiyondan 24 saat sonra LEF1 ekspresyonu kantitatif RT-PCR ile analiz edildi. LEF1 siRNA'sı uygulanan hücreler, LEF1 NT-siRNA'ya göre %76 oranında (4,1 kat) baskılanmıştır. LEF1 baskılandığı durumda INSL5 ekspresyonunda değişiklik olup olmadığı kantitatif RT-PCR ile test edilmiştir. LEF1 siRNA kullanılarak baskılanan hücrelerde, siRNA negatif kontrole göre INSL5 ekspresyonunun %73 oranla azaldığı gösterilmiştir.

Tartışma: Bu çalışmanın sonucunda INSL5'in LEF1'in hedefi olabileceği gösterilmiştir. Çalışmamız LEF1 ile ilişkili yolların ve transkripsiyonel regülatör ağın daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunacaktır.

Anahtar Kelimeler: INSL5, LEF1, siRNA, Akut Lösemi, Jurkat Hücre Soyusu



Bilim Kuruluna Not: Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje Kodu: 3092

Polygala Azisancarii'nin Köklerinden İzole Edilen İki Ksantonun Nöroprotektif Aktiviteleri

Eda Becer¹; İhsan Çalış³; Ayşe Ünlü⁴; Zübeyde Uğurlu Aydın⁴; Azmi Hanoğlu³; Hafize Seda Vatansever^{2,5}; Ali A. Dönmez⁴

¹Doğu Akdeniz Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Gazimağusa, Cyprus

²Yakın Doğu Üniversitesi, DESAM Enstitüsü, Lefkoşa, Cyprus

³Yakın Doğu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, Lefkoşa, Cyprus

⁴Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye

⁵Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

Amaç: Polygala L. (Polygalaceae) cinsi, dünya genelinde görülen 500'den fazla türü içeren Polygalaceae'deki ailesinden bitkidir. P. Azisancarii, Polygala'nın Türkiye'de yetişen endemik türlerinden biridir. Polygala türlerinin birçoğu halk arasında anestezi, antiinflamatuvar ajanlar gibi farklı amaçlarla ve ayrıca merkezi sinir sistemi problemlerinin tedavisi için kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, P. Azisancarii köklerinden izole edilen iki ksantonun (1,3,6-trihidroksi-2,5,7-trimetoksiksanton ve 3-O-β-D-glukopiranosiloksi-1,6-dihidroksi-2,5) in vitro Alzheimer hastalığı (AH) model hücrelerindeki nöroprotektif aktivitelerini belirlemektir.

Yöntemler: Ksantonlar ilk kez P. azisancarii'nin köklerinden izole edildi ve 1D-NMR (1H NMR, 13C NMR, DEPT-135), 2D-NMR (COSY, NOESY, HSQC, HMBC) yöntemleri ile analiz edildi. Aβ25-35 peptitleri insan nöroblastoma (SKNAS) hücrelerinde Alzheimer hastalığı modeli oluşturmak için kullanıldı. Ksantonların sitotoksik etkisi 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il) -2-5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) yöntemi kullanılarak saptandı. Hücrelerdeki β-amiloid, α-sinüklein, tau, JAK2, STAT3, kaspaz 3 ve BMP-2 protein dağılımını indirekt immünoperoksidaz boyama kullanılarak belirlendi.

Sonuçlar: Her iki ksantonun 100 µM konsantrasyonlarının 48 saat süreyle hem SKNAS hem de in vitro AH model hücrelerinde koruyuculuğunun daha etkili olduğunu buldu. Ayrıca her iki ksanton in vitro AH model hücrelerinde nöronlar üzerinde koruyucu etkiye sahip olan JAK, STAT3 ve BMP2 proteinlerinin dağılımlarını azalttığı belirlendi. Ek olarak, ksantonlar, AH model hücrelerinde α-sinüklein ve tau agregasyonunu azalttığı saptandı.

Tartışma: Sonuçlarımız, P. Azisancarii'den izole edilen her iki ksantonun potansiyel olarak nöroprotektif ajanlar olarak kullanılabileceğini gösterdi. Her iki bileşenin de in vitro AH model hücrelerinde Alzheimer hastalığına karşı koruyucu etkileri gösterildi.

Anahtar kelimeler: Alzheimer hastalığı, Polygala azisancarii, nöroprotektif etki, endemik.

Bilim Kurulu'na Not: Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir [Proje Numarası: 118Z708].

Üçlü Negatif Meme Kanserinin Lenf Nodu Metastazında Gliserol-3-Fosfat Dehidrogenaz ve Monoasilgliserol Lipazın Düzenlenmesi: Meme Kanseri Metastazı İçin Potansiyel Biyobelirteçler

Merve Gülsen Bal Albayrak¹; Turgay Şimşek²; Gürler Akpınar¹; Murat Kasap¹; Nuh Zafer Cantürk²

¹Kocaeli Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye

²Kocaeli Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye

Amaç: Meme kanseri (MK), metastazının lenf nodlarına veya uzak organlara yayılmasının, meme kanseri ile ilişkili ölümlerin çoğundan sorumlu olduğu önemli bir küresel sağlık sorunu olarak kalmaktadır. Meme kanseri metastazının erken tespiti etkili hastalık yönetimi için önemlidir. Tıp bilimlerinde ve teknolojilerindeki ilerlemelere rağmen, MK'nın görülme sıklığı ve ölüm oranları artmaya devam etmektedir. Grubumuz tarafından yapılan önceki araştırmalar, gliserol-3-fosfat dehidrogenaz (GPD1) ve monoasilgliserol lipaz (MAGL)'ın üçlü negatif meme kanseri (ÜN-MK) hastalarının doku ve serum örneklerinde, diğer MK alt tipleri ve kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük düzeyde ifade edildiğini ortaya koymuştur. ÜN-MK'nın agresifliği göz önüne alındığında, GPD1 ve MAGL düzeylerinin lenf nodu metastazı ile potansiyel ilişkisini araştırmak bu çalışmada amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu amaçla, Western Blot analizi kullanarak metastaz yapmış MK alt tiplerinin (Luminal A, Luminal B/Her+, Luminal B/Her2-, Her2 OE, ÜN-MK) lenf nodu protein ekstraktlarında GPD1 ve MAGL düzeylerindeki değişiklikleri incelenmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ifade farklılıklarını belirlemek için karşılaştırmalı bir analiz yapılmıştır.

Sonuçlar: Bulgularımız, GPD1 ve MAGL'nin ÜN-MK alt tipinin lenf nodu metastazında, diğer MK alt tipleri ve kontrollerden daha fazla düşük düzeyde düzenlendiğini göstermiştir.

Tartışma: Bu sonuçlar, GPD1 ve MAGL'nin, ÜN-MK başlangıcı ve metastazı için umut verici biyobelirteçler olarak potansiyel önemini vurgulamaktadır. Bu proteinlerin işlevsel rollerine yönelik daha fazla araştırma, agresif meme kanseri alt tipleri için hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Gliserol-3-fosfat dehidrogenaz, Lenfatik metastaz, Meme neoplazmaları, Monoasilgliserol lipazlar.

Bilim Kuruluna Not: Bu çalışma, Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2014/057 numaralı hibe ile desteklenmiştir.

Meme Kanseri Hücrelerinde STAT1 Ve STAT3 Ekspresyon Düzeylerinin Timokinon Uygulanması İle Azalması

Tuğcan Korak¹; Merve Gülsen Bal Albayrak¹; Murat Kasap¹; Gürler Akpınar¹

¹Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli, Türkiye

Amaç: Doğal bir bileşik olan Thymoquinone (TQ), anti-proliferatif, anti-metastatik ve immünomodülatör etkiler sergileyerek meme kanserinde (MK) antikanser özellikler göstermektedir. Sinyal transduseri ve transkripsiyon aktivatörü (STAT)1 tümör immün sürveyansını baskılayarak ve invazivliği indükleyerek tümör büyümesini desteklemektedir. Benzer şekilde STAT3 de metastaz ve anjiyogenezi uyararak tümör agresifliğini arttırmaktadır. STAT1 ve STAT3'ün anormal aktivasyonu, MK dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde tespit edilmiştir. Bununla birlikte, tümörjenik rollerine rağmen, her iki gen paradoksal olarak tümör baskılayıcı fonksiyon da taşımaktadır. Bu çalışmanın amacı TQ'nun MK hücrelerinde STAT1 ve STAT3 proteinlerinin ekspresyonu üzerindeki etkilerini araştırmak ve bu proteinlerin çok yönlü rollerine katkıda bulunmaktır.

Gereç ve Yöntem: MCF7 hücrelerine daha önceki çalışmamızda optimize edilen şartlarda 37oC 'de 15 µM konsantrasyonda 48 saat boyunca TQ uygulaması yapıldı. TQ uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) MCF7 hücrelerinden total protein kalitesi validasyonu 1D SDS-PAGE jeli (%12) ile gerçekleştirildi. STAT1 ve STAT3 proteinlerinin ekspresyon seviyeleri Western Blot ile belirlendi. ImageJ programı ile protein kuantifikasyonu yapıldı ve bulguların anlamlılığı "unpaired t test" ile GraphPad Prism (10.0.1) programı kullanılarak analiz edildi.

Sonuçlar: Yüksek kaliteli total protein elde edildi. TQ uygulanan MCF7 hücrelerinde STAT1 ve STAT3 ekspresyonlarının sırasıyla ~23 ve ~290 kat istatistiksel olarak anlamlı azalışa sahip olduğu görüldü (p<0.05).

Tartışma: TQ'nun MCF7 hücre proliferasyonunu inhibe edip STAT1 ve STAT3 ekspresyonlarını belirgin bir şekilde azaltması, ilgili genlerin tümör indükleyici özelliklerini baskıladığını işaret etmektedir. TQ'nun STAT ile ilişkili yolları etkileme potansiyeli göz önünde bulundurulduğunda, bulgularımız TQ'nun meme kanserine karşı umut verici etkilere sahip olduğunu göstermektedir. TQ üzerine yapılacak kapsamlı ileri araştırmalar, yeni antikanser yaklaşımlarının tanımlanmasına katkıda bulunabilir.

Anahtar Kelimeler: Meme neoplazmi, STAT1, STAT3, timokinon.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Covid -19 Hastalarında Olası İmmun Cevap Olarak microRNA –Hedef Gen Analizi

Cigdem GUNGORMEZ¹

¹Siirt Üniversitesi, Siirt, Türkiye

Amaç: COVID-19 pandemisi her ne kadar etkinliğini yitirmiş olsa da, altta yatan genetik mekanizmaları, genler arası transkripsiyonel iletişimini açıklayacak yeterli düzeyde bilgiye net olarak halen sahip değiliz. Transkripsiyonel ürünleri etkileyen epigenetik faktörlerden biri olarak bilinen mikroRNA'lar, kanser, diyabet gibi birçok hastalık oluşumunda, inflomatuvar yanıtlar dahil birçok hücrel mekanizmalar üzerinde de etkiside bulunmaktadır. Bu etkileşimlerden yola çıkarak GEO üzerine set edilmiş COVID-19 hastalara ait array mikroRNA ham datalardan biyoinformatik analizler yaparak inflomatuvar yanıt-mRNA mekanizması üzerinde hedef gen etkileşimlerinin anlaşılmasına ışık tutmaktır.

Method: GEO veri tabanından GSE 182183, GSE 236017, GSE 182152, GSE 166160 olarak set edilmiş COVID-19enfaksiyonu geçiren hastalara ait miRNA örnekleri DIANA TarBase v.8, TargetScan, miRTarBase, and miRDB yazımları kullanılarak hedef gen ve yolları KEGG ile belirlenerek Gen –protein interaksiyonları yapıldı.

Sonuç: GSE miRNA verilerinin biyoinformatik analizi sonucunda özellikle hsa-miR-15a-3p, hsa-miR-27a-3p, hsa-miR-146a-5p'nin dow regülasyonun, pro-inflamatory sitokin-sitokin interaksiyonuna (EGFR, IL-7, IL-15, IL-17RB, IL-6ST) aktivasyonu üzerinde etkili olabildiği; hsa-miR-192-5p, hsa- miR-150-3p, hsa-miR-34c ve hsa-miR-150-5p'nin up regülasyonun regülasyonun birçok örnekte değiştiği görülmüştür.

Tartışma: mikroRNA'lar COVID-19 hastalık genetik etkileşim mekanizmasına inflomatuvar yanıt olarak kabul edilecek bir prognoz olmasının yanı sıra olası aşı çalışmalarında mRNA mekanizmaların moleküler hedefleri anlaşılmasına katkı sağlanması beklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: COVID, mikroRNA, Post-transkripsiyonel regülasyon, Sitokin interaksiyonu



Hematopoitik Kök Hücre Gen Tedavisinden Önce Hazırlık Rejimi Olarak Miyelotoksik Olmayan Ajanlar Kullanılabilir

Mehmet Emin Şeker^{1,2}; Özgür Doğuş Erol^{1,2}; Burcu Pervin^{1,2}; Fatima Aerts-Kaya^{1,2}

¹Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara, Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Bilimleri ABD, Ankara, Türkiye

Amaç: Bu çalışmada genetiği düzeltilmiş hematopoitik kök hücrelerin (HKH) nakli öncesinde hazırlık rejimi amaçlı olarak kullanılacak, miyelotoksik olmayan bir rejim geliştirmeyi amaçladık. G-CSF, VLA-4I ve AMD3100, hematopoitik kök hücrelerin mobilizatörleri olarak bilinir veya kemik iliği geçirgenliğini etkilemektedir. İntravenöz olarak nakil edilen (transdüksiyona tabi tutulan) hematopoitik kök hücrelerin herhangi bir zarar vermeden kemik iliği nişine geri dönmesini destekleyebilir.

Yöntemler: Rag2^{-/-} farelere hazırlık rejimi olarak BU, G-CSF, VLA-4I veya AMD3100 verilmiştir. Erkek farelerden alınan c-kit⁺ RAG2^{-/-} kemik iliği hücreleri, hRAG2co taşıyan lentiviral vektör ile transdüksiyon sonrası dişi Rag2^{-/-} farelerine nakledilmiştir. Nakilden sonra 1. ve 3. ayda periferik kanda CD45, CD3, CD19, CD11b, CD45R ve NK1.1'in ekspresyonları, 6. ayda da dalak ve kemik iliğindeki ekspresyonları değerlendirmiştir.

Bulgular: Periferik kandaki (PB) hücre sayıları G-CSF, VLA-4I ve AMD3100 ile tedavi edilen gruplarda istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttı, ancak BU ile tedavi edilen grupta bir artış olmadı. Farelerin transplantasyonundan sonra CD3⁺ ve CD19⁺ PB hücrelerinin rekonstitüsüyonu tüm gruplarda benzerdi, ancak BU ile tedavi edilen fareler hızlandırılmış CD19⁺ rekonstitüsüyonu gösterdi. Transplantasyondan 6 ay sonra, tüm farelerde, farklı hazırlık rejimlerine rağmen bağışıklığın yeniden yapılanması görüldü. Yeniden oluşturulmuş dalak lenfositleri, aktivasyon sinyallerine yanıt verdiği görüldü. BU ile tedavi edilen farelerin hayatta kalması, diğer grupların herhangi birindeki farelerin hayatta kalmasından istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşüktü; en yüksek hayatta kalma oranı AMD3100 ile tedavi edilen grupta ve bunu G-CSF ve VLA-4I takip etti ancak genel bağışıklık yeniden yapılanması G-CSF ve VLA-4I tedavi edilen farelerde en iyi düzeydeydi.

Sonuç: Burada miyelotoksik olmayan G-CSF, VLA-4I ve AMD3100 kimyasallarının hematopoitik kök hücrelerin gen tedavisinden önce hazırlık rejimi olarak oldukça etkili olduğunu ve BU yerine kullanılabilirliğini gösteriyoruz. En güçlü bağışıklık yeniden yapılanması, G-CSF ve VLA-4I ile tedavi edilen gruplardan sonra gözlemlendi.

Plectin Ve İzofomlarının Kanser Gelişimindeki Potansiyel Rolüne Dair Yeni Bir Bakış

Hulya Gundesli¹; Medi Kori²; Kazim Yalcin Arga^{2,3}

¹Gulhane Faculty of Medicine, University of Health Sciences, Ankara, Turkey, Ankara, Türkiye

²Department of Bioengineering, Faculty of Engineering, Marmara University, Istanbul, Türkiye

³Health Biotechnology Joint Research and Application Center of Excellence, Istanbul, Türkiye

Amaç: Plectin proteinini kodlayan PLEC gen ifadesi çeşitli kanser tiplerinde farklılık göstermektedir. Bu gen ürünü, hücre iskeleti ağlarını organize eden çok fonksiyonlu bir bağlayıcı ve sinyal iletiminde iskele proteini olarak işlev görmektedir. Bu çalışmada, PLEC ve sekiz benzersiz izoformu (PLEC1, PLEC1a, PLEC1b, PLEC1c, PLEC1d, PLEC1e, PLEC1f, PLEC1g) kanserin teşhisi ve ilerlemesi sürecinde diyagnostik ve/veya prognostik biyobelirteç olabilme potansiyelleri açısından biyoenformatik bazlı çalışmalarla analiz edilmiştir.

Gereç ve Yöntem: TCGA (The Cancer Genome Atlas) RNA-dizileme verisi kullanılarak ve dört kanser evresi dikkate alınarak 12 farklı kanser tipi (BRCA-Meme Kanseri, COAD-Kolon Adenokarsinoma, HNSC-Baş ve boyun skuamöz hücre karsinomu, KIRC-Böbrek temiz hücre karsinomu, KIRP-Böbrek renal papillar hücre karsinomu, LIHC-karaciğer hepatoselüler karsinom, LUAD-Akciğer adenokarsinoma, LUSC-Akciğer skuamöz hücre karsinomu, PRAD-Prostat adenokarsinoma, STAD-Mide adenokarsinoma, THCA-Tiroid kansinoma, UCEC-Uterin korpus endometriyal kansinoma) için PLEC ve sekiz farklı transkript izoformunun ifade analizleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, PLEC ve izoformlarının 12 kanser tipi ve dört kanser evresi için Kaplan–Meier (KM) plot ile prognostik ve Receiver Operating Characteristics (ROC) eğrisi ile diyagnostik performansları değerlendirilmiştir.

Sonuçlar: PLEC izoformlarının her biri farklı kanser tipleri ve evrelerinde farklı ifade profiline sahipken PLEC ifadesi belirlenen kriterler çerçevesinde anlamlı değişiklik göstermemiştir (Şekil1). Ayrıca, PLEC transkript izoformları için yapılan ifade, KM plot ve ROC eğrisi analizleri birlikte değerlendirildiğinde PLEC 1d'nin özellikle KIRC metastatik evreleri için prognostik ve diyagnostik ve PLEC 1f'in LUSC için prognostik etkiye sahip potansiyel biyobelirteç adayları olabileceği dikkat çekmektedir.

Tartışma: Buna göre, tüm biyobelirteç belirleme çalışmalarında sadece gen düzeyinde analiz yapmak hatalı negatif/pozitif sonuçların ortaya çıkmasına neden olabilir. Bu sebeple özellikle izoform düzeyinde analizlerin yapılması elzemdir. Bununla birlikte, elde edilen sonuçlar çeşitli kanser tiplerinin gelişimi ve ilerlemesinde özellikle invazyon ve metastaz süreçlerinde bazı plectin izoformlarının önemli rol oynayabileceğini ve kanser evresine özgü potansiyel prognostik ve/veya diyagnostik biyobelirteç olabileceklerini göstermektedir. Ancak, bu bulguları desteklemek için çeşitli fonksiyonel çalışmalar yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: PLEC, plectin izoformları, kanser, prognostik biyobelirteç, diyagnostik biyobelirteç

HEPG2 Hücre Hattında Ferroptoz ile İlişkili Genlerin Ekspresyon Değişimlerinin İncelenmesi

Pınar Köseoğlu-Büyükkaya¹; Aybike Sena Özuynuk-Ertuğrul¹; Neslihan Çoban¹; Nihan Erginel-Ünaltuna¹

¹İstanbul Üniversitesi Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Ferroptoz yeni keşfedilen lipid peroksitleriyle tetiklenen demire bağımlı bir hücre ölümü şeklidir. Ferroptozun düzenlenmesi için birçok yolak ve ilgili gen tanımlanmıştır. Bu çalışmada, ferroptoz yolağında yer alan genlerin ekspresyonunun nasıl etkilendiğini araştırmak amacıyla HEPG2 hücre hattında in vitro ferroptoz oluşturmak için ferroptoz indükleyicisi ve onun inhibitörü kullanıldı.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada HEPG2 hücre hattında ferroptoz indükleyicisi olan erastin ve inhibitörü olan ferrostatin-1 ile yapay ferroptoz ortamı oluşturuldu. Ferroptozun doğrulanması için hemositometre ile hücre sayımı ve akım sitometri deneyleri yapıldı. Optimizasyondan sonra 35µM Erastin ve 2.5 µM Ferrostatin-1 kullanılarak deneylere devam edildi. Ferroptoz oluşumu akım sitometri ve hemositometre ile hücre sayımı yapılarak doğrulandı. Hücre kültüründe ferroptoz oluşturulduktan sonra HEPG2 hücre hattındaki SLC7A11, GPX4, BNIP3L, RAD21 ve HMOX-1 genleri üzerinde kantitatif RT-PCR (qPCR) analizi yapıldı.

Sonuçlar: Akım sitometri analizleri sonucunda 35µM Erastin koşulunda kontrole göre lipid peroksidasyon %46,93 olurken 35µM Erastin+2.5 µM Ferrostatin-1 koşulunda bu artış %14,15 olmuştur. İnhibitör madde uygulanan koşula göre sadece erastin uygulanan hücrelerde lipid peroksidasyonu 3 kat artış göstermiştir. Sonuç olarak, in vitro deney şartlarında erastin ve ferrostatin-1 ile hücre kültüründe başarılı bir şekilde ferroptoz oluşturulmuştur. qPCR sonuçlarına göre, Erastin ve Ferrostatin-1 varlığında RAD21 ve GPX4 gen ekspresyonları azalırken SLC7A11, BNIP3L ve HMOX-1 gen ekspresyonlarının kontrole göre arttığı gösterilmiştir.

Tartışma: RAD21, SLC7A11, BNIP3L ve GPX4 gen ekspresyonlarının HEPG2 hücre hattındaki erastin ve erastin ile ferrostatin-1'in birlikte uygulandığı koşullarda aynı yönde değiştiği görülmüştür. Bu sonuçlar, söz konusu genlerin ekspresyonlarının erastinden etkilendiğini ancak ferrostatin-1'den etkilenmediğini göstermektedir. Ferrostatin-1 gen ekspresyonunu dolaylı olarak lipid peroksidasyonunu düşürerek etkileyebileceği düşünülmektedir.

RAB27A Gen Tedavisi ve Olası Tümörijenik Etkilerinin İncelenmesi

Özgür Doğuş Erol^{1,2,3}; Mehmet Emin Şeker^{2,1}; Burcu Pervin^{1,2}; Burcu Özçimen^{2,1}; Şimal Şenocak^{1,2}; Merve Gizer^{4,5,1}; Petek Korkusuz^{5,1,4}; Hasan Basri Kılıç⁶; Yusuf Çetin Kocaefe⁶; Fatima S. F. Aerts-Kaya^{2,3,1}

¹Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Bilimleri Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara, Türkiye

³Hacettepe Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi (HUNİTEK), Ankara, Türkiye

⁴Hacettepe Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁵Orta Doğu Teknik Üniversitesi MikroElektroMekanik Sistemler (MEMS), Ankara, Türkiye

⁶Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Amaç: Küçük GTPaz olan RAB27A proteini hücre içi membran trafiğinde, vesikül oluşumunda ve ekzositozunda görev almaktadır. RAB27A mutasyonları immün yetmezlik olan Griscelli Sendromu tip II (GS-2)'ye neden olmaktadır. Bu çalışmada GS-2 için lentiviral vektör (LV) ile gen eklenmesi, CRISPR-Cas9 ile homolog rekombinasyon ile mezenkimal kök hücre (MKH) ve uyarılmış pluripotent kök hücre (uPKH) gen düzeltme araştırmaları yapılmıştır. Aynı zamanda LV ile aşırı ifadesi sağlanan RAB27A'nın olası tümörijenik etkilerini incelemek için hematopoetik kök hücre (HKH) ve MKH üzerinde risk değerlendirmeleri yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: RAB27A ekzon 3 delAGinsC ve ekzon7 delCAAGC CRISPR/Cas9 düzeltmeleri için CRISPR elemanları (gRNA ve donör DNA) tasarlanmıştır. Lentiviral aktarım için PGK-RAB27Aco, SF-RAB27Aco-GFP ve UCOE-RAB27Aco, kontrol olarak PGK-GFP kullanılmıştır. CRISPR/Cas9 düzeltmeleri için GS-2 MKH ve GS-2 uPKH'ler kullanılmıştır. Düzeltilen uPKH'lerin mutasyon bölgeleri sekanslanmıştır. Lentiviral aktarım sonrası RT-PCR, akım sitometri ve Western Blot ile RAB27A gen ve protein ifadelerine bakılmıştır. Tümörijenik risk değerlendirmeleri için sağlıklı donör MKH ve HKH'lerde SF-RAB27Aco-GFP ile aşırı RAB27A ifadesi sağlanıp Rag2^{-/-} farelere nakiller yapılmıştır.

Sonuçlar: CRISPR ile düzeltilen GS-2 uPKH'lerin sekanslama sonrası hücrelerin bir kısmında düzeltme görülmüştür. PGK-RAB27Aco (MOI:30) ve UCOE-RAB27Aco (MOI:100) ile MKH'lerde >%50 RAB27A ifadesi sağlanmıştır. PGK-RAB27Aco ile GS-2 uPKH'lere yapılan aktarım sonrası RAB27A ifadesinde 10.000 kat artış gözlemlenmiştir. PGK ile aktarılan RAB27A proteini UCOE ile aktarıma göre yüksek çıkmıştır. RAB27Aco'nun olası tümörijenik etkilerinin incelenmesi için daha güçlü SF-RAB27Aco kullanılmıştır. Nakil edilen farelerde PK'da veya bölgesel histolojik incelemelerde herhangi bir tümörijenite bulgusuna rastlanmamıştır.

Tartışma: PGK-RAB27Aco, UCOE-RAB27Aco, SF-RAB27Aco konstraktları ile hem sağlıklı hem de GS-2 hücrelerinde başarılı olarak RAB27A ifadeleri sağlanmıştır. PGK promotorünün etkileri, metilasyona dirençli olan UCOE promotoruna göre daha güçlüdür. Ancak, CRISPR sürecine bağlı olarak uPKH'lerde yoğun hücre ölümü tespit edilmiştir. RAB27A yüksek ifadesi sağlanan HKH ve MKH nakilleri sonucunda in vivo deneylerde herhangi bir tümörijenik etki gözlenmemiştir. Geliştirilen LV-RAB27A gen tedavisinin etkili olduğu ve herhangi bir tümörijenik yan etki görülmemiştir.

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 1001 proje no 219S675, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) proje no TUK-17760 ve proje no THD-19940 tarafından desteklenmiştir., Ankara, Türkiye



4-Hidroksitamoksifen Yüklenen Mezenkimal Kök Hücre Kaynaklı Eksozomlar, Tamoksifene Dirençli MCF 7-TAM1 Meme Kanseri Hücrelerinde PI3K/MAPK ve Hippo Yolaklarının İnhibisyonunda Rol Oynar

Havva Tezcan Ünlü¹; Gülşah Çeçener¹; Ufuk Ünal¹; Derya Sağraç²; Oğuz Kaan Kırbaş²; Pakize Neslihan Taşlı²; Ünal Egeli¹; Fikrettin Şahin²

¹Bursa Uludağ University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Bursa, Türkiye

²Yeditepe University, Faculty of Engineering, Department of Genetics and Bioengineering, İstanbul, Türkiye

Amaç: Östrojen reseptörü pozitif meme kanseri tedavisinde PI3K/MAPK ve Hippo yolakları, tamoksifen direncindeki rolleri nedeniyle dikkat çekmektedir. Mevcut çalışmada, mezenkimal kök hücreler (MKH) tarafından salınan eksozomların, ilaç taşıyıcı sistem olarak etkinliğinin belirlenmesi ve MCF7-TAM1 hücrelerine uygulanan 4-hidroksitamoksifen (4-OHT) yüklü eksozomların (4-OHT-Exo), PI3K/MAPK ve Hippo yolağı üzerine etkisinin araştırılması hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamında, insan MKH'lerinin besiyeri ortamındaki eksozomları, kit reaktif kullanılarak izole edildi. Eksozom karakterizasyonu; TEM, western-blot ve nanopartikül izleme analizi (NTA) ile gerçekleştirildi. Eksozomlara 4-OHT yükleme işlemi, elektroporasyon ile gerçekleştirildi. MCF7-TAM1 hücrelerine uygulanan 4-OHT sitotoksitesisi WST-1 analizi ile belirlendi. 4-OHT-Exo ile tedavi edilen MCF7-TAM1 hücrelerinde, PI3K/MAPK ve Hippo yolaklarındaki genlere (Kontrol ACTB, ESR1, PIK3CA, MAP2K1, SRC3, YAP1, TAZ, MST1, MST2, LATS1 ve LATS2) ait ekspresyon seviyeleri RT-PCR cihazında analiz edildi. Yolak aktivasyon analizi ve hücre siklusu analizi gerçekleştirildi.

Sonuçlar: NTA analizi ile ortalama boyut dağılımı ve yoğunluğu incelenen eksozomların yaklaşık 50-200 nm boyutlarında olduğu ve konsantrasyonunun $3.40 \times 10 \pm 6.20 \times 10^8$ partikül/ml olduğu tespit edildi. TEM'de eksozom boyutları <200 nm olarak belirlendi. CD9, CD63 ve CD81 protein varlığı western-blot analizi ile tespit edildi. 4-OHT'nin 48. saatteki IC50 değeri 25 µM olarak belirlendi. 4-OHT ve 4-OHT-Exo ile tedavi edilen MCF7-TAM1 hücrelerinin 48. saatteki canlılık oranları sırasıyla; %48,8 ve %37,6 olarak belirlendi. MCF7-TAM1 hücrelerindeki PI3K aktivasyonu; kontrol grubunda %49.1 iken sadece 4-OHT uygulanan grupta %44.6, 4-OHT-Exo grubunda %38.1 olarak belirlendi. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan gen ekspresyon seviyeleri incelendiğinde; ESR1'de -2.68 kat azalma (p=0.006), PIK3CA'da -1,77 kat azalma (p=0.028) ve TAZ geninde -1.58 kat azalma (p=0.037) tespit edildi. Ayrıca, 4-OHT-Exo tedavisi hücre siklusunu G0/G1 fazında durdurdu.

Tartışma: Mevcut çalışmada, tamoksifen yüklü eksozomların, ilacın etki mekanizmasını pozitif yönde etkilediği belirlendi. İlaç taşıyıcı sistem yaklaşımı olarak eksozomal doğal keseciklerin kullanılması endokrin tedavinin terapötik etkinliğine katkı sağlamaktadır.

Anahtar kelimeler: Eksozom, Hippo sinyal yolağı, İlaç taşıyıcı sistem, Meme kanseri, PI3K sinyal yolağı, Tamoksifen.

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TGA-2021-198 no'lu proje ile desteklenmiştir. Yazar Havva Tezcan Ünlü, Moleküler Onkoloji alanında 100/2000 Yükseköğretim Kurulu bursiyeri ve 2211-C Yurt İçi öncelikli alanlar doktora bursiyeridir.

Anjiyopoinetin Benzeri Protein 8 Rs2278426'nın Minör Alleli Koroner Arter Hastalığı ve Tip 2 Diyabetes Mellitus Patoloji Mekanizmalarını Etkiler

Aslıhan Gizem Bilgin¹; Aybike Sena Özuynuk-Ertuğrul¹; Aycan Fahri Erkan²; Berkay Ekici³; Neslihan Çoban¹

¹*İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

²*Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

³*Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye*

Amaç: Koroner Arter Hastalığı (KAH) dünyada önde gelen ölüm nedenlerinden biridir. Aşırı tüketildiğinde KAH'ın nedenlerinden biri olan trigliseritler, lipoprotein lipaz (LPL) tarafından üç yağ asidi ve bir gliserole parçalanır. Anjiyopoinetin benzeri protein 8 (ANGPTL8), esas olarak lipit mekanizmasında LPL aktivitesini düzenleyerek işlev görür. Bu çalışmada ANGPTL8 polimorfizmi-rs2278426 ile KAH'ın şiddeti ve varlığı arasındaki ilişkileri belirlemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Koroner anjiyografi yapılan toplam 1367 birbirinden bağımsız Türk birey çalışmaya alındı ve bireyler koroner anjiyografi sonuçlarına göre KAH'lı (n=736) veya KAH olmayan (n=549) ve tip 2 diyabet (T2DM) durumlarına göre olarak gruplandı. Katılımcılar, kantitatif gerçek zamanlı PCR ile rs2278426 (C/T) için genotiplendi. Rs2278426 polimorfizminin alel ve genotip dağılımı incelendi. Ayrıca genotip dağılımları ile seçilen biyokimyasal parametreler arasındaki ilişkiler değerlendirildi.

Sonuçlar: KAH hastaları arasında T allelini taşıma sıklığı T2DM grubunda daha düşüktü (p=0,046). Ayrıca KAH olmayan grupta erkek T2DM hastalarının, T2DM olmayan bireylere göre T allel taşıyıcılığı daha yaygındı (p=0,033). T2DM'nin önemli bir risk faktörü olan obeziteye göre düzeltilmiş lojistik regresyon analizinde, T alleli taşıyan CAD olmayan erkeklerde T2DM riskinin arttığı görüldü (OR= 2,244, %95 CI: 1,057-4,761, p=0,035). Ayrıca T2DM grubunda, T alleli taşıyan erkeklerde, KAH şiddetinin belirteçlerinden olan darlık (p=0,002) ve SYNTAX skoru (p=0,040), taşıyıcı olmayanlara göre daha düşüktü.

Tartışma: Sonuç olarak ANGPTL8, KAH ve T2DM'nin patoloji mekanizmalarının aydınlatılmasına yardımcı olabilecek potansiyel bir proteindir. ANGPTL8 rs2278426'nın T alleli taşıyıcılığının T2DM hastalarında KAH üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğunu bulduk. ANGPTL8 rs2278426 ile CAD arasındaki ilişkinin kökenini araştırmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: ATEROSKLEROZ, anjiyopoinetin benzeri protein 8, koroner arter hastalığı, rs2278426.



Alzheimer Hastalarının Beyin Omurilik Sıvısında Mitokondriyal Protein Fosfoenolpiruvat Karboksikinaz 2 Düzeyinin Araştırılması

Nazlıcan İlhan¹; Sümeyra Ildız²; Erdi Şahin³; Pelin Sordu²; Bedia Samancı³; Merve Alaylıoğlu²; Haşmet Ayhan Hanağası³; İbrahim Hakan Gürvit³; Başar Bilgiç³; Erdinç Dursun²; Duygu Gezen-Ak²
¹İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye, İstanbul, Türkiye

³İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Davranış Nörolojisi ve Hareket Bozuklukları Birimi, İstanbul, Türkiye, İstanbul, Türkiye

Amaç: Alzheimer hastalığı (AH) nöropatolojisi amiloid plakları, nörofibriler yumakları ve nöron kaybı ile karakterizedir. AH, hücre dışı senil plak oluşumunu içerir. Beyinde β -amiloid ($A\beta$)'in aşırı üretiminin AH'nin birincil nedeni olduğu bilinmektedir. $A\beta$ peptidi nukleusa göç edip ve nukleer genomdaki bazı genlerin transkripsiyonunu etkileme potansiyeline sahiptir. Bu bakımdan $A\beta$, bir transkripsiyon faktörü (TF) gibi davranabilmektedir. Üç TF (Jun, Fos ve RELA) ile $A\beta$ 'nin doğrudan etkileşimi FpClass tahmin aracı kullanılarak belirlenmiştir. Bu üç transkripsiyon faktörünün ekspresyonunu kontrol ettiği ortak proteinlerden biri mitokondriyal Fosfoenolpiruvat Karboksikinaz 2 (PCK2) proteindir. PCK2'nin glukoneogeneze aracılık ettiği gösterilmiştir. Nöronlar yüksek mitokondriyal aktiviteye ihtiyaç duyar ve bu bağlamda PCK2 proteinin nöronal fonksiyonda ve nörodejenerasyonda kritik bir yeri olabileceği önerilmiştir. Sunulan çalışma kapsamında AH beyin omurilik sıvısı (BOS) örneklerinde PCK2 mitokondriyal protein değişikliğinin, AH ilerlemesi ile ilgili olabileceği ve biyobelirteç olarak izlenme potansiyeline sahip olabileceği hipotez edilmiştir.

Gereç ve Yöntem: 19 Alzheimer hastası ile bu hastalarla yaş paralelliği gösteren ve kognitif olarak sağlıklı olup bu birime başvurmuş 12 SCI teşhisi almış olan bireylerin BOS örnekleri kullanılmıştır. Bireylerin alınan BOS örneklerinde PCK2 seviyelerinin araştırılması amacıyla ELISA yöntemi uygulanmıştır. ELISA deneylerinden elde edilen ölçüm sonuçları istatistiksel olarak datanın normal dağılıp dağılmamasına ve elde edilen standart sapmaların arasındaki farkın anlamlı olup olmamasına göre Graphpad Prism ile analiz edilmiştir. $p < 0,05$ istatistiksel açıdan anlamlı fark olarak kabul edilmiştir.

Bulgular: Elde edilen sonuçlarda PCK2 seviyesinin Alzheimer hastalarının BOS'larında (323.5 ± 164.6 pg/ml) SCI kontrollerine (249.5 ± 88.8 pg/ml) kıyasla daha yüksek olduğu ancak bu farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Sonuç: Bu çalışma PCK2'nin, AH patolojisinde hasta BOS'larından takip edilebilecek bir biyobelirteç olma potansiyelleri araştıran ilk çalışma olmayı temsil etmektedir. Bu çalışmada, PCK2 seviyesi Alzheimer hastalarında artmış olmasına karşın bu artış istatistiksel açıdan anlamlı değildir. Çalışma hasta sayıları artırılarak devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer hastalığı, nörodejenerasyon, fosfoenolpiruvat karboksikinaz 2. Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (Proje No: 37292) tarafından desteklenmiştir.

Prenatal Tanıya Yönelik cffDNA İzolasyon Metodu Geliştirilmesi

TUGBA ELGUN¹; PINAR ATA²; YASEMIN MUSTERİ OLTULU¹; Halil İbrahim ARSLAN¹

¹Biruni Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İstanbul, Türkiye

²Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, İstanbul, Türkiye

Giriş: Prenatal tanıda karşılaşılan en büyük zorluk hekimin fetüs ile doğrudan temas edememesidir. Aile ve hekim tarafından son yıllarda non-invaziv tekniklere olan talep gün geçtikçe artmaktadır. Maternal dolaşımdan cff-DNA elde edilmesine yönelik araştırmalar ve tarama testlerinin geliştirilmesi en güncel yaklaşımlar arasında yer almaktadır. Çalışma ile özellikle prenatal tanıda kullanılabilir kadar hassas ve yeterli fetal DNA'nın elde edilebilmesi için cff-DNA izolasyon protokolü geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Erkek fetüs taşıdığı ultrason ile belirlenen 30 gebeden 10. ila 30. haftaları arasında üç trimestere (I., II. ve III.) ait maternal kan örnekleri (plazma) alınmıştır. Fetal DNA varlığının gösterilmesi için qPCR (Bio-Rad-CFX96 Touch Real-Time PCR System) yöntemi ile SRY ve DYS14'e (Y kromozomunu ifade eden gen bölgesi) özgü tasarlanan primer probalar kullanılarak genlerin ekspresyonu var-yok analizi ile değerlendirilmiştir. Çalışmada SRY ve DYS-14 genlerinin artmış ekspresyonu, gebelerde anne genomu düşünülmeden fetal genetik materyalin varlığını göstermektedir. QIAamp DSP Virus Kit, MagMAX (Thermo) ve geliştirmiş olduğumuz yeni protokol ile elde edilen cffDNA miktarı ve saflığı karşılaştırılmıştır.

Sonuç: Geliştirilen protokol ile cffDNA miktarları; ilk trimesterde 3.542 ± 0.89 ng/ul, ikinci trimesterde 4.191 ± 1.127 ng/ul ve son trimesterde 6.273 ± 1.641 ng/ul olarak belirlendi. Ticari kitler ile benzer oranlarda cffDNA miktarı bulunmuş olması çalışmanın başarısını göstermektedir. SRY ve DYS14 genotipleme yapıldıktan sonra 30 plazma örneğinin %90'ında (27/30) SRY ve %93,3'ünde (28/30) DYS14 genin ekspresyonunda artış olduğu saptandı ($p < 0,05$). Bebeklerin cinsiyetinin %96,4'ünün (29/30) erkek olduğu doğum sonrası veriler ile doğrulandı. Çalışmamızda DYS14'ün SRY gen bölgesine göre daha duyarlı olduğu belirlendi.

Tartışma: Non-invaziv yöntemlerin araştırıldığı bu tür çalışmalarda daha büyük bir popülasyona ulaşmak hedeflenmelidir. Çalışmada doğum sonrası verilerinin de değerlendirildiği göz önünde bulundurulduğunda geliştirilen cffDNA izolasyon metodunun sensitivite ve spesifitesinin oldukça yüksek olduğu görülmüştür.

Table 1: Amounts of cff-DNA Obtained by Weeks of Pregnancy

GEBELİK DÖNEMİ	cff-DNA (ng/ul)
Pregnant in the I. trimester (10-12 weeks)	3.542 ± 0.89
Pregnant in the II. trimester (13-26 weeks)	4.191 ± 1.127
Pregnant in the III. trimester (27 weeks)	$6.273 \pm 1.641^*$

Table 2: Evaluation of accuracy and precision of cff-DNA for SRY and DYS14 genotyping with real-time PCR analysis

SRY, DYS-14 Genotyping Result with cff-DNA	Expected Gender		Postpartum Gender
	SRY	DYS14	Male (XY)
Positive (+)	% 90 (27/30)	%93,3 (28/30)	% 96,6 (29/30)
Negative (-)	% 10 (3/30)	%6,7 (2/30)	% 3,4 (1/30)

Titanyum Bazlı Nanotopografik Yüzeylerle Mezenkimal Kök Hücre Modifikasyonu

Nur Kubra Tasdemir¹; Bogac Kilicarslan²; Gozde Imren^{1,3}; Beren Karaosmanoglu³; Cem Bayram²; Ekim Z. Taskiran^{1,3}

¹Hacettepe University, Institute of Health Sciences, Department of Medical and Surgical Research, Ankara, Türkiye

²Hacettepe University, Graduate School of Science and Engineering, Department of Nanotechnology and Nanomedicine, Ankara, Türkiye

³Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Ankara, Türkiye

Amaç: Nanotopografya, malzeme-matris etkileşimlerinin aracılık ettiği hücre manipülasyonu için etkili bir yaklaşım sunmaktadır. Hücre dışı matris ile bu etkileşimler, hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi ve sinyal yollarının aktivasyonu gibi çeşitli hücresel yanıtları ortaya çıkarır. Bu çalışmanın amacı, modifiye titanyum dioksit (TiO₂) nanotüp yüzey dizilerinin stromal hücre yanıtları üzerindeki etkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: İki aşamalı anodik oksidasyon ile üç farklı modifiye yüzey elde edilmiş ve nanotüp çapları ve porozite değerleri taramalı elektron mikroskopu ile ölçülüp görselleştirilmiştir. Daha sonra, mezenkimal kök hücreler (MSC'ler) 48 saat boyunca hem işlenmemiş hem de modifiye edilmiş titanyum yüzeylerde kültüre edilerek yüksek ölçekli RNA dizileme ile transkriptomik profil ortaya çıkarılmıştır. Hücre dışı matris (ECM) ile ilişkili genleri en çok değiştiren modifikasyon, ek yüzey modifikasyonları ile ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bu çalışma tasarımı, elde edilen hücresel yanıtların stromal hücreler için ortak olup olmadığını test etmek için dermal fibroblastlarla da tekrarlanmıştır.

Sonuçlar: Farklı nanotopografik özelliklere sahip olarak modifiye edilmiş titanyum yüzeylerde kültüre edilen MSC'lerin farklı transkriptomik imzalar taşıdığı görülmüştür. Nanotopografik olarak daha pürüzlü yüzeylerde hücrelerin enerji metabolizmasıyla ilgili olan genlerde değişiklikler tespit edilirken, daha düz ve daha derin gözenekler içeren yüzeyler ECM üretimi ile ilişkili genlerin ifadesini arttırdığı ortaya koyulmuştur. Ek modifikasyonlarla çeşitlendirilen bu nanoyüzeylerin bazılarında, CXCR4 ve VEGFA gibi hücresel tedavi başarısını doğrudan etkileyen genlerin ifadesinde önemli artış tespit edilmiştir. Bu kritik gen ifadesi değişiklikleri, dermal fibroblast hücreleri ile yapılan deneylerde de gösterilmiş olup, transkriptomik profildeki bu etkinin tüm stromal hücrelerde olabileceğini düşündürmektedir.

Tartışma: Bu çalışma, nanoyüzey modifikasyonlarının MSC'lerin terapötik potansiyelini sadece ön inkübasyon adımıyla artırabileceğini göstermiştir. Ayrıca geliştirilen yüzeyin GMP koşullarına kolayca adapte edilebileceği düşünüldüğünde, rejeneratif tıp/biyomalzeme alanlarında önemli bir dönüşümü mümkün kılma potansiyeline sahip olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Mezenkimal kök/stromal hücre, nanotopografya, modifiye titanyum yüzey, hücre-yüzey etkileşimi, CXCR4, VEGFA.



Erkek infertilitesinde transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel epigenetik değişimler

Süheyla Esra Özkoçer^{1,2}; İsmail Güler³; Asiye Uğraş Dikmen⁴; Nuray Bozkurt³; Nuray Varol¹; Ece Konaç¹

¹Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁴Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Amaç: Genetik ve epigenetik bilgi taşıyan spermatozoadaki değişiklikler infertiliteye ve nesiller arası hastalıkların aktarılmasına neden olmaktadır. Çalışmamızda spermatozoda MESTIT1, MEST, GNASAS, CEP41, H19 ve IGF2AS genlerinin ifadenmesinin ve DNA metilasyonunun infertilite ile ilişkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Fertil(n=30), oligospermi (n=30) ve normospermi(n=30) gruplarında semen analizi ve spermelerden DNA ve RNA ekstraksiyonu yapıldı. Gen ifadenmeleri RT-qPCR analizi sonrası Livak metoduyla değerlendirildi. DNA bisüfit modifikasyonu sonrası pirosekans yöntemiyle DNA metilasyonu ölçüldü. ROC eğrisiyle saptanan cut-off değerlerine göre hipermetilasyon yüzdeleri belirlendi. Gruplar Kruskal Wallis ve ANOVA ile karşılaştırıldı. Post hoc analizler Bonferroni ve Tamhane ile yapıldı.

Sonuçlar: Fertil grupta GNASAS için değerlendirilen 5 CpG dinükleotinden; ilkinin (%33.3), üçüncüsünün (%33.3) ve sonuncusunun (%40) hipermetilasyon yüzdeleri oligospermi grubundakilerden (%66.7, %73,3 ve %73,3) anlamlı olarak düşük bulundu (p=0.028, p=0.005 ve p=0.026). CEP41 için ise değerlendirilen dört CpG dinükleotidinin üçüncüsünde; fertil grupta hipermetilasyon yüzdesi (%16.7) normospermi grubundan (%46.7) anlamlı olarak düşük görüldü (p=0.036, Grafik1). Gruplar arasında; yaş, vücut kitle indeksi, gen ifadenmeleri ve diğer genlerin metilasyon yüzdelerinin değişimleri istatistiksel olarak anlamlı değildi. Oligospermi grubunda sperm konsantrasyonu diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü. Fertil grupta normal sperm yüzdesi ise diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti (Tablo1).

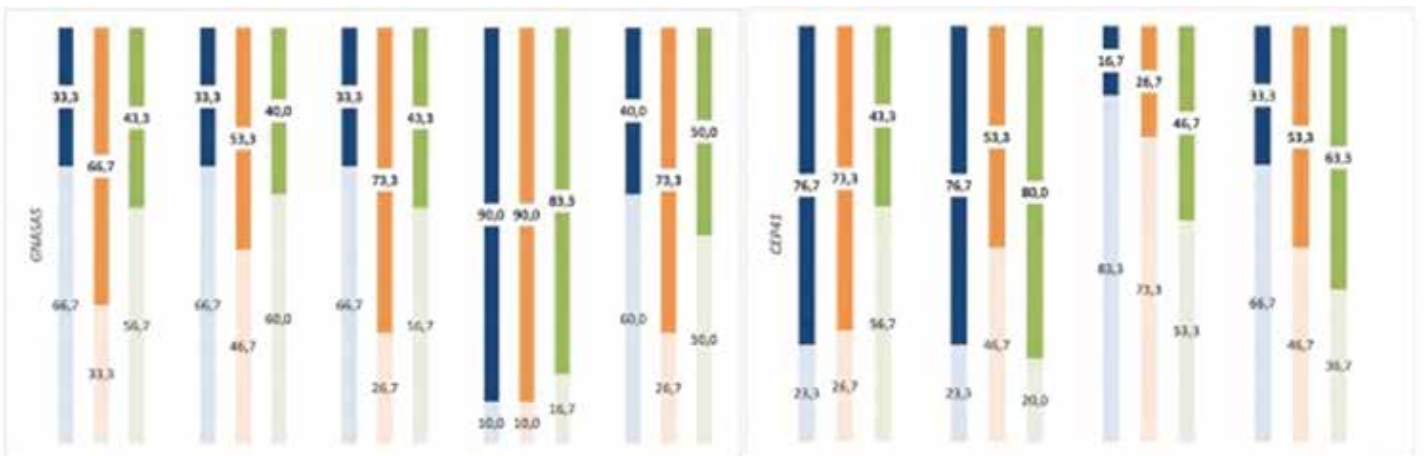
Tartışma: GNASAS maternal imprint bir gen olması nedeniyle sperm hücrelerinde metilasyonu düşüktür. Genin 3 CpG dinükleotidinin hipermetilasyon yüzdelerini oligospermi grubunda fertil grubundan yüksek bulmamız, GNASAS metilasyonunun sperm sayısının düşüklüğü ile ilişkili olduğunu göstermiştir. CEP41, maternal imprint MEST genine komşu olmasına karşın imprint gen değildir. Normospermi grubunda fertil gruptan daha yüksek CEP41 hipermetilasyonu görülmüştür. Imprint olmayan genlerin DNA metilasyonundaki değişimleri de normospermik infertilite nedeni olabilmektedir. Bu çalışma ile CEP41 hipermetilasyonu etiyolojide yeni bir aday olarak gösterilmiştir. İnfertilite etiyolojisinde epigenetik nedenlerin ortaya çıkarılması, yeni nesillere epigenetik hastalıkların aktarılması riskini azaltabilir.

Çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2021-7023 kodu ile desteklenmiştir.

Anahtar kelimeler: DNA metilasyonu, gen ekspresyonu, genomik imprint, spermatozoa

Tablo 1: Yaş, vücut kitle indeksi, semen analizi ve gen ekspresyonlarını gösteren tablo. Veriler ortalama±standart sapma ve ortanca (çeyrekler arası fark) şeklinde sunulmuştur.

	Fertil	Oligospermi	Normospermi	<i>p</i>
Yaş (yıl)	37.63±4.72	35.26±7.26	34.43±6.21	0.119
Vücut Kitle İndeksi (kg/m ²)	25.81±1.68	26.03±2.07	25.70±2.17	0.803
Semen hacmi (ml)	3 (1)	3 (1.38)	3 (2)	0.118
Sperm konsantrasyonu (milyon/ml)	35.5 (33.75)	10.5 (10)	50 (15)	0.000
				0.000(2vs1)
				0.000(2vs3)
				0.232(1vs3)
Normal morfoloji (%)	5 (2)	0 (0.75)	0 (2)	0.000
				0.000(2vs1)
				0.232(2vs3)
				0.000(1vs3)
Gen ifadelenmeleri				
<i>MEST1</i>	0.83 (1.05)	0.84 (2.35)	0.76 (0.32)	0.766
<i>MEST</i>	0.72 (3.54)	0.26 (2.2)	0.255 (0.48)	0.119
<i>GNAS</i>	0.485 (14.82)	0.827 (1.7)	0.1828 (0.43)	0.129
<i>CEP41</i>	4.6647 (10.12)	0.6041 (7.97)	0.2554 (0.80)	0.139
<i>H19</i>	0.8022 (1.05)	1.3914 (3.69)	0.798 (1.04)	0.251
<i>IGF2</i>	1.0155 (3.47)	0.5886 (8.33)	0.4448 (0.72)	0.257



Grafik 1: *GNAS* ve *CEP41* CpG dinükleotidlerinde hipermetilasyon (koyu) ve hipometilasyon (açık) yüzdelere gösteren grafik. Fertil grup mavi, oligospermi grubu turuncu, normospermi grubu ise yeşil renkle gösterilmiştir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Nöron Gelişiminde Vitamin D'nin Nörit Uzunluğu ve Uzama Hızı Üzerine Etkisinin İncelenmesi

Ebru Keskin¹; Duygu Gezen-Ak²; Erdinç Dursun²

¹*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*
²*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarları, İstanbul, Türkiye*

Amaç: Vitamin D'nin beyinde önemli süreçlerde rol oynadığı gösterilmiştir. Bir sinir travması hayvan modelinde, vitamin D2'nin (ergokalsiferol) aksogenezi ve akson çapını artıran güçlü bir nöromodülatör bileşik olduğu gösterilmiştir. Yüksek dozda vitamin D3 (kolekalsiferol) uygulaması yapılan bir başka hayvan çalışmasında da proksimal uçta korunmuş veya yeni oluşan akson sayısının, distal uçta akson çapının, hem distal hem de proksimal uçlarda nörit miyelinasyonunun arttığı gösterilmiştir. Son zamanlarda vitamin D'nin mikrotübül ile ilişkili protein 2, aksonal büyüme ile ilişkili protein-43 ve sıçan kortikal nöronlarındaki sinapsin-1 proteini ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Bu bilgiye dayanarak, primer kortikal nöron kültüründe gelişim sırasında vitamin D uygulamasının nörit uzunluğunu ve uzama hızını etkileyip etkilemediğini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 16 günlük sıçan embriyolarından primer kortikal nöron kültürü yapıldıktan 24 saat sonra 10-8 M 1,25-dihidroksivitamin D3 uygulaması gerçekleştirildi. Uygulamadan sonra canlı hücre görüntüleme mikroskobu altında 20X büyütmede 30 saniye aralıklarla 30 dakika süreyle ve 12 saat boyunca yarım saat aralıklarla nörit uzunluğu ölçümleri yapıldı.

Sonuçlar: Çalışmamızın sonuçları vitamin D uygulamasından 30 dakika sonra nörit uzunluğunun ve uzama hızının vitamin D grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede arttığını göstermiştir (sırasıyla; $p=0,0029$ ve $p=0,0310$). Ek olarak vitamin D grubunda nörit büyüme hızı ve nörit uzunluğu uygulamadan 12 saat sonra da kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmıştır (sırasıyla $p=0,0275$, $p=0,0398$).

Tartışma: Vitamin D'nin nörit büyümesi üzerine etkisini araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızın sonuçları gelişim evresinde primer kortikal nöronlara uygulanan vitamin D'nin ilk 12 saatte nörit uzunluğunun ve nörit uzama hızının artması ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Bu çalışma, TÜBİTAK 1002-A (Proje No: 123S438) tarafından desteklenmiştir.

Anahtar kelimeler: neurite outgrowth, neurodevelopment, vitamin D.

Mutant Elongasyon Faktörü-2 Kodlayan Tek Sarmallı Oligonükleotidler İle Toksine Dirençli İnsan Mezenkimal Kök Hücrelerinin Oluşturulması

Merve Ekingen^{1,2}; Sümevra Mengüç Emir^{1,2}; Damla Uludağ¹; Ozan Topçu^{1,3}; Nihal Karakaş^{4,1}

¹Cancer Research Center, Institute for Health Sciences and Technologies, İstanbul Medipol University, İstanbul, Türkiye

²Graduate School for Health Sciences, Molecular Medicine and Biotechnology Program, İstanbul Medipol University, İstanbul, Türkiye

³Graduate School for Health Sciences, Medical Biology and Genetics Program, İstanbul Medipol University, İstanbul, Türkiye

⁴Department of Medical Biology, International School of Medicine, İstanbul Medipol University, İstanbul, Türkiye

Amaç: Hedefe yönelik sitotoksinler, hedef reseptöre bağlanan bir ligand/antikor ile toksinin entegre edildiği füzyon proteinlerdir ve kanser tedavileri için klinik denemelere sunulmuştur. Ancak hedef dışı yönelim ve sistemik toksisite nedeniyle solid tümörlerde klinik translasyonu başarılı olamamıştır. Bu sınırlılıkları ortadan kaldırmak üzere, kök hücreler hedefe yönelik moleküllerin yerinde üretilebilmesi için terapötik araçlar olarak tasarlanmaktadır ve buna göre bir dizi çalışma bu kök hücrelerin terapötik potansiyellerini bildirmiştir. Endojenik toksin üretiminin oluşturacağı toksisitesinden kaçınmak üzere kök hücrelerin toksine dirençli olması gereklidir. Dolayısıyla bu çalışmada, bir bakteriyel toksin olan pseudomonas ekzotoksin (PE) bazlı terapötik füzyonların kök hücrelerce üretimi için, toksine dirençli kök hücrelerin oluşturulması hedeflenmiştir.

Yöntem: Elongasyon faktörü-2 (EF-2), peptid zincirinin uzaması sırasında peptidil tRNA'nın ribozom A bölgesinden P bölgesine transferini katalize eder. Pseudomonas aeruginosa ekzotoksin A (PE), ADP-ribosilasyon yoluyla EF-2'yi etkisiz hale getirir ve dolayısıyla protein sentezini bloke eder. Buradan hareketle, çalışmamızda, pseudomonas ekzotoksin (PE) ile entegre edilen hedefe yönelik sitotoksinleri salgılayabilen insan mezenkimal kök hücreleri (iMKH'ler) oluşturmak için mutant EF-2 (mEF-2) kodlayan tek sarmallı oligonükleotidleri (ssODN'ler) kullanarak modifiye edilmiştir. Kodon 717'nin birinci nükleotidindeki G'den A'ya geçişin toksin toleransı kazandırdığı bilinmektedir, bu nedenle; ssODN'ler buna göre oluşturulmuş ve iMKH'lere transfekte edilmiştir. Hücreler daha sonra artan dozlarda (10-1000 ng/ml) saf toksin muamelesine tabi tutulmuş ve ardından toksine dirençli hücreler (iMKH--mEF2) seçilmiştir.

Bulgular: Toksin direnci için modifiye edilmiş iMKH'ler arasında toksine dirençli alt popülasyonların olduğu tespit edilmiştir. Toksine duyarlı popülasyonlar toksin muamelesi ile ortadan kaldırılmış ve dirençli iMKH'ler çoğaltılmıştır. Böylece, mEF-2 kodlayan ssODN'nin kök hücrelerde toksin direncini inhibe etmede işlevsel olduğu gösterilmiştir.

Sonuç: iMKH'ler toksin direnci açısından başarıyla modifiye edilmiştir. Böylelikle, iMKH'lerin klinik uyarlanabilirliği de göz önünde bulundurulduğunda, iMKH-mEF2'lerin fonksiyonel hedefe yönelik



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi

Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



sitotoksinleri salgılayacak şekilde oluşturulması, geniş bir yelpazedeki kanser tedavileri için yeni fırsatlar açabilecek niteliktedir.

Teşekkür: Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 117S421 proje numarası ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: mezenkimal kök hücre, pseudomonas ekzotoksin, hedefe yönelik tedavi, elongasyon faktörü-2.

HEK293T Hücre Hattında Amiloid Beta 1-42 Proteinin Transkripsiyon Faktörlerinin Ekspresyonu Üzerine Etkisi

Pelin Sordu¹; Merve Alaylıoğlu¹; Zuhâl Yurttaş¹; Tugay Çamoğlu¹; Büşra Şengül-Yediel¹; Ebru Keskin²; Duygu Gezen-Ak¹; Erdiç Dursun¹

¹İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: A β 1-42'nin nükleusta bulunup DNA ile etkileşime girebildiğini ve birçok genin ekspresyonunu değiştirebildiği araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Ayrıca, A β 1-42'nin farklı antibiyotik dozlarına cevap olarak sitoplazmadan nükleusa taşınabildiği literatürde gösterilmiştir. Bu bulgular, A β 1-42'nin büyük ölçüde DNA'ya bağlanma kapasitesi olduğunu ve bir transkripsiyon faktörü gibi işlev görebileceğini düşündürmektedir. A β 1-42 tek tek genlerin ekspresyonunu doğrudan düzenlemek yerine genel transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu etkileyebilir ve bu şekilde daha geniş bir ekspresyon düzenlemesine katkıda bulunabilir. Bu nedenle çalışmamız, A β 1-42'nin kendi üretimi ve Alzheimer hastalığı patolojisinin oluşumunda rol oynayan hücre içi yollardaki önemli proteinlerin ekspresyonunu etkileyip etkilemediğini araştırmayı amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntem: FpClass ve TRRUST veri tabanlarını kullanılarak, HEK293T hücrelerine toksik (10 μ M) ve toksik olmayan (0,09 μ M) dozlarda A β 1-42 peptidi uygulayarak, uygulamayı takiben 24, 48 ve 72. saatlerde RNA izolasyonları gerçekleştirildi. Ardından qRT-PCR ile A β 1-42 uygulamalarına cevaben A β 1-42 peptidi ile etkileşebilecek olası TF'lerin ekspresyonlarının nasıl değiştiği saptandı.

Sonuçlar:Uygulamaların 24. saatinde, 0.09 μ M A β 1-42 uygulanan grupta, JUN201 ekspresyon seviyesi kontrol grubuna göre arttı. 48. saatte, 10 μ M A β 1-42 uygulanan grupta, JUN201 ekspresyon seviyesi, 0.09 μ M A β 1-42 uygulanan gruba göre artarken, 72. saatte ise kontrol grubu ve 0.09 μ M A β 1-42 uygulanan gruba göre azaldı. Uygulamaların 24. saatinde, 0.09 μ M A β 1-42 uygulanan grupta, SP1 ve FOS ekspresyon seviyeleri, kontrol grubu ve 10 μ M A β 1-42 uygulanan gruba göre arttı. 48. saatte, 10 μ M A β 1-42 uygulanan grupta SP1 ve FOS ekspresyon seviyeleri 0.09 μ M A β 1-42 uygulanan gruba göre arttı. Uygulamaların 48. saatinde, 10 μ M A β 1-42 uygulanan grupta SMAD3 ekspresyon seviyesi kontrol ve 0.09 μ M A β 1-42 uygulanan gruba göre arttı. Uygulamaların 24. saatinde, 0.09 μ M A β 1-42 uygulanan grupta STAT3 ekspresyon seviyesi, 10 μ M A β 1-42 uygulanan gruba göre artarken, 72. saatte ise kontrol grubuna göre azaldı. 48. saatte, 10 μ M A β 1-42 uygulanan grupta STAT3 ekspresyon seviyesi 0.09 μ M A β 1-42 uygulanan gruba göre arttı.

Tartışma: Elde ettiğimiz bulgular, JUN201, SP1, FOS, SMAD3 ve STAT3 transkripsiyon faktörlerinin ekspresyon seviyelerinin A β 1-42 uygulaması sonucu değiştiğini ve bu değişimlerin doza ve uygulama süresine bağlı olarak da farklılık gösterdiğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Amiloid beta 1-42, gen ekspresyonu, transkripsiyon faktörü

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa BAP Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No:34211).

CD73 Kolorektal Kanser Hücrelerinde Hücre Çoğalması, EMT Ve Kemoterapi Direncini Engellemektedir

Tieu Lan Chau¹; Ümran Borucu¹; Beste Uygur¹; Ahmet Göktuğ Özkurt¹; Eylül Kılıç¹; Çağlar Çekiç¹; Seçil Demirkol Canlı^{2,3}; Serkan İsmail Göktuna¹

¹MBG Bölümü, Bilkent Üniversitesi, Ankara, Türkiye

²Moleküler Patoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Tıp Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

³Tümör Patolojisi Bölümü, Tıp Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

Hedef: Güncel kanser araştırmalarında pürinerjik sinyal yollarının susturulması önemli bir hedef haline gelmiştir. Bu yolaktaki önemli bir aktör hücre dışı ATP'nin adenozone dönüşümünde rol oynayan ekto-enzim CD73'tür. Ancak CD73'ün kolorektal kanser (KRK) hücrelerine özgü rolü tam olarak belirlenememiştir. Bu sebeple bu çalışma kapsamında CD73'ün tümör gelişindeki rolü KRK hücre hatlarında incelenmiştir.

Yöntemler: In vitro deneylerde kullanılmak üzere CD73'ün stabil olarak susturulduğu KRK hücre hatları CRISPR/Cas9 ile hazırlanmıştır. Ayrıca kemoterapötik ilaç direncinin araştırılması için EGFR inhibitörü gefitinibe dirençli KRK hücre hatları tekrarlanan gefitinib uygulaması ile üretilmiştir. Epitel mezankimal geçiş (EMT) belirteci ifadeleri immünoblot ve qPCR analizleri ile incelendi. Son olarak çevrimiçi ulaşılabilir KRK hastalarına ait tek hücre RNA (sc-RNA) dizileme ve metilasyon verileri in siliko olarak analiz edildi.

Çıktılar: KRK hücre hatlarında CD73 susturulması bu hücrelerin çoğalmasını ve hücre göçünü arttırırken yine bu hücrelerin farelerde daha büyük ksenograft tümörleri oluşturmalarına yol açmıştır. Buna karşın CD73 aşırı ifadesi gefitinib dirençli KRK hücre hatlarında gefitinib duyarlılığını arttırırken, yine bu hücrelerin göçünü yavaşlatmış ve hücre ölümünü ise arttırmıştır. Ayrıca, CD73 aşırı ifade edildiği KRK hücreleri farelerde daha küçük ksenograft tümörleri oluşturmuştur. Bununla birlikte in vitro ve in vivo bulgularımızla uyumlu olarak biyoinformatik analizlerimizin sonuçları CD73'ün tümörlerdeki stromal içeriğe ve bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonuna bağlı olarak tümör baskılayıcı rolünü desteklemektedir.

Sonuç: Bu çalışma kapsamındaki sonuçlarımız CD73'ün KRK'de tümör mikroçevresindeki rolünden farklı olarak tümör hücrelerine özgü tümör baskılayıcı bir işlevi olduğunu güçlü bir şekilde ortaya koymaktadır. Bu nedenle elde ettiğimiz bulgular CD73'ün inhibisyonunun daha önceki çalışmalarda öne sürülen aksine bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonunun az olduğu KRK hastalarında olumsuz sonuçlara varılabileceğini düşündürmektedir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Borik Asidin Rotenon İle Oluşturulan Parkinson Hastalık Modeli Üzerindeki Nöroprotektif Etkisinin İn Vitro Araştırılması

Deniz Evrim Kavak¹; Beste Balbal¹; Barış Bitmez²; Emel Serdaroğlu Kaşıkçı³; Sefa Kızıldağ⁴

¹Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik, İZMİR, Türkiye

²Üsküdar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji, İSTANBUL, Türkiye

³Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, İSTANBUL, Türkiye

⁴Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji, İZMİR, Türkiye

Parkinson hastalığı (PH); nörodejenerasyon ve dopaminerjik nöronların kaybına yol açan karmaşık ve çok yönlü nörodejeneratif bir hastalıktır. Substantia nigra pars compacta'da dopaminerjik nöronların azalması ve sitoplazmik cisimciklerde yanlış katlanmış α -sinüklein birikimi sonucu Lewy cisimcikleri PH' nin patolojik özelliklerini oluşturur. Rotenon, tropik bitki tarafından üretilen doğal bir toksindir. Kan-beyin bariyerini geçen Rotenon, nöronlara girdikten sonra proteazom aktivasyonunu inhibe ederek; α -sinüklein fosforilasyonuna, agregasyona, Lewy patolojisine ve nigrostriatal dopaminerjik nöron dejenerasyonuna yol açar. Borik asit (BA); borun, insanların doku ve vücut sıvılarında bulunan en yaygın formudur. BA' nın vücutta eksikliği ise motor ve bilişsel fonksiyonlarda azalmaya neden olur. Çalışmamızın amacı in vitro insan nöroblastoma hücre hattı olan SH-SY5Y hücre hattında Rotenon ile oluşturulan PH modelinde BA' nın olası koruyucu etkisinin incelenmesidir.

BA' nın sitotoksik etkisi; 200 μ M, 100 μ M, 50 μ M, 20 μ M BA ve 50 μ M Rotenon konsantrasyonlarının SH-SY5Y hücresine kombine uygulanarak MTT deneyi ile belirlendi. Rotenon, BA ve Rotenon + BA gruplarının PH modeli oluşturulan SH-SY5Y hücrelerinin sitotoksitesinde rol alan sinyal yollarına ait gen ifade seviyeleri kantitatif revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ve protein ekspresyonundaki değişiklikler Western Blot yöntemiyle araştırıldı.

Yapılan MTT deneyi sonucunda, 50 μ M Rotenon ile oluşturulan PH modelinde canlılık %64,58 hesaplanırken 200 μ M BA ile kombinasyon sonucunda canlılık %116,36 olarak hesaplanarak anlamlı bir proliferasyon gözlemlendi. Bu doz RT-qPCR ve Western blot deneyleri için seçilerek kullanıldı. mRNA seviyesinde 50 μ M Rotenon + 200 μ M BA uygulaması, sadece Rotenon grubuna kıyasla pro-apoptotik BAX/BCL-2 oranında 0,54 kat değişim göstererek apoptozdan korunduğu gözlemlendi. Buna bağlı olarak BA' nın nöroprotektif etki gösterdiği sonucuna varıldı.

Genetik Jeneralize Epilepside miRNA'ların Genetik Biyobelirteçler Olarak Değerlendirilmesi

Simay Bozkurt¹; Nur Damla Korkmaz²; Bilge Nur Bilge³; Ayşegül Yabancı Tak⁴; Alişan Bayrakoğlu⁵; Ferda Uslu İlgen⁵; Emrah Yücesan⁶; Fahri Akbaş^{2,1}

¹Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁵Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁶İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, Nörojenetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Genetik jeneralize epilepsi (GJE) beynin tümünün tutulumu ile seyreden ve genetik bir etiyojolojiye sahip olan epilepsi alt tipidir. GJE'ler, tüm epilepsilerin %15-20'sini oluşturmaktadır. Bu hastalığın tanı sürecine katkıda bulunan ve yaygın olarak kullanılan spesifik bir genetik biyobelirteç bulunmamaktadır. Son on yılda, insan genomunda bulunan küçük kodlamayan RNA'ların çeşitli nörolojik hastalıklarda genetik biyobelirteç olarak kullanılmaları üzerine yapılan çalışmaların sayısında radikal bir artış görülmektedir. Küçük kodlamayan RNA'ların en bilineni olan miRNA'lar gen ekspresyon modülasyonu yoluyla nöronal biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde kritik bir role sahiptir. Bu sebeple, klinik örneklerdeki kararlılıkları nedeniyle, miRNA'lar biyobelirteç araştırmalarında önemli bir rol üstlenmiştir. Çalışmamızda, GGE hastalarında miR-106b, miR-130a-3p ve miR-194-5p'nin ekspresyon seviyeleri değerlendirildi ve bu miRNA'ların tanısal biyobelirteç olarak performansları incelendi.

Yöntem: Çalışmaya izole GJE'li 21 hasta ve 18 sağlıklı kontrol dahil edildi ve bireylerin kan örneklerinden toplam RNA izole edildi. Elde edilen RNA'lardan cDNA sentezi yapıldı. MiR-106b, miR-130a-3p ve miR-194-5p ekspresyon seviyeleri qRT-PCR ile analiz edildi ve tanısal değerlendirmeleri yapmak için ROC (alıcı işletim karakteristiği) eğrileri oluşturuldu ve eğri altındaki alan (AUC) hesaplandı.

Sonuçlar: MiR-130a-3p'nin ekspresyon seviyesi, kontrol grubuna kıyasla hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0,05$). ROC analizinde belirlenen AUC değeri 0,725'tir. Ancak miR-106b ve miR-194-5p'nin ekspresyon seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı değildir. ROC analizindeki AUC değerleri sırasıyla 0,648 ve 0,571'dir.

Tartışma: Çalışmamızda kullandığımız miRNA'ların değişen ekspresyon seviyeleri, GJE'nin etiopatogenezi ile ilişkili olabilir. Bulgularımız, GGE tanısı ve prognozu için potansiyel bir biyobelirteç olarak miR-130a-3p'nin kullanılmasını önermektedir.

Anahtar Kelimeler: Genetik biyobelirteç, Genetik jeneralize epilepsi, MikroRNA, ROC eğrisi. Bu çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 20230205 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Hiperinsülinemik Mide Dokusunda Delta9-Tetrahidrokannabinol Etkisinin Değerlendirilmesi

Dilara Kamer ÇOLAK¹; Zeynep Mine YAZICI COŞKUN²; Sema BOLKENT¹

¹Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, İstanbul, Türkiye

²Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Demiroğlu Bilim Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Amaç: Kronik olarak artmış insülin seviyelerinin neden olduğu hiperinsülinemi (HI) metabolik hastalıklar ile ilişkilendirilmektedir. Çeşitli araştırmalar delta9-tetrahidrokannabinol (THC)'ün tıbbi faydaları olduğunu göstermiştir. Mevcut çalışmanın amacı; hiperinsülinemik sıçanların mide dokusunda THC'nin gastrointestinal hormonlar üzerindeki etkisi yanı sıra oksidatif stres ve apoptoz ile arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada erkek Sprague Dawley sıçanları kullanıldı ve bunlar rastgele sağlıklı kontrol (CTRL), HI, THC verilen kontrol (THC) ve THC verilen HI (HI+THC) olarak (her grup n=8) dört gruba ayrıldı. Hiperinsülinemik sıçanların mide dokularında THC'nin etkisi immünohistokimyasal boyama ve biyokimyasal analizler ile değerlendirildi.

Bulgular: Poli (ADP-riboz) polimeraz-1 ve hücre nuklear çoğalma antijeni (PCNA) immünopozitif hücre sayıları CTRL grubuna göre HI grubunda anlamlı olarak azaldı. PCNA immünopozitif hücrelerinin sayısı, HI+THC grubunda HI grubuna göre anlamlı olarak arttı. Kaspaz-3 immünopozitif hücre sayısının HI grubunda CTRL grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptandı. Kaspaz-3 ve kaspaz-9 immünohistokimyasal bulgularına göre, THC'nin hiperinsülinemik mide dokularında apoptozu bir dereceye kadar artırdığı saptandı. Obestatin ve ghrelin immünopozitif hücre sayısı HI+THC grubunda HI grubuna kıyasla anlamlı olarak arttı. Biyokimyasal analizlere göre; glutatyon ve malondialdehit seviyeleri HI+THC grubunda, HI grubuna göre anlamlı derecede yüksekti.

Sonuç: Hem immünohistokimyasal hem de biyokimyasal analizler, THC uygulamasının HI'lı sıçanlarda gastrointestinal hormonların düzenlenmesini ve fundusta rejenerasyonu etkileyebileceğini ortaya çıkarmıştır. Sonuçlar, THC'nin HI'dan zarar gören mide dokusu için umut verici bir terapötik ajan olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Delta9-tetrahidrokannabinol, gastrointestinal hormonlar, hiperinsülinemi, oksidatif stres.

DHRS2'nin Meme Kanseri Hücrelerinde İnflamatuar Yanıta Olan Etkisi

Burcu Salman Yaylaz^{1,2}; Sema Sırma Ekmekci¹; Şeyma Punar^{2,1}; Berk İleri^{1,2}; Zeliha Emrence¹; Neslihan Abacı¹

¹*İstanbul Üniversitesi Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul, Türkiye*

²*İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye*

Amaç: Meme kanseri kadınlarda yüksek insidansa ve moleküler heterojeniteye sahiptir. Bugüne kadar meme kanserinin diğer kanserlere kıyasla immünolojik olarak "soğuk" olduğuna dair bir inanç vardı. Ancak son çalışmalar tümör mikroçevresinin immün yanıtı düzenlediğini, bunun da hastadan hastaya değiştiğini ve dinamik bir süreç olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, çalışmamızda DHRS2 gen ekspresyonunun piroptoz yolağındaki seçilmiş genler, enflamatuar yanıt ve sitokin salınımı üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem: MCF10A, MCF7, T47D ve MDA MB 231 bu çalışmada kullanılan dört insan meme hücre dizisidir. Daha sonra, DHRS2 ekspresyonları gene özgü siRNA (baskılama) ve lentiviral vektörler (arttırma) ile lipozom bağımlı transfeksiyon ile ayrı ayrı manipüle edilmiştir. Hücrelerdeki en yüksek DHRS2 baskılama ve arttırma oranları qRT-PCR yöntemiyle belirlendi ve daha ileri analizler için seçilen gruplar kullanıldı. Seçilen piroptoz gen ekspresyon seviyeleri DHRS2 ile manipüle edilmiş ve kontrol hücrelerinde araştırıldı. Gen ifade değişimleri Δ CT yöntemi ile hesaplandı ve korelasyon analizi GraphPad Prism v.8 ile yapıldı.

Sonuçlar: PYHIN1 (IFIX), MEFV ve CASP1 seçilen tüm genler arasında en yüksek ekspresyon değişim oranına sahipti. IL1A ve IL1B, üçlü negatif hücrelerin yanı sıra Luminal A tipi hücrelerde ekspresyonu bulanmadı ve adenokarsinom olmayan MCF10A hücrelerinde hücrede DHRS2 seviyesi de arttığında bu iki gen için artan gen ekspresyonu görüldü. İncelenen diğer genlerin ifadesi de hücredeki DHRS2 transkript miktarına göre değişme eğilimi göstermiştir.

Tartışma: MDM2 ile ilişkili olduğu bilinen DHRS2'nin, MDM2'nin IFIX gibi diğer düzenleyicilerini nasıl etkilediği merak konusudur. IFIX, piroptoz aracılı hücre ölümü ve enflamatuar yanıtta rol oynadığı bilinen önemli proteinlerden biridir. Dahası, DHRS2 ile ilişkili olan IL18, tümör progresyonu için proinflamatuar bir aktiviteye sahiptir. Bulgularımız, DHRS2 genindeki değişikliklerin meme kanserinde enflamatuar yanıtı doğrudan etkilediğini ve daha ileri kanser çalışmaları için bir belirteç görevi görebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: DHRS2, Piroptozis, İnflamasyon, Meme kanseri



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Moleküler Kenetleme Ve Moleküler Dinamik Simülasyonlar Kullanılarak FDA Onaylı İlaçların Potansiyel IRE1 α İnhibitörleri Olarak Tanımlanması

Zekeriya Düzgün¹

¹Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim dalı, Giresun, Türkiye

Amaç: Yüksek IRE1 α aktivitesi, prostat kanseri, multipl miyelom ve glioblastoma dahil çeşitli kanser türleri ile ilişkilendirilmiş, kötü prognoz ve protümöral rollerle ilişkilendirilmiştir. IRE1 α aktivitesinin inhibe edilmesi, apoptozis indüksiyonu, anjiyogenezin azaltılması ve kanser hücrelerinin kemoterapi ve immünoterapiye duyarlılığını artırma potansiyeline sahiptir. Literatürde birçok IRE1 α inhibitörü bilinmesine rağmen, birçoğu prelinik aşamayı aşamamıştır, bu da terapötik kullanımlarını sınırlamaktadır. Bu çalışmada, toplam 2048 FDA onaylı ilaç ve aktif metabolitin IRE1 α ile etkileşimini hesaplamalı biyoloji yöntemleri kullanarak incelendi.

Gereç ve Yöntem: IRE1 α ve 2048 bileşik arasındaki etkileşimleri incelemek için moleküler kenetleme hesaplamaları yapıldı ve bağlanma skorlarına göre en iyi 20 bileşik seçildi ve üç bilinen IRE1 α inhibitörü ile daha ileri analizler için seçildi. Seçilen bileşikler, 10 ns moleküler dinamik (MD) simülasyonlarına ve serbest enerji hesaplamalarına tabi tutuldu. Daha sonra, en iyi 3 bileşik ve bilinen 3 inhibitör, üç bağımsız tekrar ile 100 ns MD simülasyonlarına tabi tutuldu ve MM/PBSA yöntemi kullanarak serbest enerji hesaplamaları gerçekleştirildi.

Sonuçlar: Sanal tarama ve MD simülasyonları, Zafirlukast, Irinotecan ve Dutasteride'in, taranan bileşikler arasında en yüksek bağlanma skoru ve en iyi bağlanma serbest enerjilere sahip bileşikler olarak gösterdi. Bilinen IRE1 α inhibitörleri olan Sülfonamid inhibitör, Bileşik 18 ve G-6904, sırasıyla -228, -144 ve -129 kJ/mol ortalama bağlanma serbest enerjilerine sahipti, Zafirlukast, Irinotecan ve Dutasteride ise sırasıyla -94, -142 ve -103 kJ/mol bağlanma serbest enerjilerine sahip olarak hesaplandı.

Tartışma: Irinotecan, diğer bilinen inhibitörlerle benzer bağlanma aktivitesi gösterdi. Bununla birlikte bilinen inhibitörlerden farklı olarak FDA tarafından onaylanmış olma avantajına sahiptir. Irinotecan'ın kanser tedavisinde IRE1 α 'yı hedefleme potansiyelini değerlendirmek için daha fazla in vitro ve in vivo araştırma yapılmasını öneriyoruz.

Bu çalışmada kullanılan hesaplama kaynakları TÜBİTAK-TRUBA ve Ulusal Yüksek Başarımlı Hesaplama Merkezi'nin (UHeM), 1016382023 numaralı desteğiyle, sağlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Dutasteride, irinotecan, moleküler dinamik simulasyon, zafirlukast

Obez Erkeklerde Semen Mikrobiyomunun Yeni Nesil Dizileme İle Fertilite Açısından Değerlendirilmesi

Elzem Nisa Alkan¹; Neslihan Taşkurt Hekim¹; Sezgin Güneş¹; Ramazan Aşçı²; Ralf Henkel^{3,4}

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Samsun, Türkiye

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Ana Bilim Dalı, Samsun, Türkiye

³Imperial College London, Faculty of Medicine, Department of Metabolism, Digestion and Reproduction, London, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland

⁴University of the Western Cape, Faculty of Natural Sciences, Department of Medical Bioscience, Bellville, South Africa

Amaç: Bu çalışmada, obez erkeklerin semenlerinde bulunan mikrobiyal içerik ve çeşitliliğin incelenmesi, infertil ve fertil gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesi, ayrıca seminal mikrobiyotanın semen parametreleri, sperm DNA fragmentasyonu (SDF), sperm kromatin kondensasyonu ve total antioksidan kapasite (TAC) üzerindeki etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Vücut kitle indeksi değeri (BMI) 30 kg/m²'nin üzerinde olan 18-55 yaşları arasında 13 obez infertil ve kontrol grubu olarak 5 obez fertil erkek çalışmaya dahil edilmiştir. Mikrobiyom analizi için 16S ribozomal RNA geninin V3 ve V4 bölgeleri, yeni nesil dizileme tekniklerinden ampikon dizileme yöntemiyle dizilenmiştir. SDF, TUNEL testi; TAC, ELISA testi ve histonca zengin sperm yüzdesi, anilin mavisi boyama yöntemi ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Her iki grupta da en bol bulunan bakterilerin Bacillota, Pseudomonadota, Actinomycetota ve Bacteroidota şubelerine ait olduğu görüldü. Cins düzeyinde en yaygın bulunan bakteriler ise iki grupta da benzer dağılımlara sahip olan Pseudodescherichia, Staphylococcus, Paenibacillus, Streptococcus, Klebsiella ve Moraxella olarak belirlendi. Gruplar arasında alfa-çeşitlilik açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (p=0,161). Brevibacterium, Paenibacillus, Alistipes, Lactiplantibacillus, Rhizobacter, Sphingomonas ve Veillonella cinslerinin SDF; Pantoea, Devosia, Bacteroides, Acidovorax cinslerinin TAC; Fusobacterium cinsinin anilin pozitif sperm yüzdesi; Corynebacterium, Hydrogenophaga, Paenalcagenes cinslerinin ise BMI ile korelasyon gösterdiği belirlendi.

Sonuç: Semende bulunan bakteri cinsleri, semen kalitesi, sperm kromatin kondensasyonu, SDF veya TAC üzerinde etkili olarak erkek infertilitesinde rol oynuyor olabilir. Çalışma örnekleminin oldukça küçük oluşu göz önünde bulundurulduğunda, daha büyük bir örneklem ile daha anlamlı sonuçlar elde edilmesi beklenebilir.

Anahtar Sözcükler: Erkek infertilitesi, Seminal mikrobiyom, Obezite, Sperm DNA fragmentasyonu, Total antioksidan kapasite, Sperm kromatin kondensasyonu

Ketojenik Diyetin Mitokondriyal Kardiyomiopatiye Etkisi

Şükrü Anıl Doğan¹

¹Boğaziçi Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

Amaç: Hücrenin ana enerji üreticisi olan mitokondrilerin disfonksiyonu şaşırtıcı derecede geniş bir hastalık yelpazesine neden olmaktadır. Mitokondriyal hastalıklar için şu anda bir tedavi bulunmamaktadır; tedavi yönetimi genellikle semptomlara ve komplikasyonlara karşı destekleyici önlemlerle sınırlıdır. Ketojenik diyet (KD), metabolizmayı glikolizden mitokondriyal beta-oksidasyonuna kaydıran düşük karbonhidratlı, yüksek yağlı bir diyettir. Bu projede mitokondriyal translasyon sırasında aspartat'ı tRNA'sına kovalent bir şekilde bağlayan Dars2 geninin kalpte ve iskelet kasında silinmesiyle oluşturulmuş fare modelini (hmKO) KD ile beslemenin mitokondriyal kardiyomiopatiye nasıl etki edeceği araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: 5 kontrol ve 5 hmKO fare, sütten kesildikten sonra (3. haftadan itibaren) ad libitum KD ve normal Chow diyet ile beslendi. KD'nin mitokondriyal kardiyomiopati modeli için fenotipik ve moleküler olarak bir iyileştirme sağlayıp sağlamadığı incelendi. Fenotipik değerlendirmeler yaşam süreleri, fare ağırlıkları ve davranışsal deneyler ölçülerek yapıldı. Moleküler değerlendirmeler içinse mitokondriyal DNA miktarı; kardiyomiopati, mitokondriyal biyogenez, antioksidan yanıtı ve beta-oksidasyonu markörlerinin protein ve/veya mRNA seviyeleri ve kalpteki ATP miktarı ölçüldü.

Sonuçlar: KD, hmKO farelerinin yaşam sürelerini ya da ağırlıklarını normal Chow diyetle beslenen enik eşleri ile karşılaştırıldığında değiştirmede. Davranışsal testler uygulanan KD ile beslenen hmKO fareler, Chow ile beslenen farelere oranla hareket, egzersiz kapasitesi ve kas gücü gibi parametrelerde herhangi bir iyileşme göstermedi.

Moleküler deneyler sonucunda, KD beslenmesinden beklendiği üzere, mitokondriyal biyogenezin artmaya başladığı, metabolizmanın yağ asidi kullanımına kaydığı, antioksidan yanıtının azaldığı görüldü. Ancak moleküler olarak bazı parametrelerde görülen iyileşme (örneğin ATP miktarı) fenotipe yansımada. Ayrıca kalp / vücut ağırlığı oranının ve kardiyomiopati markörlerinin KD sonunda daha da artması, kardiyomiopatinin ilerlediğini işaret etti.

Tartışma: Fenotipik iyileşmenin sağlanamamasının olası nedeni, KD hmKO hayvanlarının ömrünü uzatmadığı için 6. haftanın sonunda KD müdahalesinin sonlandırılmak zorunda kalınması ve 3 haftalık bir KD tedavisinin fenotipik etkileri görmek için yetersiz olmasıdır. Sonuç olarak, erken başlangıçlı mitokondriyal kardiyomiopati şiddetli bir fenotip gösterdiği için KD moleküler bazı iyileşmeler gösterse de fenotipik olarak etkili olamamıştır.

Anahtar kelimeler: Fare, kardiyomiopatiler, ketojenik diyet, mitokondriyal hastalıklar.

Bilim Kurulu'na Not: Bu proje, Şükrü Anıl Doğan'a Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından verilen 321S547 numaralı araştırma hibesi ile desteklenmektedir.

Meme Kanseri Hücre Hatlarında Sisplatin ve Juglonun Etkilerinin Araştırılması

Sacide Çakal¹; Ayşen Buket Er Urgancı¹; Selda Şimşek¹

¹Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye

Amaç: Araştırmamızda juglon ve sisplatin kombinasyonunun meme kanseri hücreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi, bu amaçla BLACAT1, miR-155-5p ve CCR2 RNA'larındaki ekspresyon değişikliklerinin belirlenmesi, meme kanserindeki rollerinin araştırılması ve olası biyomarker özelliklerinin ortaya konması ve daha sonra da metastazdaki olası rollerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada meme kanseri hücre hatları MDA-MB-231 ve MCF-7 kullanılmıştır. Juglon ve sisplatinin sitotoksik etkileri CCK-8 analizi ile araştırılmıştır. Hücre hatlarında uygulanan maddelerin BLACAT1, miR155 ve CCR2 ncRNA'ların ekspresyon seviyeleri üzerine etkileri qPCR ile incelenmiş, Transwell invazyon deneyiyle invazivlik durumları analiz edilmiştir.

Bulgular: IC50 değerleri sisplatin uygulamasında MCF-7 için 72. saatte 6,24 µM/ml, MDA-MB-231 için 72. saatte 7,64 µM/ml olarak, juglon uygulamasında MCF-7 için 48. saatte 7,43 µM/ml, MDA-MB-231 için 48. saatte 8,61 µM/ml olarak hesaplanmıştır.

Ekspresyon değişimleri analizlerinde MCF-7 hücrelerine juglon uygulamasında BLACAT1 5,98 kat, CCR2'de 2,09 kat azalma gözlenmiştir. miR-155 ise 2,13 kat artmıştır. Sisplatin uygulamasında BLACAT1'in ekspresyonunda anlamlı değişim gözlenmemiş, CCR2 4,55 kat artmış, miR155 ise 3,19 kat azalmıştır. Kombine uygulamada miR155 ve CCR2'nin ekspresyonları değişmezken BLACAT1 2,11 kat azalmıştır.

MDA-MB-231 hücrelerine juglon uygulamasında BLACAT1'in ekspresyonu 3,8 kat, miR155 2,59 kat artış göstermiş CCR2 ise anlamlı değişim gözlenmemiştir. Sisplatin uygulamasında BLACAT1'in ekspresyonu değişmezken CCR2 2,45 kat artmış, miR-155 9,6 kat azalmıştır. Kombine uygulamada BLACAT1'in ekspresyonu değişmemiş, CCR2 3,03 kat ve miR-155 10,34 kat artmıştır.

İnvazyon analizinde MCF-7 hücrelerinde maddelerin ayrı uygulanması kontrol grubuna göre invazyonu azaltmış, kombine uygulama tek uygulamaya ve kontrol grubuna göre invazyonu daha az etkilemiştir.

MDA-MB-231 hücrelerinde juglon uygulaması sisplatine göre invazyonu daha fazla azaltmıştır. Kombine uygulamada tek uygulamaya ve kontrol grubuna kıyasla invazyonu daha az etkilemiştir.

Sonuçlar: Dünyada insidansı en yüksek kanser türlerinden biri olan meme kanserinin tedavisinde kemoterapinin yanı sıra fitokimyasalların kullanımı da gün geçtikçe artmaktadır. Önemli fitokimyasallardan biri olan juglonun invaziv meme kanserinde metastaz ve invazyon üzerinde etkili potansiyel bir terapötik ajan olabilme ihtimali yüksektir. Bu bağlamda çalışmamızın dünya literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: BLACAT1, CCR2, Juglon, Meme Kanseri, Sisplatin, miR-155-5p.

Not: Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Kordinatörlüğü tarafından finanse edilmiştir (Proje No: 2022SABE015).



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Kemoterapi İndüklü Otofajik Sekretomun Doğal Öldürücü Hücreler Üzerindeki Etkisi

Ayfer Karlıtepe¹; Elif Çelik²; Tolga Sütlü²; Tuğba Süzek³; Mehtap Kılıç Eren⁴

¹Ankara Yıldırım Beyazıt University Regenerative Medicine, Ankara, Türkiye

²Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar University Molecular Biology and Genetics, İstanbul, Türkiye

³Muğla Sıtkı Koçman University Computer Engineering, Muğla, Türkiye

⁴Aydın Adnan Menderes University Medical Biology, Aydın, Türkiye

Amaç: Hipoksi veya metabolik stresin neden olduğu otofaji inflamatuvar yolakların düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Kansere hücrelerinde bu durum tümörün immün kaçışına yardımcı olabilecek pro-ve/veya antiinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin salgılanmasına yol açabilir. Amacımız kemoterapinin neden olduğu otofaji ilişkili sekretomun, NK hücre aracılı anti-tümör immün yanıtını modüle etme potansiyeline sahip olup olmadığını araştırmaktır.

Yöntem: Etoposid'in (Eto) MCF-7 hücrelerinde otofajiyi indüklediğini göstermek amacıyla ilk olarak otofaji belirteçleri (LC3I/II ve p62) için western blot ve immün boyama analizleri yapıldı. MCF-7 hücrelerinde kemoterapi indüklü otofajik sekretomun içeriğini belirlemek için, LC/MS-MS ve sitokin array analizleri yapıldı. Son olarak kemoterapi indüklü otofajik sekretomun, DNAM1-NK-92 hücrelerinin MCF-7 hücrelerini hedefleme kapasitesini nasıl etkilediği, degranülasyon analizleri ile belirlendi.

Bulgular: Etoposid'in (Eto), LC3I/II ve p62 gibi otofaji belirteçlerinin WB ve immün boyama analizi ile doğrulanması sonucunda MCF-7 hücrelerinde otofajinin indüklediğini gösterildik. LC/MS-MS sonuçları, etoposid kaynaklı otofaji sırasında metabolik enzimler, tümör antijenleri, şaperonlar ve metastazla ilişkili proteinlerin salgılandığını ve bunun Klorokin kullanımıyla azaltılabileceğini belirledik. Sitokin array sonuçlarında da her bir otofajik sekretom içeriğinde tespit edilen sitokin/kemokin ve büyüme faktörlerinin miktarlarının gruplar arasında farklılık gösterdiğini gördük. Otofajik sekretomlarla muamele edilen yabancı tip ve DNAM1 NK-92 hücrelerinin MCF-7 hücrelerini hedefleme kapasitesinde farklılıklar olduğu gözlemlendi.

Tartışma: Bu çalışma, kemoterapinin neden olduğu otofajik sekretomu karakterize ederek ve bunun NK hücreleri üzerindeki olası etkisini belirleyerek kemo-immünoterapi alanında yeni bilgiler sunmaktadır.



Asemptomatik Karotis Arter Stenozlu Hastaların Düzgün Ve Ülsere Plak Materyallerinde Karşılaştırmalı RNA-Seq Analizi

Işıl Ezgi Eryılmaz¹; Ceyda Çolakoğlu Bergel¹; Atıf Yolgösteren²; Ünal Egeli¹; Can Koşukçu³; Başak Erdemli Gürsel⁴; Murat Biçer²; Gülşah Çeçener¹; Mustafa Tok²

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,, Bursa, Türkiye

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kalp Damar Cerrahi Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

³Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Pediatrik Metabolizma Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁴Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Karotis arter stenozu (KAS) beyini besleyen atardamarlarda plak birikimiyle karakterize hücrel bir hastalıktır. KAS hastaları semptomatik ve asemptomatik olarak iki gruba ayrılmaktadır. Stenoz derecesi $\geq 70\%$ olmasına rağmen asemptomatik hastalarda inme-ilişkili nörolojik semptomlar görülmediğinden erken teşhis ve tedavi zorlaşmaktadır. Plaklar, stenoz derecesinden bağımsız olarak yüzey morfolojilerine göre düzgün ve ülsere; biyolojisine göre stabil ve hassas olarak gruplandırılmaktadır. Düzgün veya stabil plakların aksine ülserasyon yırtılmaya yatkın hassas plaklar oluşturarak inme riskini arttırabilmektedir. Plakların morfolojilerine göre biyolojik karakterizasyonu asemptomatik hastalarda güvenilir tedavi protokollerinin oluşturulabilmesi için önem taşımaktadır. Mevcut çalışmamızda asemptomatik KAS hastalarında düzgün ve ülsere plakların biyolojik özellikleri transkriptom düzeyinde belirlenerek ülserasyonun progresyonunda etkili biyobelirteçler araştırılmıştır. Çalışmaya klinik özellikleri uyum gösteren ve plak morfolojileri Doppler USG'yle belirlenen %50'si (n=2) ülsere plaklı 4 asemptomatik KAS hastası dahil edildi. Karotis endarterektomiyle rezekte edilen plaklardan elde edilen RNA örnekleri Agilent Bioanalyzer ile karakterize edildi. Uygun RNA'lar IonGeneStudioTMS5 NGS sisteminde AmpliSeq transkriptom paneli kullanılarak RNA-Seq analizine alındı. Veriler CLC Workbench ve IonReporter™ ile işlendi. İki grup arasında $p < 0.05$ & $\log_2 FC \pm 1.5$ -kat baz alındığında diferansiyel ekspres (DEG) 1765 gen belirlendikten sonra datasetiyle literatür arasında eşleşen genler ve ilişkili yolak analizleri Ingenuity Pathway Analysis (IPA) kullanılarak gerçekleştirildi. IPA'ya göre ülsere grupta en anlamlı upregüle olan DEG'ler AVPI1 (10.13), ID3 (3.071), ECM2 (2.264) ve ADRA2C (2.13); downregüle DEG'ler CCL19 (5.050), CHI3L2 (4.118), CXCL13 (3.76), CCL21 (2.9) ve C15orf48 (2.16) olarak bulundu. Gruplar arasında DEG'lerin kümülatif olarak etkilediği başlıca hücrel fonksiyonların hücre ölümü ve yaşamı, immün sistem ilişkili hücrel hareket ve hücre-hücre etkileşimi olduğu saptandı. DEG'lerin ve değişen hücrel fonksiyonların en fazla aktin iskelet sinyalizasyonu, integrin ve p21-aktive kinaz (PAK) sinyal yollarını etkilediği belirlendi. Sonuçlarımız asemptomatik KAS hastalarında ülsere plakların düzgün plaklardan biyolojik özellikleri açısından ayırt edilmesinde immün sistemi etkileyen ve regülasyonu değişen PAK sinyal yolağının, azalan hücre-hücre etkileşimi ve kemokin sinyalizasyonunun rol oynadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Karotis arter stenozu, asemptomatik, plak biyolojisi, transkriptomik, RNA sekans analizi

Bu çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi BAP birimi tarafından (Proje No: TAY-2022-592) desteklenmiştir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Onkogenik Protein Fosfataz 1D/Wild-Type P53-İndüklü Fosfataz 1 Fosfataz Kanseri Hücrelerinde Bazal Ve Kemoterapi-İndüklü Otofajiyi Arttırır

Ceylan AK¹; Ayfer KARLITEPE²; Nazlıcan KAYGUSUZ¹; Hatice PİLEVNELİ¹; Mehtap KILIÇ EREN¹

¹Aydın Adnan Menderes University Medical Biology, Aydın, Türkiye

²Ankara Yıldırım Beyazıt University Regenerative Medicine, Ankara, Türkiye

AMAÇ: PPM1D/Wip1, PP2C ailesi fosfatazların bir üyesidir. Genotoksik stresle aktivasyon üzerine, Wip1, DDR'nin ATM, YH2AX, Chk1, Chk2 ve p53 gibi temel elemanlarını fosforile eder ve DDR'nin sonlandırılmasına katkıda bulunur. Wip1, yaygın insan kanserlerinde aşırı eksprese edilir ve bu nedenle onkogen olarak tanınır. Onkogenik, hücre döngüsünün tutuklanması, apoptoz ve yaşlanma gibi genotoksik stresin neden olduğu hücrel tepkileri düzenler. Son veriler Wip1'in otofajinin indüklenmesinde rol oynadığını göstermektedir. Otofaji, hücrel içeriğin parçalandığı ve geri dönüştürüldüğü katabolik bir süreçtir. Otofaji, kanserin erken evrelerinde tümör baskılayıcı bir rol oynar, ancak kanserin ileri evrelerinde tümörün hayatta kalmasını destekler ve kanser tedavisine karşı direnç katkıda bulunur. Şu anda tedavi direncindeki rolünün altında yatan moleküler mekanizmalar büyük ölçüde bilinmemektedir. Bu çalışmada kanser hücrelerinde bazal ve kemoterapiye bağlı otofajinin indüklenmesinde onkogenik Wip1'in rolünü inceledik.

YÖNTEMLER: MCF-7, D283-med ve IMR32 hücreleri kullanıldı. Otofajinin indüksiyonu etoposid ile sağlandı. Otofajiyi ve Wip1'i engellemek için sırasıyla klorokin ve GSK2830371 kullanıldı. LC31-11 oluşumunu değerlendirmek için WB analizi kullanıldı. p62 bozulması, Wip1 Ulk1, p53 ve p21 ifadeleri. Wip1 ve Ulk1'in birlikte lokalizasyonunu test etmek için konfokal mikroskopisi kullanıldı. Wip1-Ulk1 etkileşimini test etmek için Co-IP analizi yapıldı.

BULGULAR: Burada onkogenik Wip1'in bazal ve kemoterapinin neden olduğu otofajiyi arttırdığını ve bunun kanser hücrelerinin hayatta kalmasını daha da arttırdığını gösterdik. Wip1, meme, nöroblastoma ve medulloblastoma hücre kanserinde Ulk1 ile etkileşime girer ve Ser757 ve Ser638'de fosforile olur. Kemoterapinin neden olduğu otofajiye artan p53 seviyeleri ve hücre döngüsü durması eşlik eder. Wip1'in allosterik inhibitör GSK2830371 tarafından kimyasal inhibisyonu ve/veya hidrosiklorokin tarafından otofaji, pro-apoptotik proteinlerin bozulmasını önleyerek apoptozun indüklenmesine neden oldu.

TARTIŞMA: Verilerimiz, onkogenik Wip1'lerin, kanser hücrelerinin hayatta kalmasına katkıda bulunan bazal ve kemoterapiye bağlı otofajiyi teşvik etmede önemli rol oynadığına dair kanıt sunmaktadır. Wip1 ve otofaji inhibitörlerinin kullanılması umut verici bir terapötik strateji olabilir ve daha ileri araştırmaları garanti eder.

Alzheimer Hastalığı İçin Potansiyel Biyomarker Çalışmaları Kapsamında LSM14A'nın Araştırılması

Sümevra İldız¹; Nazlıcan İlhan²; Bedia Samancı³; Pelin Sordu¹; Merve Alaylıoğlu¹; Haşmet Ayhan Hanağası³; İbrahim Hakan Gürvit³; Başar Bilgiç³; Erdinç Dursun¹; Duygu Gezen-Ak¹

¹İstanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Davranış Nörolojisi ve Hareket Bozuklukları Birimi, İstanbul, Türkiye

Amaç: Nöronlarda sinaptik plastisite ve hafıza oluşumu gibi hücrel süreçlerin devamlılığı için mRNA'lar gereklidir. İşleme cisimleri (P-cisimleri) dendritik translasyon bölgelerinde bulunarak mRNA'lara bağlanırlar. Bu mRNA'lar sinaptik plastisitenin devamlılığı için gereklidirler ve translasyona gitmeden önce susturularak P-cisimleri kompleksi içinde depo olarak saklanabilirler. P-cisimleri, 3 ana proteinden oluşmaktadır: DDX6, 4E-T ve LSM14A. Bunlardan LSM14A çeşitli proteinler ile etkileşime girerek mRNA'nın translasyonu, depolanması ve indirgenmesinin kontrolünde rol oynar. Nörodejeneratif hastalıkların erken dönemlerinde dendritik hasar oluşmaya başlar. Hasara bağlı olarak dendritik içeriğin ne derecede ekstraselüler alana çıktığı net olarak bilinemez de bazı çalışmalarda eksozomların ve mRNA'ların BOS'a çıktığı gösterilmiştir. mRNA'ların dendritik bölgede P-cisimleri ile bulunması, mRNA'ların BOS'a P-cisimleri ile çıkabileceğini düşündürmektedir. Ancak literatürde bununla ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, Alzheimer hastalarının BOS'larında LSM14A proteinin takibi yapılarak Alzheimer hastalığının erken evre tanısı için biyobelirteç olma potansiyeli araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 2011 NIA/AA kriterlerine göre teşhis koyulan 20 Hafif Bilişsel Bozukluk (MCI), 42 Alzheimer Hastası (AH) ve kontrol grubu olarak 19 subjektif kognitif bozukluğu (SCI) olan toplamda 81 hastanın BOS örneğinde ELISA tekniği ile LSM14A protein miktarı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar GraphPad InStat DTCG 3.06 yazılımında tek-yönlü ANOVA metodu ile karşılaştırılmıştır.

Sonuçlar: Elde ettiğimiz sonuçlarda kontrol grubuna göre MCI grubunda LSM14A miktarı anlamlı derecede yüksektir ve hastanın yaşına bağlı olarak LSM14A seviyesinde artış görülmüştür. AH grubunda ise <3 yıldan daha kısa süreli hastalık süresine sahip bireylerde yüksek miktarda LSM14A seviyesi tespit edilmiştir.

Tartışma: Çalışma sonuçlarına göre MCI grubunda BOS'a salınan LSM14A protein miktarının arttığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra AH hastalarında LSM14A protein miktarının hastalık yılına bağlı olarak değişkenlik göstererek, hastalığın ilk evrelerinde BOS'taki LSM14A protein miktarı fazla iken hastalık ilerledikçe protein seviyesinin azaldığını tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarımız, LSM14A proteininin Alzheimer Hastalığı için erken evre bir belirteç olabileceğini göstermektedir. Çalışmamız hasta sayısı artırılarak devam etmektedir.

Kondrositlerde ELF3 Hedefli Anti-Sense Oligonükleotidlerin Kullanımı: Osteoartrit Tedavisine Yeni Bir In Vitro Yaklaşım

Büşra Aydın¹; Gozde Imren^{1,2}; Ekim Z. Taskiran^{2,1}; Beren Karaosmanoglu²

¹Hacettepe University, Institute of Health Sciences, Department of Medical and Surgical Research, Ankara, Türkiye

²Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Ankara, Türkiye

Amaç: Kondrositler, eklem kıkırdağının hücre dışı matrisini üreten ve oldukça farklılaşmış bir yapıya sahip olan hücrelerdir. Kıkırdağın kendini yenilemesi oldukça sınırlıdır ve bu durum önemli pek çok sağlık sorununa sebep olmaktadır. Bu sınırlı yenilenme kapasitesi, inflamasyona eğilimli genetik hastalıklar, romatoid artrit ve osteoartrit (OA) gibi artritik durumlarda kıkırdak dejenerasyonuna yol açar. ELF3, inflamasyonla ilgili genlerin düzenlenmesinden sorumlu olan bir transkripsiyon faktörüdür, ayrıca süper-enhancer aracılığıyla kendi ifadesini önemli ölçüde artırır. Araştırma grubunuz, son yıllarda antisense oligonükleotid (ASO) bazlı gen tedavisi seçeneklerine odaklanmıştır; inflamasyona bağlı OA için potansiyel bir terapötik hedef bulmak üzere ELF3 baskılanmasının etkisini test etmek için in vitro bir kondrosit-inflamasyon modeli (CIM) oluşturmuştur.

Gereç ve Yöntem: CIM, mezenkimal kök hücrelerden (MSC) farklılaşmış kondrositlerde IL-1B (interlökin 1 beta) indüklenmesi ile oluşturulmuştur. Modelin inflamatuvar imzasını transkriptomik düzeyde aydınlatmak için RNA-dizileme yapılmıştır. Daha sonra ASO'lar bu modelde ELF3 ifadesini baskılamak için tasarlanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda ELF3-ASO transfeksiyonu yapılmış ve gen ifadesi qRT-PCR ile değerlendirilmiştir.

Sonuçlar: Kondrositlere 1000 nM ELF3-ASO transfekte edildikten sonra ELF3 ifadesinin %60 oranında azaldığı görülmüştür. Ayrıca, inflamasyonla ilişkili genler olan IL-1B ve IL-6'nın gen ifadeleri de azalmıştır. Kondrosit matris yıkımının ana elemanı olan MMP13'ün ifadesi de ELF3 baskılanmasından sonra azaldığı ortaya çıkmıştır.

Tartışma: ELF3-ASO uygulaması sonrasında inflamasyon ve kondrosit matris yıkımı ile ilişkili genlerin azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, ELF3 hedefli tedaviler, OA sürecinde inflamasyonu azaltmak için etkili bir strateji olabilir ve bu da hastalığın tedavisi için potansiyel bir hedef olabilir.

Anahtar kelimeler: Kondrosit, inflamasyon, osteoartrit (OA), Anti-sense oligonükleotid (ASO), transkriptomik.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Multipl Sklerozda İnflamasyonun Baskılanmasında Yeni IL-17A İnhibitörlerinin Keşfi Ve Etkinliğinin İn Siliko, İn Vitro Ve İn Vivo Yaklaşımlarla Gösterilmesi

Müge Didem Orhan¹; Lalehan Oktay¹; Serdar Durdağı^{2,3}; Timuçin Avşar^{3,4}

¹Neuroscience, Graduate School of Education, Bahçeşehir University, İstanbul, Türkiye

²Department of Biophysic, School of Pharmacy, Bahcesehir University, İstanbul, Türkiye

³HITMER, School of Medicine, Bahcesehir University, İstanbul, Türkiye

⁴Department of Medical Biology, School of Medicine, İstanbul, Türkiye

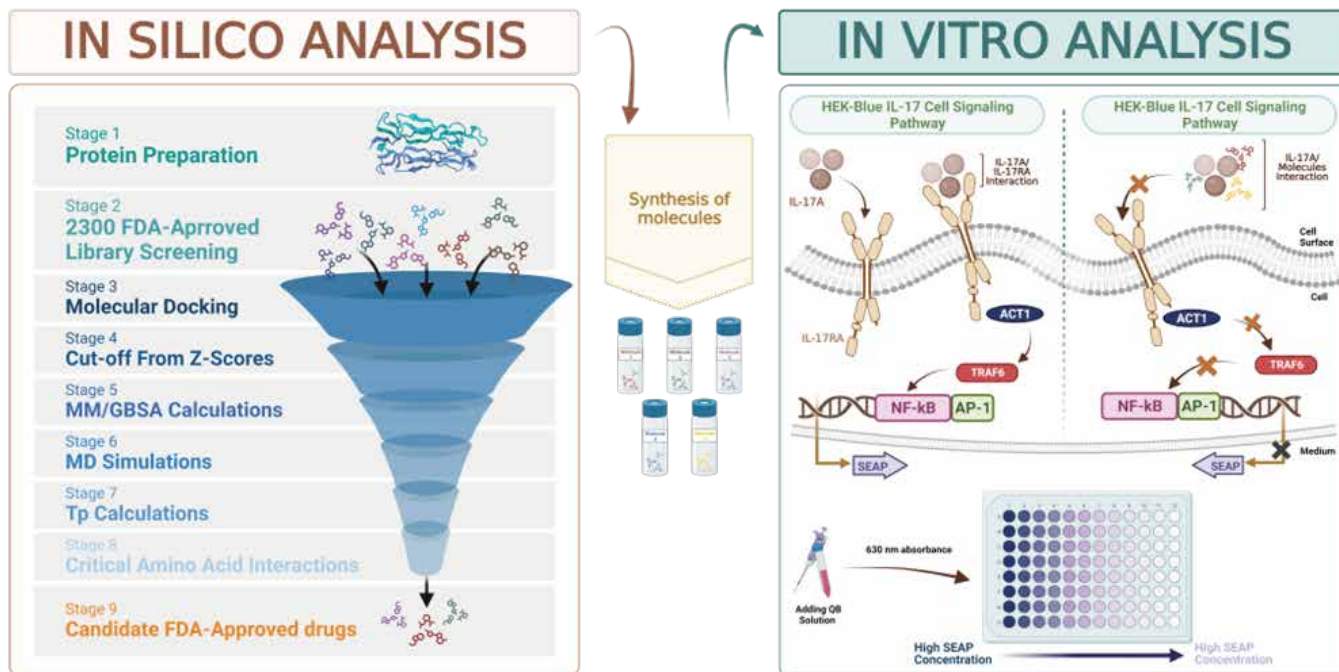
Amaç: Multipl skleroz (MS), IL17'nin merkezi rol oynadığı kompleks otoinflamatuvar bir sinir sistemi hastalığıdır. Hesaplamalı biyoloji yöntemleri ile ilaç yeniden konumlandırma çalışmaları kompleks hastalıklarda ilaç keşfinin hızlı ve etkin biçimde yapılmasını sağlayan güncel bir yaklaşımdır. Bu nedenle çalışmadaki amacımız, in siliko, in vitro ve in vivo yaklaşımlar kullanılarak yeni potansiyel IL-17A inhibitörlerinin keşfi ve bu inhibitörlerin MS'deki moleküler etki mekanizmalarının araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Öncelikle IL-17A ligandının reseptöre bağlanma bölgeleri ile ligandın homodimer kristal yapısı in siliko yöntemlerle hazırlandı. Ardından moleküler kenetleme, MM/GBSA hesaplamaları ve moleküler dinamik (MD) simülasyonları kullanılarak, FDA onaylı ilaç kütüphanesi taranmış, reseptör-ligand bağlanmasını engelleyecek aday moleküller listelenmiştir. Aday moleküllerin in vitro inhibisyon potansiyelleri, ELISA yöntemi ve IL17R ifade eden HEK-Blue reporter hücreleri kullanılarak belirlenmiştir. Etkin moleküllerin in vivo aktivitesini değerlendirmek için kuprizon MS modeli kullanılmıştır.

Sonuçlar: Yaklaşık 2300 FDA onaylı molekül arasından IL-17A/IL-17RA bağlanmasını engelleyebilecek 12 aday molekül in siliko yaklaşımlarla belirlendi. Bu moleküllerin terapötik aktiviteleri ve MD simülasyon hesaplamaları ile bağlanma enerjileri hesaplandı. In vitro çalışmalarda 9 molekülün IL-17A/IL-17RA etkileşimi 100%'e yakın seviyede inhibe ettiği gösterildi. Berotralstat, Epirubicin ve Mitaxantrone moleküllerinin IC50değerleri 5mM ve altında en yüksek inhibisyonu gösteren moleküller olarak belirlendi. Seçilen aday moleküllerle gerçekleştirilen kuprizon MS modelinde IL-17A inhibisyonu sonucu proinflamatuvar sitokinlerin ve inflamasyondan sorumlu T hücre alt gruplarının seviyesinin azaldığı gözlemlendi.

Tartışma: İn siliko yaklaşımla belirlenen on iki aday molekülden 9 tanesinin IL-17A/IL-17RA etkileşimini inhibe ettiği gösterilmiştir. İlaç yeniden konumlandırma çalışmaları ile toksik etkisi olmadığı bilinen moleküllerin MS'de IL-17A inhibitörü olarak kullanılma potansiyelleri yapılan pre-klinik çalışmalarla belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: ELISA, HEK-Blue IL-17 hücre, IL-17A, İlaç yeniden konumlandırma, Kuprizon, Multiple Skleroz.



COMPOUND ID	Docking Score (kcal/mol)	Docking z-score	Average MM/GBSA (kcal/mol)	TP	Mostly Observed Contacts from Simulation	Inhibitory Activity
Berotralstat	-5.99	-2.13	-40.47	0.45	Glu60, Val128, Ile127, Arg46	%88 inhibits at 10µM IC ₅₀ : 4.446 µM
	-7.10	-2.85	-54.45	0.45		
	-6.96	-2.36	-51.98	0.45		

Epirubicin	-5.91	-2.63	-50.83	0.39	Tyr44, Asp42, Leu53, Val128, Ile127, Arg46	%98 inhibits at 10 μ M and %25 inhibits at 1 μ M IC ₅₀ : 2.219 μ M
	-7.54	-2.83	-56.28	0.39		
Fingolimod	-6.85	-2.27	-54.42	0.45	His129	IC ₅₀ : 79.97 μ M
Mitoxantrone	-6.66	-2.66	-54.93	0.41	Glu60, Pro59, Glu57, Asp42, Asp84, His86 Met87, His129	%100 inhibits at 10 μ M, %65 inhibits at 1 μ M, %30 inhibits at 100nM
	-5.51	-2.24	-40.25	0.41		
	-7.25	-2.99	-56.49	0.41		
	-7.57	-2.86	-66.26	0.41		
Niraparib	-6.58	-2.05	-46.85	0.56	Val128	%50 inhibits at 10 μ M and %22 inhibits at 1 μ M IC ₅₀ : 70.17 μ M

Pixantrone	-7.75	-3.00	-55.83	0.47	Ile127, Ser41	%43 inhibits at 10 μ M and %26 inhibits at 1 μ M
Sacubitril	-9.32	-2.17	-95.68	0.35	Gln117, Glu118, Leu120, Asn55, Trp90, Ser64, Lys61, Ser63, Pro86	Not active in 100 μ M and 1 μ M
Avacopan	-9.36	-2.20	-92.78	0.38	Leu120, Gln117, Pro86, Lys61	Not active in 100 μ M and 1 μ M
Antrafenine	-9.42	-2.23	-90.05	0.37	Ile119, Leu120, Ser63, Gln117, Ile119	%92 inhibits at 10 μ M IC ₅₀ : 7.011 μ m
Pitavastatin	-9.46	-2.26	-77.11	0.58	Gln117, Glu118, Leu120, Val142, Ser63, Lys61, Trp90, Ile119, Glu118	Not active in 100 μ M and 1 μ M

Ezetimibe	-9.27	-2.13	-76.22	0.52	Leu135, Ile51, Leu120	IC ₅₀ : 193.7 µM
Enasidenib	-9.31	-2.16	-73.06	0.44	Ile119, Leu120, Glu118, Lys61	%54 inhibits at 10µM IC ₅₀ : 10.23 µM

Tablo: İlaç yeniden konumlandırma ile belirlenen 12 aday molekülün in siliko ve hücre inhibisyon aktivite sonuçlarını gösteren tablo.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Nadir Nöromusküler Hastalıklarda Ortak Bulgu: İskelet Kasında Mitokondriyal Protein İmport Hatası

Evrin Aksu Mengeş¹; Eray Taha Kumtepe¹; Burcu Balcı¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 06100, Sıhhiye, Ankara, Türkiye

Amaç: Mitokondrilerin işlevlerini doğru olarak yerine getirebilmeleri için protein transportunun hatasız olarak gerçekleşmesi gerekmektedir. Mitokondriyal protein import mekanizmasında gözlenen hatalarının farklı hastalıkların patogeneğinde primer/sekonder etkisinin olduğu saptanmış olmakla birlikte; anormal mitokondri morfolojisinin, düşük membran potansiyeli ve azalmış ATP üretiminin, ayrıca reaktif oksijen türleri artışının mitokondriyal protein importunu etkilediği gösterilmiştir. Ancak bu mekanizmanın, nöromusküler hastalıklarda sekonder bir bulgu olarak iskelet kasında gözlenen mitokondriyal hasara etkilerini araştırmaya yönelik bir çalışma yapılmamıştır. Grubumuz tarafından yapılmış olan çalışmalarda, farklı genetik temelleri olan nadir nöromusküler hastalıklarda iskelet kasında gözlenen mitokondri hasarının düzenlenmesinde rol alan ortak mikroRNA'lar belirlenmiş olup, bu mikroRNA'ların olası hedef genlerinin mitokondriyal protein importu ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmamızda; nadir nöromusküler hastalıklardan, DMD, Megakoniyal KMD ve Ullrich KMD etiyopatogeneğinde gözlenen mitokondri hasarının mitokondriyal protein import mekanizması ile olası ilişkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Aconitase 2 (ACO2) proteinine ait mitokondriyal sinyal dizisinin pcDNA3-GFP vektörüne klonlanması ile MitoGFP plazmidi oluşturulmuş ve plazmid, DMD (n=2), Megakoniyal KMD (n=1) ve Ullrich KMD (n=2) hastalarına ve 2 kontrol bireye ait primer miyoblast hücrelerine transfekte edilmiştir. Mitokondriyal protein import analizini gerçekleştirmek amacıyla, transfekte hücrelerde mitokondri belirteci olan TOM20 ile immüno floresan boyama yapılmış ve devamında TOM20 ile MitoGFP eşyerleşim oranı Fiji (v2.13.1) programındaki "Colocalization Threshold" eklentisi kullanılarak analiz edilmiştir.

Bulgular: Çalışmamız sonucunda, çalışılan tüm nöromusküler hastalara ait primer miyoblast hücrelerinde MitoGFP-TOM20 eş yerleşiminde kontrol hücrelere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma gözlenmiştir.

Sonuç: DMD, Megakoniyal KMD ve Ullrich KMD iskelet kas hücrelerinde mitokondriyal protein import mekanizmasında (pre-sequence/TIM23 import yolağı) bozukluk olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu mekanizmanın, iskelet kasında sekonder mitokondri hasarının gözlendiği nöromusküler hastalık gruplarında yenilikçi tedavi seçeneklerinin önünü açacak ortak bir hedef olarak kullanılabilmesi öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: mitokondri hasarı, mitokondriyal protein import, nöromusküler hastalıklar, primer miyoblast hücre kültürü

Bilim Kurulu'na Not: Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmektedir (Proje no: TSA-2021-19199).

Temozolomid, 5-Florourasil Ve Epirubisin Tedavisinin Glioblastoma Üzerinde Kombinatoryal Etkisi

Mehrsa Bayat¹; Timucin Avsar^{2,3}

¹Neuroscience, Graduate School of Education, Bahcesehir University, Istanbul, Türkiye

²HITMER, School of Medicine, Bahcesehir University, Istanbul, Türkiye

³Department of Medical Biology, School of Medicine, Bahcesehir University, Istanbul, Türkiye

Amaç: Glioblastoma (GBM), hızlı ilerleyen ve tedaviye direnç gösteren, yüksek derecede kötü huylu primer beyin tümörü olarak karakterize edilir. Tümör tedavisinde cerrahi sonrası en yaygın kullanılan standart kemoterapi molekülü temozolomid (TMZ)dir. Zamanla gelişen ilaç direnci, kemoterapi başarısızlığı ile yüksek derecede ilişkilidir. Bu çalışmanın amacı, TMZ direnci gelişen glioblastoma hücrelerinde TMZ direncini aşmak için farklı kemoterapötik ajanların birlikte etkinliğinin araştırılmasıdır. Bu nedenle, DNA'ya bağlanma mekanizması ile etki gösterdiği bilinen Epirubisin ve 5-florourasil (5FU)'in TMZ ile birleştirilmiş tedavilerin temozolomid duyarlılığını artırma ve antikanser etkisini artırma yeteneğini tanımlayarak apoptotik aktiviteye etkisi incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem: U87MG hücre hattı 16 gün boyunca TMZ dirençli hale getirildi. Ardından 200mM TMZ konsantrasyonuna dirençli hücreler, farklı Epirubicin ve 5FU kombinasyonları altında test edildi. Hücre canlılığı MTT yöntemi ile değerlendirildi. Hücrelerin farklı kombinasyonlardaki ilaçlar için IC50 değerleri belirlendi. Etkin kombine konsantrasyonlarda U87MG hücrelerinde ROS aktivitesi DCFH-DA boyası kullanılarak, Annexin V boyası kullanılarak ise apoptoz değerlendirmesi akım sitometrisi yöntemi ile araştırıldı. İlaçların kanser kök hücresi potansiyeline olan etkisinin değerlendirilmesi için koloni oluşturma deneyi gerçekleştirildi.

Sonuçlar: 200mM TMZ konsantrasyonuna dirençli U87MG hücreleri 200 nM Epirubicin ve 5FU ile birlikte TMZ verildiğinde hücrelerin %100'e yakının canlılığının kaybettiği gösterilmiştir. Belirlenen 3lü ilaç kombinasyonu en etkin kombinasyon olarak belirlenirken farklı kombinasyonların kısıtlı etkinlikleri de gösterilmiştir. Etkin üçlü kombinasyon uygulandığında hücrelerde ROS aktivitesinde artış ve hücrelerin apoptoza tetiklendiği gösterilmiştir. Kanser hücrelerinin koloni oluşturma potansiyelleri değerlendirildiğinde üçlü tedavinin koloni oluşturma kabiliyetini maksimum derecede kısıtladığı gösterilmiştir.

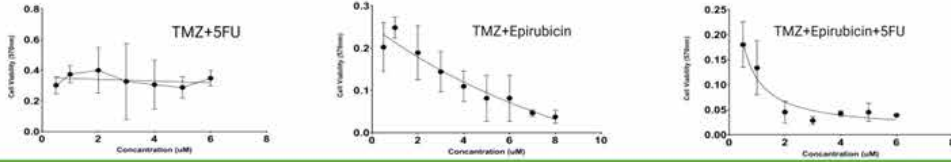
Tartışma: Sonuçlarımız TMZ dirençli glioblastoma hücrelerinde Epirubicin ve 5FUnun birlikte kullanımı ile TMZ direncinin önüne geçilebildiği gösterilmiştir. Ayrıca çalışmamız DNAya bağlanma özelliği olan üç kemoterapötüğün birlikte kullanıldığı ve epirubicinin glioblastomada ilaç dirençliliğine karşı kullanıldığı ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: 5FU, Birleşik tedavi, Epirubicin, Glioblastoma, TMZ.

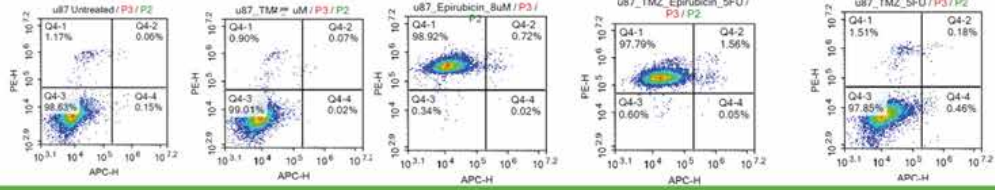
Bilim Kurulu'na Not: Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmektedir (Proje no: TSA-2021-19199).

Combinatorial activity of TMZ, 5FU and Epirubicin treatment on glioblastoma

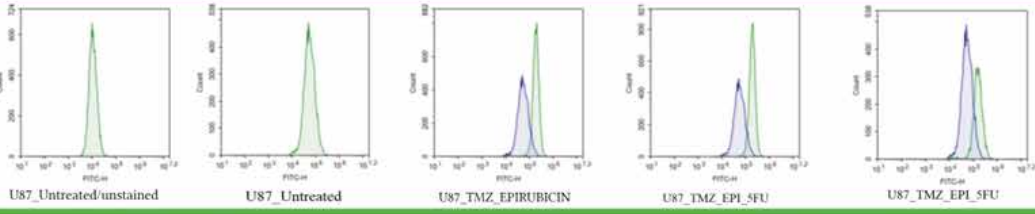
1 Cell Viability



2 Apoptosis



3 ROS assay



4 Colony Formation





18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Akciğer Adenokarsinom Hücrelerinde Thiostrepton İle Sisplatin Kombinasyonunun Antikanser Ve DNA Onarım Genleri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Funda DEMİRTAŞ KORKMAZ, Zekeriya DÜZGÜN, Ebru ALP
Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Giresun, Türkiye

Amaç: Kemoterapi ile birlikte gelişen ilaç dirençlerinin nedenlerinden biri de DNA hasar tamir genlerinin aktive olmasıdır. FoxM1 transkripsiyon faktörünün kanser hücrelerinde DNA tamir genlerini aktive ederek kemoterapi direncine yol açtığı bildirilmiştir. Bu çalışmada akciğer adenokarsinom hücrelerinde (A549), kemoterapötik bir ilaç olarak sisplatin ile FoxM1 inhibitörü thiostreptonun eş zamanlı uygulamalarının antikanser etkisi ve DNA hasar yanıt genleri üzerine değişimleri incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Thiostrepton ve sisplatin ayrı ayrı ve birlikte eş zamanlı uygulamalarının A549 hücre canlılığı üzerine etkileri MTT testi ile analiz edilmiştir. Uygulamaların hücre migrasyonu üzerine etkileri yara iyileşme testi ile değerlendirilmiştir. DNA hasar tamir genleri üzerinde değişimleri ise real time PCR yöntemi ile incelenmiştir.

Sonuçlar: Sisplatin ve thiostrepton'un eş zamanlı uygulanması akciğer kanseri hücrelerinde önemli bir sitotoksik etkiye yol açtı. Yara iyileşme testine göre kombine uygulamaların A549 hücre migrasyonunu önemli oranda azalttığı gözlemlenmiştir. Gen ifade analizleri, thiostrepton'un FoxM1 ifadesini azalttığını, ayrıca kombine uygulamalarda kontrole kıyasla XRCC1, CSK1, Exo1 ve Skp2 genlerinin ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığını gösterdi.

Tartışma: Bu bulgular, thiostreptonun sisplatin ile kombinasyonunun akciğer adenokarsinom hücrelerinde antikanser etkileri artırabileceğini ve kemoterapi ile indüklenen DNA hasarı onarımını engelleyebileceğini göstermektedir. Kemoterapi direncinin üstesinden gelmede FoxM1 inhibisyonunun rolünün aydınlatılması için dirençli hücre hatlarında daha ileri analizler önerilmektedir.

Bu çalışma Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: SAĞ-BAP-A-250221-44)

Anahtar Kelimeler: Kemoterapi direnci, DNA tamiri, thiostrepton, FoxM1, sisplatin

CXCR4 İfadesi Kemik İliği Multipotent Mezenkimal Kök Hücrelerin Bağırsak Hasarı Rejenerasyonu Üzerindeki Etkisi İçin Kritik Değildir

Burcu Pervin^{1,2}; Merve GİZER^{4,1,3}; Sema Nur GÜR^{1,2}; Ece GİZEM POLAT^{2,1}; Mehmet Emin ŞEKER^{1,2}; Özgür Doğuş EROL^{2,1}; Petek KORKUSUZ^{3,4}; Fatima AERTS KAYA^{2,5,1}

¹Hacettepe Üniversitesi, Kök Hücre Bilimleri Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara, Türkiye

³ODTÜ, Mikro-Elektro-Mekanik Sistemler Merkezi, Ankara, Türkiye

⁴Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁵Hacettepe Üniversitesi, Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara, Türkiye

Amaç: Tripsin sonrası kemik iliği mezenkimal kök hücre (Kİ-MKH)'lerin CXCR4 yüzey ifadelerinde anlamlı bir düşüş olduğunu göstermiştik. Bu çalışmada, Kİ-MKH'lerin bir fare modelinde indüklenmiş inflamatuvar bağırsak hastalığında (IBH) hasarlı dokuya rejeneratif potansiyeli üzerinde CXCR4 ifadesinin etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Kolit indüklenmesi için, Rag2^{-/-} farelere 5 gün %3 DSS uygulanmıştır ve hayvanların ağırlıkları ölçülerek, dışkı özelliklerine ve hastalık belirtilerine bakarak hastalık aktivite indeksi (DAI) skorlaması ile klinik tablosu değerlendirilmiştir (DAI=0, sağlıklı; DAI=6, kolit ve DAI=12 ağır kolit). En az DAI 6 puan olan farelere Tripsin ile toplanmış CXCR4 düşük veya enzimatik olmayan yöntem ile toplanmış CXCR4 yüksek Kİ-MKH'ler intraperitoneal olarak nakledilip, fareler 7 gün takip edilmiştir. Bağırsak permeabilitesini değerlendirmek için hayvanlara sakrifiye edilmeden 4 saat önce FITC-Dextran gavaj yoluyla verilmiştir ve serumdaki miktarları floresan absorbans ölçen spektrofotometrede belirlenmiştir. Kolonlar genel bağırsak anatomisi ve epiteli değerlendirmek için Hematoksilen/Eozin ile ve mukus tabakasını değerlendirmek için Alcian Blue ile boyanmıştır.

Sonuçlar: %3 DSS ile indüklenmiş Rag2^{-/-} farelerde orta ağırlıkta (DAI 7) kolit benzeri bir hastalık geliştirilmiştir. Sağlıklı farelere göre kolon uzunlukları DSS sonrasında önemli olarak azalmıştır (p<0,05) ve bağırsak permeabilitesi artmıştır. Nakil sonrasında hem CXCR4 yüksek hem de CXCR4 düşük grubunda kolon uzunlukları artmış (p<0,005) ve permeabilite azalmıştır. Histolojik değerlendirmeler sonrasında her grupta DSS grubuna kıyasla önemli miktarda iyileşme (p<0,0001) gözlenmiştir. DSS sonrası DAI skoru 7 iken, nakil sonrası CXCR4 yüksek grubunda DAI skoru 0,3 ve CXCR4 düşük grubunda ise DAI skoru 2,3'e kadar düşmüştür.

Tartışma: CXCR4 MKH'lerin en önemli kemotaktik reseptörlerinden biri olarak bilinmektedir. Bu çalışmada İBH indüklenmiş bir fare modelinde hem CXCR4 yüksek hem de CXCR4 düşük gruplarında benzer iyileşme durumları görülmüştür. Bu sonuçlar Kİ-MKH'lerin rejeneratif etkilerinin hasarlı dokuya göç edip yerleşmelerinden bağımsız olduğunu göstermektedir ve Kİ-MKH'lerin rejeneratif etkilerinin çoğunlukla parakrin (eksozom veya sekretom) yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir. İleri çalışmalarda DSS ile kolit indüklenmiş farelerde Kİ-MKH'lerin nakil sonrası bağırsak dokularına göç oranları ve parakrin etkilerinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.



Hasta Kaynaklı Yüksek Dereceli Glial Tümörlerden Geliştirilen Organoid Model Tümör Alt Tipi Heterojenliğini Korudu

Melis Erçelik¹; Çağla Tekin¹; Ahmet Bekar²; Hasan Koceli²; Mevlüt Özgür Taşkapılıoğlu²; Pınar Eser²; Sena Ferah¹; Melisa Gürbüz¹; Gülçin Tezcan³; Seçil Ak Aksoy^{4,5}; Berrin Tunca¹

¹Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

²Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin Cerrahisi Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

³Bursa Uludağ Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Bursa, Türkiye

⁴İnegöl Meslek Yüksekokulu, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

⁵Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Birimi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

Amaç: Yüksek-dereceli gliomalar heterojenite gösterdiğinden tümörlerin hücresel ve mutasyonel çeşitliliğini korumada sınırlı olan 2 boyutlu in-vitro modeller ile terapötik stratejilerin geliştirilmesi zordur. Bu sebeple tümörlerin heterojenliğini ve genom stabilitesini koruyan, insan organlarının yapısını ve işlevini simüle eden yeni organoid modellerin geliştirilmesi önem kazanmıştır. Mevcut çalışmanın amacı, yüksek evreli glioma hastalarının tümör örneklerinden, primer organoidlerinin oluşturularak hastaya ait tümör karakteristiğinin korunduğunu gösterebilmektir.

Yöntemler: Frozen değerlendirmesinde yüksek-dereceli glial tümör tanısı alan dokular, patolojik analizler ve organoid kültür için ikiye ayrıldı. Tümör dokularının histopatolojik tanısını ve tümörlerin alt tiplerinin belirlenebilmesi için KI67, GFAP, Olig-2, p53, ATRX proteinlerin ekspresyon durumu immünohistokimyasal boyama (IHC) analizi ile IDH-1 mutasyon durumu sekans analizi ile gerçekleştirildi. Organoid kültür için dokuların diseksiyonu 0.5-1 mm olacak şekilde parçalara ayrılarak büyümesi için GBO besiyeri ortamı ile 15 gün boyunca orbital çalkayıcılı CO2 inkübatörde büyütüldü. Organoid oluşumundan sonra hastaya ait tümör özelliğinin korunduğunun gösterilmesi için tekrardan IHC ve genomik analizler gerçekleştirildi (Etik Kurul: 2021-9/14, Proje no: TAY-2022-584).

Sonuçlar: Hücre kültür ortamlarında geliştirilen 2 adet organoidin histopatolojik tanısı yüksek-dereceli glial tümör olarak belirlendi. Geliştirilen ilk organoidin KI67 oranı %10 iken, hasta tümör dokusunda bu oran %30'du. İkinci organoidin KI67 oranı %5 iken, hasta tümör dokusunda bu oran %35'du. Organoidlere ait KI67 oranlarında hastaya ait tümör dokusuna kıyasla ilk organoitte %30, ikincisinde ise %20 azalma, organoidlerin orta kısmında hipoksiye bağlı gelişen apoptoz ve nekrozdan kaynaklandığı şeklinde yorumlandı. Her iki organoid ve hastaya ait tümör dokularında GFAP pozitif, Olig-2 pozitif, ATRX negatif ve IDH-1 negatif olarak belirlendi. p53 mutasyonu ise ilk organoitte negatif iken, ikincide pozitif. Oluşturulan her iki organoidin histopatolojik ve molekül değerlendirilmelerinde GFAP, Olig-2, ATRX, p53 ve IDH-1 sonuçlarında hastaya ait tümör dokusu ile kıyaslandığında hiçbir anlamlı farklılık olmadığı gözlemlendi ($p < 0.05$).

Tartışma: Organoid modeller üzerinde tümöre özgü özelliklerin korunabilmesi sebebiyle farklı karakterdeki hasta materyalleri ile biyo-banka oluşturulabilmesi ve kişiye özgü tedavilerinin belirlenebilmesi sağlanabilecektir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi

Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Anahtar kelimeler: Organoid kültür, Tümör-içi heterojenite, Yüksek dereceli beyin tümörü.

Bilim Kurulu'na Not: Bu araştırma, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından finanse edilmiştir (TAY-2022-584). Yazar Melis Erçelik, Yüksek Öğretim Kurulu (YÖK) tarafından 100/2000 Moleküler Biyoloji ve Genetik (Gen Tedavisi ve Genom Çalışmaları) alanında doktora bursu ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumuna (TÜBİTAK) 2211-C öncelikli alanlar doktora bursu almaya hak kazanmıştır.

Akut Greft Versus Host Hastalığının Rag2^{-/-} Fare Kolonoidlerde İn Vitro Modellenmesi

Burcu Pervin^{1,2}; Merve GİZER^{1,3}; İlke SARI⁶; Sema Nur GÜR^{1,2}; Ece GİZEM POLAT^{2,1}; Mehmet Emin ŞEKER^{1,2}; Özgür Doğuş EROL^{2,1}; Bahar DEĞİRMENCİ UZUN⁶; Petek KORKUSUZ^{3,4}; Fatima AERTS KAYA^{1,2,5}

¹Hacettepe Üniversitesi, Kök Hücre Bilimleri Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara, Türkiye

³ODTÜ, Mikro-Elektro-Mekanik Sistemler Merkezi, Ankara, Türkiye

⁴Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁵Hacettepe Üniversitesi, Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara, Türkiye

⁶Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara, Türkiye

Amaç: Bu çalışmada, in vitro immün yetmezlikli Rag2^{-/-} fareden elde edilen kolon organoidlerinde (kolonoid) akut greft versus host hastalığının modellenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Rag2^{-/-} fare kolonları toplanıp gaitalardan temizlenerek, 2 mm'lik parçalara ayrılmıştır. Kolon parçaları Gentle Cell Dissociation Reagent ile oda sıcaklığında inkübe edilmiştir ve kolon parçaları süzgeçten geçirilerek çöktürülmüştür. Matrijel ile süspanse edilen kolon kriptleri 24 kuyucuklu plakalara kubbe şeklinde ekilmiştir ve organoid büyüme medyumuna eklenmiştir. aGvHD benzeri bir inflamasyon durumu indüklemek amacıyla C57BL/6 dalaklarından CD3 T hücre izolasyonu yapılmıştır. CD3ε ve CD28 ile uyarılan dalak T hücreleri pasaj 3'teki kolonoidlerle süspanse edilerek ekilmiştir ve kültür 4 gün boyunca canlı hücre görüntüleme cihazında takip edilmiştir. Kolonoidler, immünohistokimyasal boyamalar için parafine gömülmüş ve Hematoksilen/Eozin (H&E) boyamaları yapılmıştır. Hücrel organizasyonunun belirlenmesi amacıyla; apoptotik hücreler için aktif kaspaz 3, kolonositler için anti-sitokeratin 20 ve goblet hücreleri anti-MUC2 antikoru ile immün floresan boyanmıştır. Permeabilite testi için kültür medyumuna FITC-Dextran eklenmiş ve 15 dakika aralıklarla floresan mikroskopta fotoğrafları çekilmiştir.

Sonuçlar: RAG2^{-/-} farelerden başarılı olarak kolonoidler geliştirilmiştir ve H&E boyası ile kesitlerde lümen içeren bağırsak kriptlerinin olduğu görülmüştür. İmmün floresan boyama sonrasında kolonositler lüminalize kript yüzeylerini örtecek şekilde Sitokeratin 20 ifadeleri tespit edilmiştir. Muc2 işaretli goblet hücreleri kript yüzeylerinde bulunan epitel hücrelerin arasında saptanmıştır. Kript hücrelerin bazılarının apoptotik belirteç olan aktif-kaspaz 3 ile işaretlendiği dikkat çekmiştir. RAG2^{-/-} kolonoid dalak T hücre ko-kültürü sonrasında, apoptotik hücre oranlarında ve bağırsak permeabilitesinde bir artış görülmüştür. Canlı kolonoid takibinde T hücrelerin organoidlere saldırıldığı ve yok ettiği görülmüştür.

Tartışma: Bu çalışmada RAG2^{-/-} immün yetmezlikli farelerden başarılı olarak kolonoidler elde edilmiştir. T hücre ko-kültürü kullanılarak bu organoidlerde aGvHD'ye benzeri bir inflamatuvar ortam geliştirilmiştir. Bu modelin ileride yapılacak çalışmalarda aGvHD için geliştirilecek ilaç veya hücrel tedavilerinin geliştirilmesinde kullanılması planlanmaktadır.

Androjen Reseptörü Gen İfadesine Thiaclopridin Etkisi

Dilek Aşçı Çelik¹

¹Süleyman Demirel University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Isparta, Türkiye

Amaç: Androjenler, cinsiyet farklılaşması ve gelişimi için gerekli olan hormonlardır. Ligand bağımlı bir transkripsiyon faktörü olarak işlev görebilen ve nükleer hormon reseptörü süper ailesinin bir üyesi olan androjen reseptörü gibi reseptörlere bağlanarak etki gösterirler. Androjen reseptörünün çeşitli dokularda ifade edildiği, kemik, kas, prostat, yağ dokuları ile üreme, kardiyovasküler, bağışıklık, sinir ve hematopoitik sistemlerde önemli etkilere sahip olduğu bulunmuştur. Thiacloprid nikotinik asetilkolin reseptörleri üzerinden işlev gören bir insektisittir. Sık kullanılan bu pestisit gonadal androjen reseptör geninin ifadesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: 2,5, 5, 10 mg/kg olmak üzere 3 farklı dozda thiacloprid ve negatif kontrol grupları oluşturulmuş, 10 mg/kg thiacloprid grubunda 10, diğer gruplarda 8 adet Swiss albino fare kullanılmıştır. Thiacloprid subkutan olarak 21 gün boyunca toplam 11 doz olarak farelere uygulanmıştır. Deney sonunda genel anestezi altında farelerin gonadları çıkarılmış ve androjen reseptör geninin ekspresyonel değişiklikleri kantitatif gerçek zamanlı PCR ile araştırılmıştır. Total RNA izole edilerek saflık belirlenmiş ve buna göre cDNA sentezi yapılmıştır. Androjen reseptör geninin ifade seviyesi GUSB ve TFRC housekeeping genlerine göre normalize edilmiş ve $\Delta\Delta Ct$ metodu kullanılarak kontrol grubuna kıyasla tespit edilmiştir.

Sonuçlar: Androjen reseptör geni ifadesi, 2,5, 5 ve 10 mg/kg thiacloprid gruplarında sırası ile 0,25, 0,11, 0,16 kat olarak bulunmuştur ($p < 0.05$). Thiacloprid androjen reseptör geninin ifadesini inhibe etmiştir.

Tartışma: Farklı dozlarda thiacloprid uygulaması sonrasında androjen reseptöründe doz bağımsız bir inhibisyon tespit edilmiştir. Androjen reseptör gen ifadesinin baskılanması üreme bozuklukları dahil farklı hastalıkların gelişimine neden olabilir. Bu etkinin hangi yolak üzerinden meydana geldiği detaylı olarak araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Gen ekspresyonu, Gonad, Pestisit.

Fluopyram Gonadal Androjen Reseptörü Ekspresyonunu Baskılıyor

Vehbi Atahan Toğay¹

¹Süleyman Demirel University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Isparta, Türkiye

Amaç: Fluopyram mitokondriyal kompleks II inhibitörü olarak işlev gören, topraktaki yarılanma ömrü oldukça uzun ve suda çözünürlüğü düşük bir pestisitir. Doğada kalıcılığı yüzünden düşük dozlarda da olsa insanlara ulaşabilmektedir. Pestisitlerin androjen reseptörü üzerine etkileri olabildiği bilinmektedir. Androjenler ise başta üreme olmak üzere birçok sistem üzerinde önemli role sahiptirler ve androjen reseptörü aracılığıyla işlev görürler. Çalışmamızda fluopyramın androjen reseptörü üzerine etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Her grupta 8 adet Swiss albino fare bulunacak şekilde 3 farklı dozda (0,5, 1, 2 mg/kg) fluopyram ve negatif kontrol grupları oluşturulmuştur. Fluopyram farelere subkutan enjeksiyon ile iki günde bir 21 gün boyunca uygulanmış, sonrasında farelerin testis ve ovaryumları alınmıştır. Dokulardan total RNA izolasyonu sonrasında cDNA sentezi yapılmış ve androjen reseptörü geninin ekspresyon seviyesi StepOnePlus qRT-PCR cihazı ile negatif kontrol grubuna kıyasla tespit edilmiştir. qPCR verileri GUSB ve TFRC referans genlerine göre normalize edilerek ve REST2009 programı aracılığı ile değerlendirilmiştir.

Sonuçlar: Tüm gruplarda doz bağımsız olarak benzer sonuçlar görülmüştür. Buna göre 0,5, 1 ve 2 mg/kg fluopyram uygulaması sonrasında androjen reseptörü geninin ekspresyon kat değişimi sırasıyla 0,11, 0,13, 0,09 olarak tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

Tartışma: Fluopyram tüm dozlarda androjen reseptörü geninin ekspresyonunu benzer seviyede baskılamıştır. Androjen reseptörü genital organların ve sekonder cinsiyet karakterlerinin gelişiminde ve hem erkeklerde hem de dişilerde üreme sisteminin normal işlevinde gereklidir. Androjen reseptörü eksikliğinde başta infertilite olmak üzere birçok dokuda kanser dahil farklı hastalıkların gelişiminin önü açılabilir. Fluopyramın androjen reseptörü gen ifadesini inhibe edici etkisi bu pestisit androjen reseptörü sinyal yolağına etkisinin detaylı olarak belirlenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Androjen reseptörü, Gen ifadesi, Pestisit.

Multipl Miyelom Hücre Hatlarında TMED9 Geninin Etkisinin Araştırılması

Şeyma Punar¹; Burcu Salman Yaylaz¹; Sema Sırma Ekmekci¹; Neslihan Abacı¹
¹İstanbul Üniversitesi Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

Amaç: Multipl miyelom (MM), plazma hücrelerinde anormal immüoglobulinlerin veya immüoglobulin zincirlerinin aşırı üretilmesi ve birikmesi ile karakterize hematolojik bir malignitedir. TMED9 geninin ürünü, endoplazmik retikulum (ER) zarında ifade edilen taşıyıcı proteindir. Daha önce yaptığımız transkriptom çalışmasında MM hastalarında TMED9 geninin yüksek RPKM değerinin olduğunu bulduk. Bu çalışmada MM'de TMED9'un protein transportundaki rolü sebebiyle, hücre hatlarındaki işlevini araştırmayı amaçladık.

Yöntem: TMED9 gen ekspresyonu, MM hücre hattı olan U266 ve RPMI8226 hücre hatlarında elektroporasyon yöntemiyle siRNA aracılı baskılanmıştır. Her iki hücre hattında TMED9 geni, ekspresyon vektörü kullanılarak overeksprese edilmiştir. Gen ekspresyon seviyelerinin değişimi qPCR ile belirlenerek $\Delta\Delta CT$ yöntemiyle hesaplanmıştır. TMED9'un protein seviyesindeki değişimleri, Western blot ile analiz edilmiştir. Tüm deney gruplarında; apoptoz tayini için hücreler, Apoptin-Green , 7-AAD ve CytoCalcein Violet boya ile boyanarak konfokal mikroskopla görselleştirilmiştir. Apoptotik ve canlı hücre sayılarının belirlenmesi için ImageJ programı kullanılmıştır. TMED9'un hücre proliferasyonu üzerindeki etkisi MTT testiyle analiz edilmiştir.

Sonuç: TMED9 gen ekspresyonunun, U266 ve RPMI8226 hücrelerinde sırasıyla 24. saatte %74, %78 ve 48. saatte %50, %65 oranında baskılandığı bulunmuştur. Vektör grubunda özellikle 24. saatte TMED9 yüksek oranda eksprese edilmiş ve U266 hücrelerinde 100 kat, RPMI8226 hücrelerinde 80 kat arttığı bulunmuştur. TMED9'un baskılanması ve overekspresyonu, kemilüminesans görüntülemeyle protein seviyesinde gösterilmiştir. MTT sonuçları siRNA ile muamele edilen grupların hücre proliferasyonunun kontrol grubuna göre azaldığını ortaya koymuştur. Özellikle 24. saatte U266 hücrelerinde %60, RPMI8226 hücrelerinde %45 oranında hücre canlılığının azaldığı bulunmuştur. Apoptoz deney sonuçlarında her iki hücre hattında da 24. ve 48. saatlerde siRNA uygulanan gruplarda apoptotik hücre oranlarının %50'nin üzerinde olduğu hesaplanmıştır. Öte yandan, TMED9 overekspresyonunun, kontrol gruplarına göre hücre canlılığını ve proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir.

Tartışma: Bu çalışmada, TMED9 gen ifadesinin baskılanmasının MM hücrelerinin canlılığını azalttığını ve apoptozu tetiklediğini bulduk. Sonuçlarımız, TMED9'un farklı kanser türlerinde kötü prognozla ilişkilendirildiği için MM'de umut vadeden bulgulardır. İlerleyen çalışmalarda bu ilişkinin hangi yollar aracılığıyla meydana geldiğinin araştırılması planlanmaktadır. Bu çalışma U266 ve RPMI8226 hücrelerinde TMED9 genini hedefleyen ilk fonksiyonel çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: siRNA, TMED9, Kanser, Proliferasyon,

CLP Yöntemi İle İndüklenen Sepsisin Sıçan Modelinde Rosuvastatinin Apoptoz Ve Otofajiye Etkisi

Safiye İnşira YILDIZ, Faruk SAYDAM

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Rize, Türkiye

Amaç: Yoğun bakım ünitelerinde yaşamı tehdit eden önemli ölüm nedenlerinden olan sepsis, sistemik bir inflamatuvar yanıt sendromudur. Sepsis, birçok organı etkilemesine rağmen en sık ölümcül hasarı akciğerlerde meydana getirir. Statinlerin inflamasyona tepkiyi düzenlemede ve sepsisle ilişkili hasarı onarmada etkili olduğu gösterilmiştir. Rosuvastatin, daha yüksek pleiotrofik etkilerin yanı sıra daha fazla enzim baskılama özelliği sergiler. Amacımız, çekal bağlama ve delme yöntemi (CLP) ile oluşturulan sıçan sepsis modelinde rosuvastatinin akciğer dokusunda apoptoz ve otofaji üzerindeki doza bağımlı etkisini değerlendirmektir.

Yöntem: Sprague Dawley sıçanlar rastgele dört gruba ayrıldı: Sham, CLP, CLP+Rosuvastatin (10 mg/kg), CLP+Rosuvastatin (20 mg/kg). Rosuvastatin, CLP protokolünden 4 saat önce oral olarak verildi. Sıçanlar, CLP protokolünden 16 saat sonra mortaliteleri takip edilerek sakrifiye edildi. Apoptoz için Bcl-2 ve Bax genlerinin, otofaji için ise beclin-1 ve LC3 genlerinin ekspresyonları Real-time RT-PCR yöntemi kullanılarak analiz edildi. Anti-apoptotik Bcl-2 geninin ekspresyon seviyesinin pro-apoptotik Bax genine oranı gruplar arasında karşılaştırıldı.

Sonuç: 10 mg/kg rosuvastatin uygulanan grupta apoptozun anlamlı düzeyde baskılandığı, 20 mg/kg uygulanan grupta ise indüklendiği tespit edildi. LC-3 ve beclin-1, sırasıyla otofagozom ve fosfatidilinositol-3-kinaz kompleksinin oluşumundan sorumludur. 20 mg/kg rosuvastatin uygulanan grupta LC3 gen ekspresyon seviyesi anlamlı düzeyde azalırken, beclin-1 gen ekspresyon seviyesinin her iki doz grubunda da anlamlı düzeyde azaldığı belirlendi. Rosuvastatinin doku hasarına yol açan her iki hücresel basamakta da koruyucu etkiye sahip olduğu, 10 mg/kg dozunun apoptozda, 20 mg/kg dozunun ise otofajide etkili olduğu gözlemlendi.

Çözüm: Bu bulgular yaygın olarak kullanılan rosuvastatinin yeni tedavi stratejilerinde yer almasına katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Rosuvastatin, sepsis, akciğer, çekal bağlama ve delme.

Yüksek Yağlı Ve Yüksek Fruktozlu Diyet İle Beslenen Sıçanlarda Vitamin D'nin Karaciğer Üzerine Etkileri

Nargiz Bayramova¹; Betül Zorkaya²; Sakina Rzayeva¹; Tuğçe Özbilenler¹; Ayşe Seda Akdemir³; Çiğdem BAYRAM GÜREL¹; Ayşe Evrim Bayrak⁴; Ahmet Dirican⁵; Melek Öztürk¹; Fatma Kaya Dağıstanlı¹

¹İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Karabük Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Karabük, Türkiye

⁴İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁵İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Bu çalışmada, yüksek yağlı ve yüksek fruktozlu bir diyetin neden olduğu bir metabolik sendrom (MetS) modelinde vitamin D tedavisinin karaciğer dejenerasyonunun çeşitli yönleri üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlandı.

Gereç ve yöntem: Çalışma dört deney grubundan oluşturuldu: sağlıklı kontrol grubu (SK), Vitamin D ile tedavi edilen kontrol grubu (K+VD), MetS grubu (MetS) ve Vitamin D ile tedavi edilen MetS grubu (MetS+VD). Tedavi gruplarına, deneyin üçüncü haftasından itibaren D vitamini takviyesi (oral 170 IU/hafta) başlandı ve 15. haftanın sonuna kadar devam edildi.

Çalışma süresince tüm grupların ağırlıkları, açlık kan şekeri, bel çevreleri ve kalori alımları ölçüldü. Deneyin sonunda alınan karaciğer dokuları fikse edilerek parafin bloklara gömüldü. Alınan doku kesitlerine morfolojik değerlendirme, glikojen birikimi ve fibrozis tespiti için Hematoksilin-Eozin, PAS ve Van Gieson boyaması yapıldı. TGF- β 1, α -SMA, NLRP3, GSDMD, GPX-4, PCNA, VDR antikoru kullanılarak karaciğer doku kesitlerine immünohistokimya yöntemi uygulandı. TUNEL yöntemi ile apoptotik hücre ölümü, ELISA yöntemi ile ise serum insülin düzeyleri ölçüldü. Elde edilen tüm sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bulgular: Açlık kan şekeri ve serum insülin düzeyleri ($p < 0.001$), ağırlık ve bel çevresi ölçümlerinde MetS grubunda diğer tüm gruplara göre artış olduğu, MetS+VD grubunda ise tüm bu değerlerde düşüş saptandı. MetS grubunda TGF- β 1, α -SMA, NLRP3, GSDMD, GPX-4 protein ekspresyonlarının ve apoptotik indeksin diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek olduğu gösterildi ($p < 0.001$). Özellikle vitamin D tedavisi ile bu proteinlerin ekspresyonları ve apoptotik indekste önemli bir azalma saptandı ($p < 0.001$).

Sonuç: Vitamin D uygulamasının MetS'de açlık kan şekeri değerlerini düşürürken karaciğerin insüline cevabını düzenlediğini ve oksidatif stres, inflamasyon, fibrozis, hücre ölümü ve proliferasyonu üzerine olumlu etkileri olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Hücre ölümü, karaciğer dejenerasyonu, metabolik sendrom, vitamin D.

Mikrotübül Pozitif Uç Proteinlerinin İn Vitro SMA Modelinde Araştırılması

Pelin Zobaroglu Özer^{1,2}; Yıldız Aydın³; Nurcan Tunçbağ^{5,4}; Çağdaş Devrim Son⁶; Hayat Erdem Yurter¹; Gamze Bora¹

¹Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara, Türkiye

²Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Niğde Ömer Halisdemir University, Niğde, Türkiye

³Department of Biomedical Sciences and Engineering, Graduate School of Sciences and Engineering, Koç University, İstanbul, Türkiye

⁴Department of Chemical and Biological Engineering, College of Engineering, Koç University, İstanbul, Türkiye

⁵School of Medicine, Koç University, İstanbul, Türkiye

⁶Department of Biological Sciences, Faculty of Arts and Sciences, Middle East Technical University, Ankara, Türkiye

Amaç: Spinal müsküler atrofi (SMA), SMN proteini eksikliğinin neden olduğu nörodejeneratif bir hastalıktır. SMN kaybı, hücre iskeleti elemanı olan mikrotübüllerde ve düzenlenmesinde görevli proteinlerde hatalara neden olmaktadır. Daha önce gerçekleştirdiğimiz çalışmalarda, SMN gen ifadesi baskılanmış motor-nöron benzeri hücrelerde, mikrotübülün pozitif ucuna bağlanan EB3 protein ifadesinde azalma saptanmış; comet sayılarında ise anlamlı artış olduğu gösterilmiştir. EB3, mikrotübüllerin uzayan uçlarına bağlanan ve diğer mikrotübül pozitif uç (+TIP) proteinlerinin bağlanmasını düzenleyen bir proteindir. Bu nedenle EB3 proteininde saptadığımız değişikliklerin, diğer +TIP proteinlerini etkileyebileceği düşünülmüştür. Bu çalışmada, SMN'in +TIP proteinleri dahil tüm mikrotübül asosiye proteinlerle (MAP) olan etkileşimleri biyoinformatik araçlarla incelenerek bir SMN etkileşim ağı oluşturulmuştur. Bu ağda yer alan ve EB3'ün etkileşim partnerlerinden olan p150Glued ve CLIP170 proteinleri in vitro SMA modelinde araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: SMN'in MAP proteinleriyle doğrudan veya dolaylı etkileşimleri biyoinformatik araçlarla araştırılmış ve bir protein ağ haritası oluşturulmuştur. Tüm etkileşimler arasında, EB3 ile etkileşen p150Glued ve CLIP170 proteinlerinin ifade düzeyleri, SMN gen ifadesi siRNA ile baskılan motor nöron benzeri NSC34 hücreleri kullanılarak Western blot yöntemi ile araştırılmıştır. Bu proteinlerin oluşturduğu comet yapıları, immünofloresans boyama ve konfokal mikroskopik görüntülemeler sonrasında Image J programı ile kantitatif olarak analiz edilmiştir.

Sonuçlar: Biyoinformatik analizlerle, SMN ile işlevsel olarak etkileşim potansiyeline sahip aday MAP'lar tespit edilmiştir. SMN ifadesi baskılanmış hücrelerde, p150Glued protein düzeyinde, kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmış, ancak CLIP170 protein düzeyinde bir değişiklik bulunmamıştır. Kantitatif mikroskopik analizlerde, CLIP170'in comet sayılarında bir farklılık gözlenmezken, SMN kaybının proksimal ve distal nöritlerdeki p150Glued comet sayılarında istatistiksel olarak anlamlı artışa neden olduğu saptanmıştır.

Tartışma: In vitro SMA modelinde p150Glued proteininde saptadığımız değişikliklerin mikrotübül dinamiklerinin yanı sıra, p150Glued'un dynactin proteininin alt ünitesi olması nedeniyle retrograde taşımayı da etkileyebileceği düşünülmektedir. Bulgularımız, SMA patomekanizmasında motor



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi

Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



proteinlerin rolü olabileceğine işaret etmekte olup çalışmalarımız devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Spinal müsküler atrofi, mikrotübül, mikrotübül pozitif uç proteinleri

Bilim Kuruluna Not: Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TUBİTAK) tarafından desteklenmiştir.(Proje no:121S884)

Üçlü negatif meme kanserinde Endoplazmik retikulum sensor protein IRE1'nin RNaz aktivitesine bağımlı miRNA'ların ve hedef genlerin belirlenmesi

Pelin Telkoparan Akıllılar¹; Name Perktaş²; Dilek Çevik¹

¹Yüksek İhtisas University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara, Türkiye

²Kırıkkale University, Faculty of Science, Department of Biology, Kırıkkale, Türkiye

Amaç: Stres faktörleri Endoplazmik Retikulumun (ER) protein katlama fonksiyonunu etkiler ve Katlanmamış Protein Yanıtını (KPY) aktive eder. IRE1, kinaz ve RNaz aktivitesine sahip iki işlevli bir KPY stres sensör proteindir. ER stres koşulları altında IRE1, RNaz fonksiyonunu aktive ederek ER'de bulunan mRNA'ları ve hücre içi spesifik miRNA'ları keser. miRNA'ların Üçlü negatif meme kanserlerinde (TNBC) önemli roller oynadığı ve aynı zamanda KPY sinyal yolunun ana düzenleyicileri olduğu yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak, literatürde TNBC'de IRE1 RNaz aktivitesi tarafından düzenlenen miRNA'larla ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, TNBC gelişiminde rol oynayan önemli proteinlerle IRE1 RNaz aktivitesi tarafından düzenlenen miRNA ifadeleri arasındaki ilişkiyi bulmayı amaçladık.

Yöntemler: IRE1-RNaz inhibitörü/DMSO ile muamele edilen MDA-MB-231 ve MCF10A hücrelerinden miRNA'ları izole ettik ve mikroRNA PCR array kullanarak miRNome analizi gerçekleştirdik. MCF10A hücrelerinde ekspresyonu değişen miRNA'lar çalışma dışı bırakıldı. Daha sonra diferansiyel olarak eksprese edilen 10 miRNA, "mirWalk2.0" ve "Target scan" biyoenformatik araçları kullanılarak hedef gen tahmini için seçildi. Son olarak, IRE1 tarafından düzenlenen miRNA'ların BC'de yer alan önemli proteinlerle moleküler bağlantılarını test etmek için, miRNA modülatör molekülleri kullanarak her bir miRNA için miRNA-hedef gen ilişkisini doğruladık.

Bulgular: Sonuçlarımız BC'de 100'den fazla miRNA'nın IRE1-RNaz aktivitesi tarafından düzenlendiğini göstermektedir. IRE1-RNaz aktivitesi inhibe edildiğinde hsa-miR-32-5p, hsa-miR-200c ve let-7f-5p miRNA ifadeleri azalırken, hsa-miR-362-5p ve hsa-miR-646 ifadeleri arttı. Meme kanseri hücrelerini bu miRNA modülatörleriyle transfekte ettiğimizde, let-7a'nın PIK3CA'yı, hsa-miR-32-5p'nin FRS2'yi düzenlediğini ve hsa-miR-362-5p'nin IRE1-RNaz aktivitesinin kontrolü altında CDK6'yı düzenlediğini gözlemledik.

Sonuç: Bulgularımız meme kanseri-miRNA ve KPY ile ilgili yeni fonksiyonel bağlantıları ortaya çıkardı. Ayrıca IRE1 RNaz aktivitesi tarafından düzenlenen miRNA'lar ve bu miRNA'ların hedeflediği genler ilk kez bu çalışma ile TNBC'lerde tanımlandı.

Anahtar Kelimeler: Endoplazmik retikulum stresi, İnositol gerektiren enzim-1 (IRE1), MikroRNA, Üçlü negatif meme kanseri.

Teşekkür: Bu çalışma TÜBİTAK 120Z719 nolu proje tarafından desteklenmiştir.

Akut Miyeloid Lösemide SPINK2'nin Hücre Ölümü ve Proliferasyonu Üzerindeki Rolünün Araştırılması

Berk İleri¹; Şeyma Punar¹; Zeliha Emrence¹; Burcu Salman Yaylaz¹; Neslihan Abacı¹; Sema Sırma Ekmekci¹

¹İstanbul Üniversitesi Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

Amaç: Kazal tip serin proteaz inhibitörü II (SPINK2) Akut miyeloid lösemi (AML) hastalarında yüksek eksprese olduğu tespit edilmiştir. Fakat yüksek SPINK2 ekspresyonun fonksiyonu AML'de tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada, AML hücre hattı olan THP-1 hücrelerinde SPINK2ekspresyonu lentivirus aracılı baskılanarak hücre proliferasyonu ve hücre ölümü üzerindeki etkisi araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: THP1 hücrelerinde SPINK2 ekspresyonunun baskılanmasının hücre proliferasyonu üzerindeki etkisi MTT testi, hücre ölümü üzerindeki etkisi akan hücre ölçek cihazı, western blot, ve qRT-PCR yöntemi ile incelenmiştir.

Sonuç: SPINK2 baskılandığında 24. saat diliminde hücre canlılığında %28, 48. ve 72. saat diliminde sırasıyla %38 %40 oranında azalma olduğu belirlendi. Akan hücre ölçek cihazı ile yapılan analizlerde SPINK2 baskılanmasının hücre canlılığında 24. saat diliminde %27 ,48. saat diliminde ise hücre canlılığı %39 oranında azalma tespit edildi. Pro/aktif-kaspaz3 antikoruna ile yapılan western blot analizleri sonucunda hem SPINK2 baskılanmış hücrelerde hem de kontrol hücrelerinde prokaspaz-3 proteini tespit edilmesine rağmen aktif kaspaz-3 görülmedi. Çalışmamız devam ederken SPINK2'nin ferroptoz ile ilişkili olabileceğine dair bir çalışma yayınlandığından SPINK2'nin baskılanmasının ferroptoz üzerine etkisini araştırıldı. SPINK2 baskılanan hücrelerde STEAP3 ekspresyonunda %90 oranında azalma saptanırken SLC7A11 gen ekspresyonunda değişim tespit edilmedi.

Tartışma: Bu çalışmada THP-1 hücrelerinde SPINK2'nin baskılanmasının hücre ölümü ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar SPINK2 baskılanmasına bağlı hücre ölümünün kaspazlardan bağımsız şekilde gerçekleştiğini ve ferroptoz ile ilişkisi olmadığını yönündedir. Çalışmamızın sonucu daha önce yapılan çalışma ile uyumlu olmaması, THP1 hücrelerinin TP53 mutasyonuna sahip olması ve STEAP3'ün p53 aracılı olarak ferroptozu neden olmasına bağlı olabilir. AML'de en sık görülen TP53 mutasyonları kötü prognozla ve tedaviye direnç ile ilişkilidir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada TP53-/- delesyonuna sahip hücre soyunda SPINK2 ekspresyonunun baskılanmasının hücre ölümüne neden olduğunu ve TP53 mutasyonu taşıyan AML hastalarının tedavisinde SPINK2'nin hedef molekül olarak kullanabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: 3.Nesil Lentivirüs, Akut Miyeloid Lösemi, SPINK2 Ekspresyonu, Ferroptoz

Endokrin Bozucu Kimyasalların Neden Olduğu Oksidatif Stresin Detoksifikasyon Organları ve Hastalık Patogenezi Üzerindeki Etkisi

Duygu Aydemir¹; Müfide Aydoğan-Ahbap³; Nurhayat Barlas²; Nuriye Nuray Ulu¹

¹Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

³Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Amaç: Endokrin bozucu kimyasallar (EDCs), kozmetikler, yiyecek ve içecek ambalajları, ilaçlar, oyuncaklar, ev eşyaları, tıbbi cihazlar, pestisitler, kişisel bakım ürünleri ve boyalar dahil olmak üzere endüstriyel ürünlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Fitalatlar insanlarda ve yaban hayatında, diyabet, obezite, kısırlık, kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom ve kanser gibi çeşitli hastalıkların patogeneziyle ilişkili endokrin bozucu etkiler gösterir. Bu çalışmada DHP ve DCHP'ye in utero maruziyetin sıçanların karaciğer metabolizmasıyla ilişkili olarak etkisini araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Hamile albino Sprague Dawley sıçanları sırasıyla sadece taşıyıcı olarak mısır yağı uygulanan kontrol grupları ve mısır yağında hazırlanan di-n-heksil fitalat (DHP) ve disikloheksil fitalat (DCHP) uygulanmış gruplar olarak sırasıyla ayrıldı (n=10). DHP ve DCHP uygulamaları GD 6'dan GD 19'a kadar mısır yağı içerisinde hazırlanan 0 (mısır yağı=araç), 20, 100 ve 500 mg/kg canlı ağırlık/gün dozajlarında gavaj yoluyla gerçekleştirildi. Doğumdan sonra erkek ve dişi sıçanlar 90. güne kadar büyütüldü ve sakrifiye edildi. Hayvan ağırlığı, hematolojik ve serum biyokimya biyobelirteçleri ölçüldü.

Sonuç: Göreceli ve mutlak karaciğer ağırlıklarının, trigliserit, alanin transaminaz (ALT), laktat dehidrojenaz (LDH) ve alkalın fosfataz (ALP) seviyelerinin DCHP ve DHP uygulaması üzerine değiştiği gözlemlendi. DHP ve DCHP doz gruplarının karaciğer örneklerinde tıkanıklık, sinüzoidal dilatasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, piknotik çekirdekli hücreler, hepatosit lizisi ve hepatik parankim dejenerasyonu gibi histopatolojik değişiklikler gözlemlenmiştir. Ayrıca, DHP ve DCHP ile tedavi edilen sıçanların karaciğer örneklerinde bozulan oksidatif stres metabolizmasını işaret eden artan glutatyon s-transferaz (GST), glukoz 6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) ve glutatyon redüktaz (GR) aktiviteleri bulunmuştur.

Tartışma: Literatürde ilk kez, erkek ve dişi sıçanlarda in-utero DHP ve DCHP uygulamasının, oksidatif stres metabolizmasının bozulmasından kaynaklı karaciğer hasarına yol açtığını gösterdik.

Amiloid Beta 1-42'nin Mitokondrial DNA'da Kodlanan Genlerin Ekspresyonu Üzerine Etkisi

Bilge Nur Bilge¹; Zuhale Yurttaş¹; Büşra Şengül Yediel¹; Tugay Çamoğlu¹; Sümeyra İldız¹; Nazlıcan İlhan²; Erdinç Dursun¹; Duygu Gezen Ak¹

¹İstanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Alzheimer hastalığında (AH) mitokondriyal fonksiyon bozuklukları erken ortaya çıkan özelliklerden biridir. AH patolojisinin major peptidi amiloid beta 1-42 (A β 1-42)'nin mitokondride lokalizasyonu gösterilmiştir. Ancak A β 1-42'nin mitokondrideki görevleri hakkındaki bilgilerimiz oldukça sınırlıdır. AH'deki mitokondriyal bozukluklar, mitokondriyal DNA (mtDNA)'dan kodlanan genlerin ekspresyon değişimlerini de içerebilir. AH hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla mitokondriyal gen ekspresyonunda farklılıklar olduğu bildirilmiştir. Öte yandan A β fragmanlarının nükleusta lokalizasyonu, nüklear DNA'dan kodlanan bazı genlerin promotor bölgelerine bağlanıp gen ekspresyonunu değiştirebildiği önceki çalışmalarımızdan ve literatürden elde ettiğimiz bilgilerle kanıtlanmıştır. Nüklear DNA'dan kodlanan genlerin ekspresyonlarını etkileyebilen A β 'nin mtDNA ekspresyonunu da etkileme olasılığı bulunmaktadır. Bu çalışmada farklı dozlardaki A β 1-42 peptidinin mtDNA'da kodlanan genlerin ekspresyonu üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: HEK 293T hücrelerine 0,1 μ M ve 1 μ M A β 1-42 uygulaması yapıldı. Uygulamanın 24. ve 48. saatlerinde RNA izolasyonları gerçekleştirildi. mtDNA'da kodlanan 13 solunum kompleksi geni, 2 mitokondriyal rRNA ve 3 mitokondriyal tRNA genlerinin ekspresyonu cDNA sentezi ardından qRT-PCR yapılarak araştırıldı. Sonuçların istatistiksel analizi GraphPad Prism 8 kullanılarak tek-yönlü ANOVA testi ile yapıldı.

Sonuçlar: 24 saat boyunca 0,1 μ M A β 1-42 uygulanan hücrelerde MTND3, MTND4, MTND4L, MTND5, MTATP6 gen ekspresyon seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı saptanmıştır. 48 saat 0,1 μ M A β 1-42 uygulanan grupta MTCO2 gen ekspresyon seviyesi, 1 μ M A β 1-42 uygulanan grupta ise MTND4L ve MTATP8 gen ekspresyon seviyeleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır.

Tartışma: A β 1-42 uygulamasıyla bazı mitokondriyal genlerin ekspresyon seviyelerinde meydana gelen azalma bize bu peptidin mtDNA transkripsiyonunun düzenlemesine katıldığını düşündürmektedir. AH'nin patolojik bileşenlerinden biri olan A β 1-42'nin mtDNA'dan kodlanan genlerin ekspresyonuna direkt veya indirekt olarak katılabileceğini gösteren bu verilerimiz AH hastalarındaki mtDNA gen ekspresyon değişikliklerini ve bu peptidin mitokondrideki görevlerini anlamamızın da yolunu açacaktır.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir. (Proje no: 219Z179)

Anahtar kelimeler: Alzheimer hastalığı, amiloid beta 1-42, mitokondri, mitokondrial DNA.

LZTR1 ve NUAK2 Proteinlerinin Etkileşimi ve Mitokondriyal Apoptoz Yolağı Üzerindeki Etkileri

Soner KARABULUT¹; Gökhan YILDIZ²

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye

²Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye

Amaç: Leucine Zipper Like Post Translational Regulator 1'in (LZTR1) glioblastoma multiforme (GBM) ve hepatoselüler karsinom (HCC) kanserlerinde tümör baskılayıcı rolü olduğu, NUAK Family Kinase 2'nin (NUAK2) ise onkogen işlevi gösterdiği bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı, LZTR1 ile NUAK2'nin birbirleriyle ilişkilerinin ve mitokondriyal apoptoz yolağının uyarıldığı hücrelerdeki etkilerinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Bu doğrultuda ilk olarak, Flag etiketli LZTR1 ve Myc etiketli NUAK2 ekspresyon plazmidleri ve Flag etiketli LZTR1'i kalıcı olarak ifade eden insan embriyonik böbrek 293 (HEK293) hücreleri hazırlandı. LZTR1 ile NUAK2'nin etkileşimleri immunopresipitasyon (IP) yöntemiyle, hücre içindeki lokalizasyonları immünofloresan (IF) boyama yöntemiyle incelendi. Apoptoz, hücreleri 0,4 mM hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 10 saat muamele ederek tetiklendi. Geçici olarak NUAK2 ekspresyon plazmidini transfekte edilmeyen/edilen ve H₂O₂ uygulanmayan/uygulanan parental HEK293 hücrelerinde ve stabil LZTR1 klonlarında apoptoz sürecinde rol oynadıkları bilinen BCL-2, BAX, p53, fosforillenen (p)-p53-Ser15, p-p53-Ser46, Survivin, Kaspaz 3, aktif Kaspaz 3, PARP1 ve aktif PARP1 proteinlerinin düzeyleri özgül primer antikorlar kullanılarak Western blotlama (WB) yöntemiyle incelendi.

Sonuçlar: IP deneyleri, LZTR1 ve NUAK2 proteinlerinin birbirleriyle etkileştiğini gösterdi. IF analizleri, tek başlarına LZTR1'in daha çok sitoplazmada, NUAK2'nin daha çok çekirdekte bulunduğunu ama LZTR1 varlığının NUAK2'nin lokalizasyonunun değişip sitoplazmada bulunmasına yol açtığını ortaya koydu. WB deneyleriyle, H₂O₂ muamelesi neticesinde aktif PARP1 protein düzeyinin arttığı, apoptozun LZTR1 protein seviyesinin azalmasına neden olduğu ve LZTR1'in apoptotik hücrelerde NUAK2'nin azalmasına da yol açtığı, LZTR1'in ve NUAK2'nin birlikte ifadesinin p-p53-Ser15 düzeyinin artmasına yol açarken LZTR1 ve NUAK2 aşırı ifade eden hücrelerde apoptoz tetiklendiğinde Survivin düzeyinin azalıp p-p53-Ser46 miktarının arttığı belirlendi.

Tartışma: Bu çalışmayla, LZTR1 ile NUAK2 proteinlerinin birbirleriyle etkileştikleri, LZTR1'in NUAK2'nin hücre içindeki lokalizasyonunu değiştirdiği ve LZTR1 ile NUAK2'nin H₂O₂ ile uyarılan apoptoz üzerindeki etkileri ilk kez gösterildi. Bu bulguların LZTR1'in ve NUAK2'nin fonksiyonlarının ve ilişkilendirildikleri hastalıklardaki işlevlerinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacağı değerlendirilmektedir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Alfa Sinüklein Proteininin Mitokondriyal DNA ile Etkileşiminin Araştırılması

Zuhal Yurttaş¹; Tugay Çamoğlu¹; Erdinç Dursun¹; Duygu Gezen Ak¹

¹İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Nörodejeneratif hastalıkların ortak mekanizmalarından biri olan mitokondriyal fonksiyon bozuklukları Parkinson Hastalığında (PH) klinik semptomlardan önce ortaya çıkan erken bulgular arasında gösterilmektedir. PH patolojisine katılan alfa sinükleinin (α -syn) mitokondride lokalizasyonu gösterilmiş ve mitokondri biyogenezinde rol oynadığı bildirilmiştir. Parkinson hastalarına ait substantia nigra dokularında, mitokondriyal DNA (mtDNA)'da kodlanan genlerin ekspresyonlarının kontrol grubuna göre değiştiği gösterilmiştir. Aynı zamanda grubumuzun önceki çalışmalarında PH hastalarının lökositlerinde mtDNA gen ekspresyonlarında değişiklikler saptanmıştır. Bir amiloidojenik protein olan α -syn'nin bir transkripsiyon faktörü gibi davranıp nükleer DNA'ya bağlandığı ve birçok genin ekspresyonunu etkilediği bilinmektedir. Aynı zamanda α -syn nükleer transkripsiyon faktörleriyle birlikte çalışabilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda α -syn proteininin mtDNA ile etkileşimi ve SNCA geninin aşırı ekspresyonu sonucu mitokondriyal transkripsiyon faktörü A (TFAM)'nın mtDNA bağlanma kapasitesine etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda nörona farklılaştırılmış LUHMES hücreleri kullanılmıştır. Fizyolojik koşullarda ve SNCA geninin aşırı ekspresyonu gerçekleştirilmiş hücrelerde α -syn ve TFAM antikoru ile mitokondriyal kromatin-immunopresipitasyon deneyi gerçekleştirilmiştir. Saflaştırılan DNA fragmentleri mitokondriyal genomu kapsayan primer çiftleri kullanılarak qPCR yöntemiyle analiz edilmiştir. Sonuçlar negatif kontrole göre kat artışı olarak ifade edilmiştir.

Sonuç: Sonuçlarımız SNCA geni aşırı ekspresyonu yapılan grupta α -syn'in mtDNA'nin spesifik bazı bölgeleri ile etkileştiğini göstermektedir. SNCA geninin aşırı ekspresyonu gerçekleştirilen grupta TFAM'ın mtDNA genomu boyunca bağlanma sinyalinde bölgeye göre spesifik artmalar ya da azalmalar göstermiştir.

Tartışma: Bulgularımıza göre nükleer genomda histon proteinleri ve bazı transkripsiyon faktörlerine etki ettiği bilenen α -syn mtDNA'dan kodlanan genlerin transkripsiyonunu etkileyebilir. Buna göre Parkinson hastalığında görülen mtDNA gen ekspresyon değişiklikleri α -syn'nin transkripsiyonu etkileme kapasitesi sayesinde gerçekleşebilir. Bu bilgiler ayrıca PH'de α -syn-mitokondri ilişkisine yeni bir bakış açısı kazandırmaktadır.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje No: 219Z179)

Anahtar kelimeler: alfa sinüklein, mitokondriyal DNA, Parkinson Hastalığı

Gliyal Tümörlerde Hepatosit Nükleer Faktör-1Alfa Geni Somatik Varyasyonları ve Sağkalım Üzerine Etkisi

Elif Nur Bozdağ^{1,2}; Neslihan Abacı¹; Mustafa Aziz Hatipoğlu^{4,3}; Sema Sırma Ekmekci¹

¹İstanbul Üniversitesi Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

³Bezmialem Vakıf Üniversitesi-Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

Amaç: Hepatosit nükleer faktör-1alfa (HNF1A) geni transkripsiyon faktörü olarak özellikle karaciğere özgü genlerin anlatımı için önemlidir. Farklı kanser türlerinde HNF1A geni ekspresyonu ve varyasyonları analiz edilmesine rağmen gliyal tümörlerde ilişkisi net olarak ortaya konmamıştır. Çalışmamızda düşük ve yüksek evreli gliyal tümürlü hastalarda HNF1A geni somatik varyasyonlarının araştırılması ve sağkalım üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

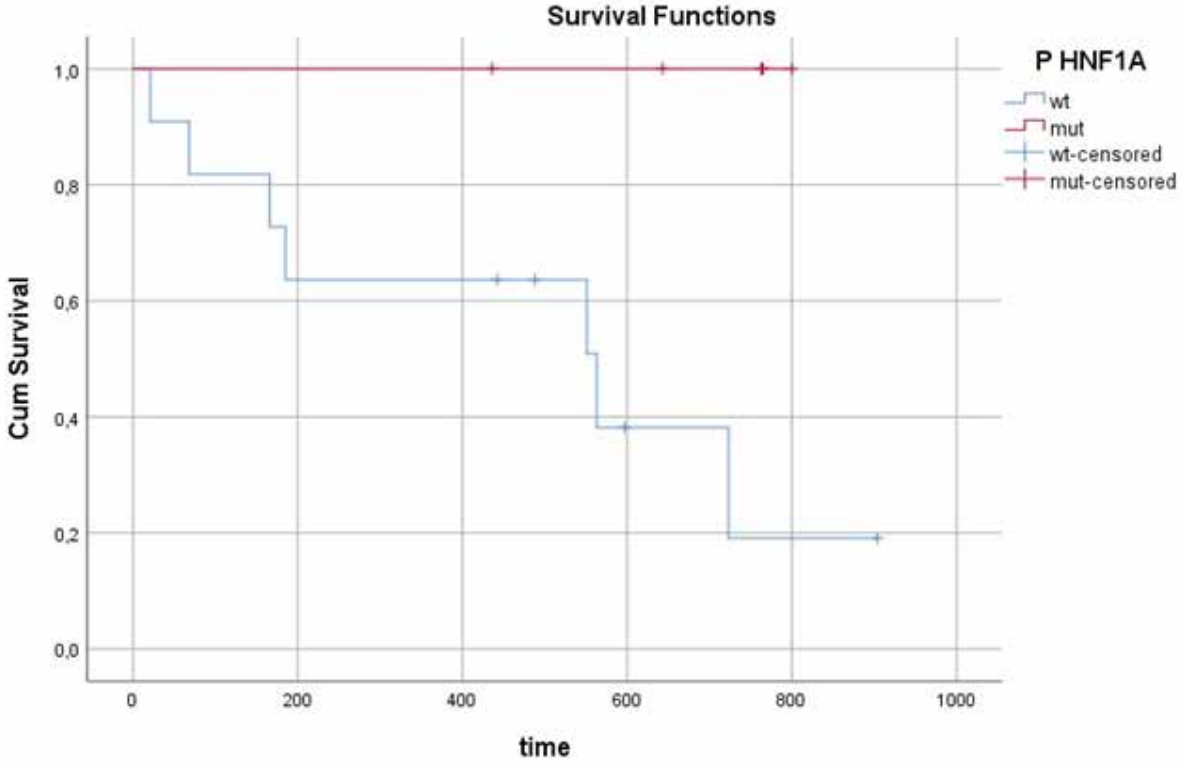
Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda solid tümörlerde sık mutasyona uğrayan HNF1A geninin 3 ve 4. ekzonu yeni nesil dizileme ile analiz edilmiştir. Dört düşük evre ve 12 yüksek evreli gliyal tümörde DNA izolasyonu sonrası kütüphane hazırlığı yapılarak yeni nesil dizileme yapıldı. Archer analiz programı ile ortaya çıkan tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ve delesyon-duplikasyon (Indel) sonuçları MyCancer Genome, cBioportal, Clinvar ve COSMIC gibi kanser araştırma platformlarında analiz edilerek, klinik önemi belirlendi. Kaplan Meier yöntemi hastaların sağkalım analizleri yapıldı.

Sonuç: Monogenik diyabet için patojenik olduğu bildirilmiş olan çerçeve kayması varyantı NM_000545.8 (HNF1A):c.864del (p.Pro291fsTer51) (rs762703502) iki düşük evreli, üç yüksek evreli gliomada saptandı. ExAC veri tabanında allel frekansı 0.00112 olarak bildirilen bu varyant gliyal tümörlerde ilk defa bildirildi. Varyasyona sahip ve yabanıl tip hastaların arasındaki sağkalım analizi sonucu anlamlı bulundu (lo-rank p=0.022).

Tartışma: HNF1A genindeki somatik varyasyonların çeşitli kanserlerle ilişkili daha önce bildirilmiş olsa da gliyal tümürlü hastalarda daha önce monogenik diyabet için patojenik olduğu bildirilmiş olan c.872del (p.Pro291fsTer51) varyantı bu çalışma ile ilk kez bildirilmiştir. Tümör dokusunda somatik varyasyonları görülen bu varyant hastaların 16 hastanın beşinde (%31) saptandı. Hasta sayısı az olmakla birlikte varyasyona sahip hastaların sağkalım oranı daha yüksek bulundu. Çalışmamız HNF1A geni somatik varyasyonlarının gliyal tümörle önemli olduğunu ve sağkalımla ilişkili olduğunu göstermekle birlikte daha fazla sayıda olgu ile yapılan çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Hepatosit nükleer faktör-1alfa, gliyal tümör, sağkalım analizi, yeni nesil dizileme.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2021-38142



Mikrosefalik Primordial Dwarfism ile İlişkilendirilen CCDC84, pre-mRNA Kırılma Faktörü PRPF3 ile Doğrudan Etkileşmektedir

Gülden BUDAK; İdris ER; Murat KASAP; Bayram TORAMAN; Ayşe Nurten AKARSU; Tuba DİNÇER; Ersan KALAY

¹Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, Türkiye

²Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli, Türkiye

³Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, Türkiye

⁴Gen Haritalama Laboratuvarı, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sıhhiye, Ankara, Türkiye

Amaç: Mikrosefalik Primordial Dwarfism (MPD) mikrosefali, boy kısalığı, doğum öncesi ve sonrası büyüme geriliği ile karakterize otozomal resesif geçişli bir hastalık grubudur. Önceki çalışmamızda otozomal resesif bir MPD ailesinde homozigotluk haritalaması, aday gen yaklaşımı ve sistematik mutasyon analizi ile fonksiyonu bilinmeyen CCDC84 (CENATAC) geninde çerçeve kaymasına ve erken sonlanma kodonuna (p. Lys269Serfs10Stop) neden olan bir kırılma bölgesi delesyonu (g.17185_17188delAAGT) tespit etmiştik. Bu çalışmanın amacı ise MPD'nin moleküler mekanizmasının anlaşılmasına katkı sağlamak üzere CCDC84'ün fonksiyonunu tanımlamaya yönelik olarak etkileştiği proteinleri belirlemektir.

Gereç ve Yöntem: CCDC84'ün etkileşim ortaklarını belirlemek için immüno-presipitasyon, immüno-presipite proteinlerin SDS-PAGE ile ayrımı ve belirlenen protein bantlarının kütle spektrometresi ile analizi yaklaşımları kullanıldı. CCDC84 ile etkileşim içerisinde olduğuna yönelik verilere ulaşılan aday proteinin doğrulanması için immünofloresan ve immüno-blot analizi yöntemleri kullanıldı. Belirlenen etkileşimin doğrudan mı yoksa dolaylı mı olduğunu, CCDC84 ile etkileşen proteinin bu etkileşimi hangi domaini üzerinden gerçekleştirdiğini belirlemek için in vitro pull-down yaklaşımı kullanıldı. Aynı zamanda, MPD ile ilişkili olarak tanımlanan CCDC84 mutasyonunun etkileşim üzerindeki etkisi de değerlendirildi.

Bulgular: Kütle spektrometresi analizi sonucunda CCDC84 ve PRPF3 arasında etkileşim olduğu görüldü. İmmünofloresan boyama her iki proteinin de çekirdekte lokalize olduğunu gösterirken, immüno-blot analizi ile etkileşim doğrulandı. In vitro pull-down yaklaşımı ile CCDC84 ve PRPF3 arasındaki etkileşimin doğrudan olduğunu ve PRPF3'ün PRP3 domainin bu etkileşime aracılık ettiği gösterildi. Hem in vivo hem de in vitro yaklaşımlar, MPD ile ilişkilendirdiğimiz CCDC84 mutasyonunun CCDC84 ile PRPF3 arasındaki etkileşimi belirgin bir şekilde bozduğu görüldü.

Sonuç: Bu çalışma, CCDC84 ile pre-mRNA kırılmasında kor protein olarak görev alan PRPF3 proteini arasında doğrudan bir etkileşim olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen sonuçlar, CCDC84'ün pre-mRNA kırılmasındaki önemini göstermekle birlikte MPD'nin moleküler temelinde pre-mRNA kırılmasının kritik öneme sahip olduğunu da göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Coiled Coil Domain Containing-84, kırılma, mikrosefali, PRPF3, Bu doktora tez çalışması verileri 114Z883 numaralı TÜBİTAK 1001 projesinden ve TDK-2017-7010 numaralı KTÜ-BAP Doktora Tez Projesinden elde edilmiştir.

İnsan Astrositi Kaynaklı α -Sinüklein Artışının, Trofik Faktör Salınımı Üzerine Etkisinin Nöron-Astrosit Sinaptik Bileşenleri ve Nörodejenerasyon Açısından İncelenmesi

Büşra Şengül-Yediel¹; Erdinç Dursun¹; Duygu Gezen-Ak¹

¹*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye*

Amaç: Astrositler düzgün bir sinaps yapısının oluşturulması için gereklidir ve astrositlerde ortaya çıkan fonksiyon bozuklukları, sinaptik bağlantıların kaybına ve nörodejenerasyona neden olur. Astrositler trofik faktörlerin en önemli kaynağıdır. Trofik faktörler nöron sağkalımı ve sinaptik bağlantıların oluşumunda oldukça önemli rollere sahiptir. Daha önceki çalışmalarımızdan elde ettiğimiz bulgular ile insan astrositlerinde α -sinüklein aşırı ekspresyonunun trofik faktörlerin üretimi ve salınmasını değiştirdiği tarafımızdan rapor edilmiştir. Her ne kadar astrositlerin nöronlara α -sinüklein aktarımı yapabildiği gösterilmiş olsa da astrositlerin α -sinükleini ilk olarak nöronlardan aldığı ve bu şekilde yaydığı ileriye sürülmüştür. Astrosit kökenli α -sinükleinin nöronlara olan olası etkilerine dair sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Sunulan çalışmada astrosit kökenli α -sinüklein artışının herhangi bir patolojiye sahip olmayan nöronları ne oranda etkilediği, nöron sağkalımı ve sinaps oluşumu için gerekli olan büyüme faktörü salınımını etkileyerek, sinaptik bağlantıların dejenerasyonunu tetikleme ve nörodejenerasyonu ilerletme potansiyeli araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: İnsan prekürsör nöral hücreler olan LUHMES hücreleri ile insan primer astrosit hücrelerini içeren bir ko-kültür sistemi oluşturulmuştur. Bu sistemde insan SNCA genini taşıyan plazmid, sadece astrositlere aktarıldı, daha sonra SNCA'yı aşırı eksprese eden bu astrositler nöronlar ile bir araya getirildi. α -sinükleinin hareketi canlı hücre görüntüleme ile takip edildi. Thrombospondin, sinaptofisin, PSD-95 gibi sinaptik proteinlerin ve NGF'nin seviyesi western blot yöntemi ile saptandı. Ham veriler GraphPad InStat DTCG 3.06 (GraphPad Software, Inc. San Diego USA) veya SPSS 24.0 yazılımı kullanılarak datanın normal dağılıp dağılmamasına ve elde edilen SD'lerin arasındaki farkın anlamlı olup olmamasına göre, önce one-way ANOVA, takibinde çoklu karşılaştırma için Tukey-Kramer Multiple Comparison testleri ile veya önce Kruskal Wallis, sonrasında çoklu karşılaştırma için Dunn's Multiple Comparison testleri ile istatistiksel olarak değerlendirildi. $p < 0,05$ istatistiksel açıdan anlamlı fark olarak kabul edildi.

Sonuçlar: Elde ettiğimiz veriler, astrosit kaynaklı α -sinükleinin LUHMES hücrelerine göç ettiği, α -sinüklein patolojisinin nöronal sitotoksisteyi arttırdığını ve NGF ekspresyon seviyesini azalttığını gösterdi. Diğer taraftan sinaps oluşumunda rol alan thrombospondin, sinaptofisin ve PSD-95 protein seviyelerini arttırdığı belirlendi.

Tartışma: α -sinüklein patolojisinin astrositlerde muhtemelen nörotrofik faktör salınımını gerçekleştirilebilmek için sinaptik vezikül oluşumunu arttırdığı; sinaptik vezikül oluşumunda rol olan α -sinükleinin bu faktörlerin salınımına eşlik ettiği ve bu yüzden de sinaps oluşumunda rol oynayan faktörlerin salınımını veya üretimini de arttırdığını düşünmemize neden olmaktadır.

Anahtar kelimeler: Astrosit, α -sinüklein, nöron, nörotrofik faktörler, sinaptik iletişim.

İnsan Baş-Boyun Kanserlerinde Hipoksi ve HIF-1 α 'nın Kemoterapi Direncine Etkisi

Fevziye Özdemir Şimşek¹; Mehtap KILIÇ EREN¹

¹Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, Türkiye

Amaç: Kurkumin (Curcuma longa L.), Asya'ya özgü Zingiberaceae bitki familyasına ait rizomdan türetilen fenolik pigmente sahip bitkisel ilaç ve diyet baharatı zerdeçalın aktif maddesidir. Moleküler özellikleri nedeniyle hücrelere hızla nüfuz eder ve plazma membranını geçerek sitozole girer. Kemopreventif, antimetastatik ve anti-anjiyogenik amaçlarla kullanılır. Kemoterapötik ilaçların antikanser potansiyelinin modülasyonunda kurkumin gibi doğal bileşiklerin rolü son yıllarda artmaktadır. Hipoksi, katı tümörlerin radyoterapi ve kemoterapiye karşı dirence yol açan ana özelliklerinden biridir. Bu çalışmada kurkuminin, hipoksik koşullarda 2A3-baş ve boyun kanseri hücrelerinde etoposid tedavisine yanıt olarak hücre döngüsünü, apoptozu ve senesensi içeren anti-kanser yanıtlarını modüle etme potansiyeline sahip olup olmadığı araştırıldı. Ek olarak hipoksik koşullar altında p53, p21, HIF-1 α ve glikolitik enzimlerin ekspresyon seviyeleri analiz edildi.

Materyal ve Metodlar: Hücre kültürü: 2A3 HPV(+) hücre hattı ATCC'den satın alınmıştır. Çalışma boyunca %88 DMEM + %10 fetal sığır serumu (FBS) +%1 Penisilin-Streptomisin ve %1 Sodyum Piruvat ile sürdürüldü. Hipoksik inkübasyon, hipoksik bir odada, 37 oC'de, %1 O₂ artı %5 CO₂ içerisinde gerçekleştirildi. Hücrelerde HIF-1 α knock-down'u 4 farklı HIF-1 α shRNA plazmit transfeksiyonu aracılığıyla sağlandı. Apoptoz, hücre döngüsü ve senesense sırasıyla Annexin V/7 AAD, BrdU/PI analizi ve SA β -gal boyama ile ölçüldü. p53, p21, HIF-1 α ve glikolitik enzimler Western Blot ile analiz edildi.

Sonuçlar : Kurkumin ve etoposid tedavisinin 2A3 hücrelerinin hücre canlılığını etkilediği gösterilmiştir. Kurkumin ve kurkumin+etoposid kombinasyonunun hücre döngüsünü proliferasyona karşı G₀/G₁ fazında durdurma etkisi göstermektedir. Kurkumin ve etoposid kombinasyonu esas olarak apoptozu indüklemektedir. Ancak 2A3 hücrelerinde senesensi tetiklememektedir. p53 ve p21 ekspresyonlarının aracılık ettiği apoptoz ve hücre döngüsünü indüklemektedir. Ek olarak Hif-1 α 'nın knock-down edilmesi ile etoposid ve kurkumin tedavisine yanıt olarak 2A3 hücrelerini apoptoza karşı duyarlı hale getirmiştir.

Tartışma: 2A3 hücreleri hem normoksik hem de hipoksik koşullarda etoposide direnç göstermektedir. Hif-1 α 'nın knock-down edilmesi sonucu, 2A3 hücrelerinde hücre döngüsü durmasını ve apoptozu artırarak hipoksik ortamda kurkuminin etkisini artırır. Bu çalışmadan elde edilecek sonuçlar, baş boyun tümörlerinde yeni tedavi hedef ve stratejilerinin belirlenmesine ve daha etkin tedavi yanıtlarının geliştirilmesine katkı sağlayabilir.



İnsan Amniyotik Membranından Elde Edilen Şartlandırılmış Besiyerinin Kanser Hücrelerinde Etkili Süresinin Araştırılması: Amniyotik Membranın Anti-Kanser Özelliğinin Belirlenmesi

Zeynep Betül SARI^{1,2}; Muhammed Emin SARI³; Emine YAVUZ²; Ayten ERTUĞRUL¹; Gökçen ÖRGÜL⁴; Tülin ÇORA¹

¹Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD, Konya, Türkiye

²Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Konya, Türkiye

³Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Bölümü, Konya, Türkiye

⁴Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Konya, Türkiye

Amaç: Son yıllarda amniyotik membrane, kansere karşı ilaç geliştirilmesinde teşvik edici bir araç haline gelmiştir. Bu sebeple, insan amniyotik membranından (hAM-KM) üretilen şartlandırılmış besiyerinin kanser hücreleri üzerindeki anti-kanser özelliğini değerlendirmeyi amaçladık.

Yöntemler: İnsan plasentaları (40 haftalık) sezaryen ile elde edildi. Amniyotik membran plasentadan manuel olarak çıkarıldı ve parçalar halinde kesildi ve steril bir fizyolojik solüsyona yerleştirildi. Daha sonra %10 FBS ve %1 PSA içeren DMEM ile inkübe edildi. İnsan amniyotik membranından (hAM-CM) türetilen koşullandırma ortamının etkinlik değerini bulmak için ortam, 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyondan sonra toplandı ve hAM-KM'nin sağlıklı (HUVEC, HEK293, BV2, L929) ve kanser hücreleri (HEp2, PANC, MDA, A549) üzerindeki etkisini belirlemek için XTT deneyi kullanıldı. Ayrıca hAM-CM ile tedavi edildikten sonra hücrelerin ışık mikroskobu ile morfolojik analizini yaptık.

Bulgular: Hücre canlılığı, hAM-KM tarafından doza ve zamana bağlı olarak önemli ölçüde değişti. hAM-KM'nin 72 saatlik inkübasyonu, kanser hücreleri üzerinde 24 ve 48 saatlik inkübasyonlardan daha etkilidir. hAM-KM'ye maruz kalan HEK293 ve L929 hücrelerinde anlamlı ancak orta derecede çoğalma görülürken (sırasıyla %110; $p < 0,05$ ve %103; $p < 0,05$); HUVEC ve BV2 hücreleri, kontrol hücrelerine (%100) kıyasla azalmış proliferasyon gösterdi (sırasıyla %70; $p < 0,0001$ ve %82; $p < 0,0001$). Bununla birlikte, PANC ve MDA hücreleri sırasıyla %60 ve %40 ile en düşük canlılığı ortaya koyarken ($p < 0,001$), HEp2 ve A549 hücreleri ise sağlıklı hücrelerle benzer proliferasyon aktivitesi gösterdi (sırasıyla %77 $p < 0,01$ ve %87 $p < 0,05$)).

Sonuç: Bu çalışma AM'nin kanser tedavisinde, özellikle de meme ve pankreas kanserleri gibi bazı kanserlerde önemini destekleyebilir. Bir sonraki planımız hAM-CM'nin anti-proliferatif aktivitelerinden sorumlu aktif bileşikleri tanımlamaktır.

Anahtar kelimeler: Amniyotik membran, kanser, kondisyon medyum, sitotoksiste, proliferasyon.

Nükleer Transkripsiyon Faktörlerinin Mitokondrideki Varlığının Gösterilmesi ve Alfa Sinüklein ile İlişkilerinin Araştırılması

Tugay Çamoğlu¹; Zuhal Yurttaş¹; Erdinç Dursun¹; Duygu Gezen Ak¹

¹*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Nörolojik Bilimler Enstitüsü, Sinir Bilim Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye*

Giriş: Transkripsiyon faktörleri (TF'ler) gen anlatımının düzenlenmesinde rol alan proteinlerdir ve bir gen anlatımı başlatılmadan önce RNA polimeraz dahil pek çok proteinin bir araya gelip DNA'ya bağlandığı kompleks oluşumuna katılırlar. Mitokondrial DNA'da (mtDNA) kodlanan genlerin ekspresyonları da kendilerine özgü transkripsiyon faktörleri ile düzenlenmektedir. Nörodejeneratif hastalıkların ortak mekanizmalarından biri de mitokondriyal işlev bozuklukları ve enerji arzındaki bozulmalardır. Parkinson hastalığının baskın bileşeni alfa-sinükleinin (aSyn), nükleer ve mtDNA'dan kodlanan birçok genin ekspresyonunu değiştirebilmektedir. Gen ekspresyonu değişiklikleri direkt DNA'ya bağlanmanın yanı sıra indirekt olarak TF'ler ile etkileşime girerek gerçekleşebilir. Genel TF'lerin bir kısmının mitokondrideki varlığı gösterilmiştir. Bu çalışmada diğer nükleer TF'lerin mitokondrideki varlığı ve aSyn'in bu TF'ler ile etkileşime girip girmediği sorusuna cevap aranmıştır.

Materyal ve metod: Çalışmada nörona farklılaştırılmış LUHMES hücreleri kullanıldı. Bu hücrelerin bir grubuna uygulama yapılmazken, diğerinde aSyn overekspresyonu gerçekleştirilip, hücrelerden mitokondri izolasyonu yapıldı. İzole mitokondriyelerden lizat elde edilerek bu lizatlar nükleer TF ile etkileşimi belirlemek için geliştirilen TF-TF etkileşimini araştıran ticari bir kit ile işlenmiştir. Kısaca, lizattan aSyn hedefleyen antikor ile immünopresipitasyon gerçekleştirilmiş ve elde edilen örnek, 48 adet farklı TF için özgün oligonükleotidler bulunduran 96 kuyulu plaka kuyularına uygulanmıştır. Etkileşime göre sinyaller florometrik ölçümler ile saptanmış ve hangi TF'nin mitokondride bulunduğu ve aSyn ile etkileşime geçtiği belirlenmiştir.

Sonuç: Yaptığımız analizlere göre pek çok nükleer TF'nin mitokondriyal lizatta bulunduğu ve bazılarının aSyn ile etkileşimde olduğu tespit edilmiştir. Bunlardan HIF, SMAD ve GATA'nın aSyn overekspresyon grubunda aSyn ile en yüksek etkileşime sahip olduğu belirlenmiştir.

Tartışma: Bu bulgulara göre pek çok nükleer TF'nin aynı zamanda mitokondride bulunabildiği literatürde ilk kez saptanmıştır. Nükleer TF'lerin mtDNA ile fizyolojik koşullardaki etkileşimi ayrı bir araştırma konusudur. Diğer yandan aSyn overekspresyonu ile mitokondride aSyn ile etkileşimi artan TF'ler patolojik koşullarda değişen mtDNA gen ekspresyonlarının sebebi olabilir.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 219Z179 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Anahtar kelimeler: alfa sinüklein, mitokondriyal DNA, transkripsiyon faktörleri

Nöroblastom Kanser Hücre ve Bronş Epitel Hücre Hatlarında Sispla Tin ve Juglonun Etkilerinin Araştırılması

Sibel Göçmen, Cihangir Doğan, Ayşen Buket Er Urgancı, Selda Şimşek
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Türkiye

Amaç: Çalışmamızın amacı sisplatin ve juglon kombinasyonunun nöroblastom ve bronşiyal epitel hücre hatlarındaki sitotoksik etkilerini araştırmak ve ADH1B, BTNL9, SDC1 genlerinin ekspresyon seviyelerini belirlemektir.

Metod: Çalışmamızda nöroblastom hücre hattı SH YS5Y ve BEAS-2B insan bronşiyal epitel hücre hatları kullanılmıştır. Hücre hatlarına juglon ve cisplatin kombine olarak uygulanmıştır. BEAS 2B ve SH YS5Y hücre hatlarına uygulanan juglon ve sisplatin etkileri CCK-8 analizi ile araştırılmıştır. Daha sonra ADH1B, BTNL9, SDC1 genlerine özgül primerler ve SYBR Green master mix ile uygun koşullarda kantitatif Real-Time PCR gerçekleştirilmiştir. Ekspresyon değişimleri $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: IC50 değerleri juglon için BEAS 2B için 72. saatte 7,43 $\mu\text{M}/\text{ml}$, SH YS5Y için 72. saatte 4,13 $\mu\text{M}/\text{ml}$ olarak, sisplatin uygulamasında BEAS 2B 72. saatte 9,6 $\mu\text{M}/\text{ml}$, SH YS5Y için 72. saatte 8,74 $\mu\text{M}/\text{ml}$ olarak hesaplanmıştır.

Ekspresyon değişimleri analizleri sonuçlarına göre BEAS 2B hücrelerine juglon uygulaması ADH1B geninde 19,97 kat artış, BTNL9'da -32,22 kat azalma, SDC1'de ise 36,76 kat artmıştır. Sisplatin uygulamasında ise ADH1B'de 38,59 kat artış görülürken BTNL9'da -165,42, SDC1'de -13,00 kat azalmalar gözlemlenmiştir. Juglon ve sisplatin kombine uygulamada ise ADH1B geninde -213,78, BTNL9'da -410,15 kat azalma gözlemlenirken SDC1'de ise 60,13 kat artmıştır.

SHSY 5Y hücrelerinde juglon uygulamasında ADH1B'de 445,75 kat artış SDC1'de -144,01 kat azalmıştır. BTNL9 geninde juglon ve sisplatin uygulamasında anlamlı bir değişim gözlemlenmezken juglon, sisplatin kombine uygulamada 4,59 kat artmıştır. Sisplatin uygulamasında ADH1B -13,64 azalma gösterirken SDC1 ise 6,92 kat azalmıştır. Juglon, sisplatin kombine uygulamada ADH1B'de -40,50 kat azalma ve SDC1'de ise 28,44 kat artmıştır.

SHSY 5Y hücrelerinde ADH1B'de sisplatin ve kombine uygulamalarda sağ kalım olasılığını yükselttiğini. BTNL9'da kontrol grubuna göre belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. SDC1'de ise kontrol gruplarına karşı bariz bir ekspresyon oranında azalma gözlemlendi.

Sonuç: Juglon, sisplatin ve kombine uygulamada Nöroblastoma hücre hattında sağ kalım, hücrelerin çoğalması, göçünü ve invazyonunu engelleyebileceğini yapılan çalışmamızda desteklemekteyiz. Bebeklik döneminde başlayan, çocuklar arasında en sık görülen ve sağ kalımın çok düşük olduğu kanser türlerinden biri olan Nöroblastoma ile ilgili literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: BEAS 2B, Cisplatin, Juglon, SH YS5Y

Oleuropein 5-FU Direnci Kazandırılmış Gastrik Kanser Hücrelerinde Normoksik ve Hipoksik Koşullarda İlaç Direncini Baskıladı

Çağla Tekin¹; Melis Erçelik¹; Seçil Ak Aksoy^{2,3}; Berrin Tunca¹

¹Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,, Bursa, Türkiye

²İnegöl Meslek Yüksekokulu, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

³Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Birimi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

Amaç: Gastrik kanser (GK), dünyada en yaygın görülen gastrointestinal sistem kanserlerinden biri olup kansere bağlı ölümlerin başında gelmektedir. Standart kemoterapi tedavisi hastalığın seyrini iyi yönde etkiliyor olsa da GK hastalarında gelişen ilaç direnci bu hastalığın tedavisini olumsuz etkilemektedir. Bu sebeple gelişen kemo-direnci kırmadaki etkili yeni terapötik yaklaşımlara ihtiyaç vardır. Mevcut çalışmada GK hücrelerinde 5-Fluorourasil (5-FU) direnci geliştirerek kemo-direncin Oleuropein (OL) ile tümör agresifliğini baskılayarak kırılması amaçlandı.

Yöntemler: AGS hücreleri artan konsantrasyonlarda 5-FU dozları (5-100 μ M) ile muamele edilerek dirençli hücre hattı (AGS-FUR) geliştirildi. Kazanılan 5-FU direncinin doğrulanması için xCELLigence cihazı ile eş zamanlı hücre proliferasyon analizi ve tümör agresifliği için koloni oluşumu analizi yapıldı. Kemo-direnç etkileşimleri için OL'ün tek başına ve 5-FU kombinasyonu ile birlikte hücre ölümüne etkisi Annexin V analizi, reaktif oksijen türleri üzerine etkisi Oksidatif Stres kiti ve tümör hücrelerinin agresifliğini baskılama üzerine etkisi normoksik ve hipoksik koşullar altında koloni oluşumu ve yara iyileşme analizi ile incelendi.

Sonuçlar: AGS-FUR hücrelerinde AGS hücrelerinde etkili olan 25 μ M (IC50) ve 100 μ M (maksimum doz) 5-FU'nun, 24-48h proliferasyonu engellemediği belirlendi ($p>0.05$). Aynı dozların AGS hücrelerinde koloni oluşumunu azaltırken ($p<0.05$), AGS-FUR hücrelerinde koloni oluşumunu baskılamadığından ($p>0.05$) ilaç direncinin başarıyla oluştuğu kanıtlandı. OL'ün AGS hücrelerindeki IC50 dozu 73.86 μ M iken AGS-FUR hücrelerinde bu doz 94.58 μ M bulundu ($p<0.05$). OL AGS hücrelerinde %66, AGS-FUR hücrelerinde %42,5 oranında apoptotik ölüme yol açtı ($p<0.05$). OL+5-FU muamelesi ise AGS hücrelerinde %63,7, AGS-FUR hücrelerinde %23,9 oranında apoptotik ölüme yol açtı ($p<0.05$). OL+5-FU AGS ve AGS-FUR hücrelerinde ROS'u baskıladı. AGS ve AGS-FUR hücrelerinde invazyonun normoksik ve hipoksik koşullarda OL ve 5-FU ile en az %70 seviyede baskılandığı belirlendi ($p<0.05$). Ayrıca muamelesiz AGS ve AGS-FUR kontrollerine göre OL+5-FU muamelesi koloni sayısını azalttı ($p<0.05$).

Tartışma: Mevcut bulgular OL'ün GK hücrelerinde kazanılmış 5-FU direncini tersine çevirebilecek, farklı fizyolojik koşullarda bu hücrelerin agresifliğini baskılayabilecek yeni terapötik yaklaşımlar geliştirmek amacıyla ileri çalışmalarda kullanılabilir bir aday olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Gastrik Kanser, Kazanılmış 5-FU Direnci, Oleuropein.

Bilim Kurulu'na Not: Bu araştırma, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyonu Birimi tarafından desteklenmiştir (HDP(İMYO)-2020/18).



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Polimikrogiri Etiyolojisinin In Silico Yöntemlerle Araştırılması

Fikret Yanar

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji, Trabzon, Türkiye

Amaç: Polimikrogiri (PMG), beynin yüzeyindeki kortikal girusların normalden daha küçük ve daha fazla sayıda olması durumunu ifade eden bir nörolojik bir durumdur. PMG' nin klinik belirtileri arasında hafif veya orta derecede zihinsel gerilik, spastik hemiparezi, kas güçsüzlüğü ve epilepsi bulunabilir. PMG tanısı manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile konur ve şu an sadece semptomlara yönelik tedavi yapılmaktadır. Literatürde PMG' nin nöronal bozukluklardan kaynaklandığı ve hücre iskeletindeki yapısal bozukluklarla ilişkilendirildiği düşünülmektedir. Hastalıkların etiyolojisinin aydınlatılmasında güncel sistem biyolojisi yaklaşımlarının kullanılması giderek yaygınlaşmaktadır ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Bu çalışma ile PMG ilişkili gen listesi üzerinden sistem biyolojisi yaklaşımları kullanılarak etiyojinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: PMG' nin etiyolojisinde yer alan genler güncel literatürdeki derlemeler, veri tabanları ve paneller aracılığıyla elde edildi. GeneSCF programı aracılığıyla Gene Ontology (GO) veri tabanına erişim sağlanarak FZA yapıldı. Elde edilen veriler içerisinden istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) ilk 20 terim listelendi. Cytoscape programı aracılığıyla, STRING veri tabanına erişim sağlanarak yüksek güven skorunda (> 0.7) PPE ağı oluşturuldu ve yolaktaki merkezi rol üstlenen proteinler Centiscape aracıyla tespit edildi. Son olarak PathVisio programında KEGG, Reactome, Wikipathways gibi popüler yolak veri tabanları kullanılarak hücre sinyal yolağı çizildi.

Sonuçlar: Derlemeler, paneller ve veri tabanları aracılığıyla PMG' nin etiyolojisinde yer alan 68 adet gen tespit edildi. FZA sonucu elde edilen ilk 20 terim içerisinde 4 ana grup tespit edildi. Bunlar: "Nörogelişim ve Sinir Sistemi", "Hücre Bölünmesi ve Döngüsü", "Hücre İskeleti" ve "Diğerleri". Cytoscape aracılığıyla yapılan PPE ağında 68 genden 46 tanesi anlamlı bir ağ oluşturdu. Bunlardan 7 tanesi ise merkezi rol oynayan hub protein olarak tespit edildi. Oluşturulan PPE ağında, "Hücre İskeleti" ve "Membran Yapısı" ile ilişkili proteinlerin grup oluşturduğu tespit edildi.

Tartışma: Literatür verileri ile tutarlı sonuçlar elde edildi ve PMG etiyolojisinde rol oynayan önemli süreçler tespit edildi. Hastalık için kritik öneme sahip proteinler tespit edilerek ilk defa PMG ilişkili hücre sinyal yolağı çizildi.

Anahtar Kelimeler: Polimikrogiri, Hücre Sinyal Yolu Analizi, Fonksiyonel Zenginleşme Analizi, Protein-Protein Etkileşim Ağı

Uyarılmış Pluripotent Kök Hücre Kökenli İnsan Duyu Nöronlarında Amyotrofik Lateral Skleroz Patogenezinin Moleküler İncelemesi

Aylin Nebol^{1,2,3}; Gizem Yörükoğlu^{3,1}; Marianne C. King⁴; Laura Ferraiuolo⁴; Mimoun Azzouz^{5,4}; Esra Çağavi^{6,1,2,3}

¹Research Institute for Health Sciences and Technologies (SABITA), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey,

²Department of Medical Biology, School of Medicine, Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

³Istanbul Medipol University, Institute of Health Sciences, Medical Biology and Genetics Graduate Program, Istanbul, Turkey

⁴Sheffield Institute for Translational Neuroscience (SITraN), University of Sheffield, Sheffield, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland

⁵Department of Neuroscience, Sheffield Institute for Translational Neuroscience (SITraN), University of Sheffield, Sheffield, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland

⁶Department of Medical Biology, International School of Medicine, Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

Amaç: Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) motor nöron dejenerasyonu ile karakterize ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır. Motor nöron mikroçevresindeki diğer hücre tiplerinin, duyu nöronları (SensN) vb, ALS patogenezi ile olası ilişkisi konusunda insan hücrelerinde çalışmalar kısıtlıdır. C9ORF72 mutasyonları ALS patolojileriyle ilişkilendirilen genetik faktörlerden biridir. Çalışmamız kapsamında, literatürde ilk kez C9ORF72 mutasyonu taşıyan ALS hasta kökenli uyarılmış pluripotent kök hücrelerden (uPKH) farklılaştırılan SensN'in moleküler ve fonksiyonel karakterizasyonu yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Sağlıklı, ALS hastası ve izojenik insan uPKH hatlarından SensN farklılaştırılması gerçekleştirildi. Kültürlerde SensN belirteçlerinin gen ve protein ekspresyonu, Fluo4-AM ile Ca²⁺ görüntüleme ve farmakolojik stimülasyon ile moleküler ve fonksiyonel düzeyde karakterizasyonu yapıldı. ER-stres ve mitokondriyal fonksiyonla ilişkili gen ifadeleri, DNA hasarına oluşan cevap, TDP43 protein mislokasyonu ve oksidatif stres parametreleri, sağlıklı ve ALS-hasta kökenli SensN kültürlerinde qRT-PCR analizleri, immün boyama ve CellROX analizleri ile incelendi.

Sonuçlar: UPKH kökenli farklılaştırılan SensN kültürlerinde gen ve protein düzeyinde genel ve duysal nörona özgü belirteç Tuj1, PRPH ve VGlut2 protein ekspresyonu tespit edildi. Fonksiyonel karakterizasyon amaçlı yapılan Ca²⁺ görüntülemelerinde SensN kültürlerindeki farklı uyarılara bütün gruplarda benzer farmakolojik tepkiler gözlemlendi. Gen ekspresyonu analizi, sağlıklı kontrollere kıyasla ALS-SensN'lerde ER stresle ilişkili CHOP1 ve XBP1 genlerinin mRNA seviyelerinin önemli ölçüde arttığını ve mitokondriyal ATP5A1 ve SIRT3 genlerinin ekspresyonunun azaldığını ortaya koydu. Ayrıca, nükleer TDP43 proteininin immün boyama sonuçları, ALS-SensN'de TDP43 proteininin yoğunlukla sitoplazmaya mislokale olduğu gösterdi. Buna paralel olarak, sağlıklı ve izojenik kontrollerle karşılaştırıldığında ALS-SensN'de DNA hasarıyla ilişkili p-ATM proteini ve oksidatif stres belirteçlerinin seviyelerinde önemli bir artış tespit edildi.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi

Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Tartışma: Bulgularımız, C9ORF72 mutasyonu taşıyan insan SensN kültürlerinde ALS ile ilişkili önde gelen hücresel patolojileri ortaya çıkardı. Çalışmamız, ALS patogenezinde SensN'ların olası katkısına ilişkin ilk insan hücreleri kaynaklı in vitro kanıtını sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS), C9ORF72, duyu nöronları, konfokal görüntüleme, uyarılmış pluripotent kök hücre (uPKH).

Bilim Kurulu'na Not: Bu çalışma TÜBİTAK aracılığıyla 1071 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projeleri Destekleme Programı kapsamında 119N126 proje no ile ve İstanbul Medipol Üniversitesi BAP Komisyonu tarafından 2023/17 proje no ile desteklenmiştir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Medüller Tiroid Kanserine Karşı Melatoninin Terapötik Hedeflerinin ve Moleküler Yollarının Taranması: Biyoinformatik Bir Çalışma

Emel Akbaba¹

¹Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kırıkkale, Türkiye

Amaç: Melatonin epifiz bezi tarafından sentezlenen ve salgılanan bir nöroendokrindir. Melatonin çeşitli biyolojik fonksiyonları düzenler. Deneysel ve klinik çalışmalardan melatoninin kanseri önlemek ve tedavi etmek için kullanılabileceğini gösteren önemli kanıtlar elde edilmiştir. Melatonin, apoptotik, antianjiyojenik, antiproliferatif ve metastaz önleyici yollar yoluyla kansere karşı bir dizi yararlı etki sergiler. Sınırlı sayıda çalışma melatoninin tiroid kanserine faydalı etkilerini bildirmiştir. Ayrıca melatoninin medüller tiroid kanseri (MTC) üzerindeki etkilerine ilişkin herhangi bir çalışma bildirilmemiştir. Bu çalışmada MTC tedavisinde melatoninin moleküler hedeflerinin biyoinformatik araçlarla kapsamlı olarak taranması amaçlandı.

Yöntemler: Melatoninin hedef proteinlerini belirlemek için Drugbank, Superpred, Genecards ve Swiss Target Prediction veritabanları kullanıldı. Eş zamanlı olarak MTC ile ilgili hedef genler Genecards ve DisGeNET veritabanlarından toplandı. Melatonin ve MTC'nin kesişen protein hedefleri belirlendi. Fonksiyonla ilgili hedeften hedefe protein ağı, STRING veritabanı kullanılarak geliştirildi. Hub genleri Cytoscape yazılımı kullanılarak belirlendi. Gen ontolojisi (GO) ve Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi (KEGG) analizleri ShinyGO veritabanı kullanılarak yapıldı.

Bulgular: Veritabanlarından 959 melatonin ve 2114 MTC hedefi elde edilirken, bunların 359'u etkileşimi paylaştı. TP53, STAT3, AKT1 ve JUN hub genleri olarak belirlendi. GO ve KEGG zenginleştirme analizleri, MTC'ye karşı melatoninin içeren birden fazla sinyal yolu sergiledi. Hub genlerinin kanser yollarıyla ve endojen uyarılara verilen yanıtla oldukça ilişkili olduğu bulundu.

Sonuç: Melatonin muhtemelen apoptozun yanı sıra HIF-1, cAMP, MAPK ve PI3K-AKT sinyal yollarını da hub genleri aracılığıyla düzenliyor olabilir. Tüm biyoinformatik ve ağ farmakoloji bulguları göz önüne alındığında melatonin, MTC'nin tedavisinde güçlü bir ajan olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyoinformatik, medüller tiroid kanseri, melatonin, ağ farmakolojisi, hedef tahmini.



Duyusal Sinir İnervasyonlarının Sağlıklı ve Miyokard İnfarktüsü Sonrası Tüm Kalp Boyutunda Haritalanması

Behnaz Karadoğan^{1,2}; Sevilay Şahoğlu Göktaş^{4,1,3}; Yusuf Enes Kazıcı^{1,4,5}; Mehmet Şerif Aydın¹; Gürkan Öztürk^{1,6,7}; Esra Çağavı^{1,3,5,8}

¹Istanbul Medipol University, Research Institute for Health Sciences and Technologies (SABITA), İstanbul, Türkiye

²Istanbul Medipol University, Vocational School of Health Services, İstanbul, Türkiye

³Istanbul Medipol University, Department of Medical Biology, School of Medicine, İstanbul, Türkiye

⁴Istanbul Medipol University, Neuroscience Program, Institute of Health Sciences, Medical Biology and Genetics Graduate Program, İstanbul, Türkiye

⁵Istanbul Medipol University, Department of Medical Biology, International School of Medicine, İstanbul, Türkiye

⁶Istanbul Medipol University, Institute of Health Sciences, Neuroscience Program, İstanbul, Türkiye

⁷Istanbul Medipol University, Physiology Department, International School of Medicine, İstanbul, Türkiye

⁸Istanbul Medipol University, Medical Biology and Genetics Graduate Program, Institute of Health Sciences, İstanbul, Türkiye

Amaç: Kalp fonksiyonu kalbi innerve eden otonom sinir ağı tarafından düzenlenmektedir. Sempatik ve parasempatik sinirlerin kalple etkileşimleri araştırılmış olmasına rağmen, kalpte duyu sinir ağı ve işlevi hala büyük ölçüde bilinmemektedir. Literatürde kardiyak innervasyonda yapısal ve işlevsel anormalliklerin kardiyak patolojilere neden olabileceği öne sürülmüştür. Bu nedenle sağlıklı durumda ve iskemik hasar sonrası duyu sinir ağının tüm kalp boyutunda hem moleküler hem de işlevsel açıdan anlaşılması son derece kritik öneme sahiptir.

Gereç ve Yöntem: Kalbe inerve eden afferent (duyu sinir) sinir ağını bütüncül haritalamak amacıyla, Vglut2 ifade eden afferent lifleri Vglut2-Cre::tdTomato çift transgenik soyları oluşturularak immünboyama sonrası görüntülendi. İskemik hasar sonrası kardiyak inervasyonlar miyokardiyal infarktüs (MI) modeli oluşturularak ve SHAM kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak incelendi. Fare kalpleri sağlıklı, akut ve kronik MI sonrası disekte edildi, tdTomato sinyalini güçlendirmek amacıyla anti-RFP antikoru ile immün boyama yapıldı. Afferent sinir ağı ve sinir ucu morfolojileri, 3D tüm kalp boyutunda LSM880 konfokal mikroskopunda görüntülendi. Sinir çapı analizi, Neutube 1.0 programı kullanılarak gerçekleştirildi.

Sonuçlar: Vglut2 ifadesi ile tüm kalpte belirlenen kardiyak duyu sinir lifleri intrakardiyak gangliyonlar, atriumlar ve ventriküllerde hem dorsal hem de ventral yüzlerde haritalandı. Sinir çapı analizi sonucunda kalbin dorsal yüzünde ventral yüzünde kıyasla istatistiksel anlamlı derecede daha yoğun ve büyük çaplı akson lifleri tespit edildi. Kardiyak afferentlerin yüksek çözünürlüklü haritalanması sonucunda atrium ve ventrikülde çiçek-benzeri ve dallanma tipi sinir ucu sonlanmaları ve özellikle ventrikülde kas içi sonlanmalar gözlemlendi. MI sonrası kalplerin değerlendirilmesi sonucu infarkt bölgesinde denervasyon ve border zone'da hiperinnervasyon ile hasar sınırında sinir sürgünleri belirlendi.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Tartışma: Çalışmamız kapsamında, kardiyak duyu nöron innervasyonunun tüm kalp düzeyinde bütüncül 3D haritalaması literatürde ilk kez yapılarak nörokardiyak etkileşimler hakkında önemli bilgiler edinilmiştir. Bulgularımız, MI sonrası duyu innervasyonda meydana gelen anormalliklerin, kardiyak işlev bozukluğuna katkıda bulunabileceğini düşündürmekte, gelecekte fonksiyonel çalışmalara ışık tutmaktadır.

Anahtar kelimeler: Duyu nöronu, Kalp innervasyonu, Kardiyak afferent, Miyokardiyal infarktüs, Tüm organ görüntüleme

***Bilim Kuruluna Not:** Bu araştırma, TÜBİTAK tarafından 1001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projeleri Destekleme Programı kapsamında desteklenmiştir. Proje no: 219S332



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



İskelet Kasında Gözlenen Sekonder Mitokondri Hasarı ile İlişkili Mir-409-3p'nin Hedef Genlerinin Araştırılması

Eray Taha Kumtepe*, Evrim Aksu-Mengeş*, Burcu Balcı-Hayta
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
* Eş katkılı yazar

Amaç: Klinik, genetik ve patolojik temelleri birbirinden farklı olan birçok nöromusküler hastalıkta ortak bulgu olarak, mitokondrielerde işlev ve morfoloji kaybı gözlenmektedir. İskelet kasında ortaya çıkan bu sekonder organel hasarının, kas dejenerasyonunun erken safhalarında işlevi olduğunu kanıtlayan araştırmalar olmakla birlikte, mikroRNA'ların (miRNA) bu yolakta potansiyel işlevleri olduğu bilinmektedir. Grubumuz tarafından gerçekleştirilmiş çalışmalarda farklı genetik temelleri olan nadir nöromusküler hastalıklarda (Duchenne, Megakoniyal Konjenital, Ullrich Konjenital Musküler Distrofileri ve alfa-distroglikanopati) iskelet kasında sekonder olarak gözlenen mitokondri hasarı ile ilişkili mikroRNA profili belirlenmiştir. Biyoinformatik analizler sonucunda tanımladığımız 17 miRNA'dan 10 tanesinin hedef genlerinin mitokondriyal yollarla ilişkili olduğu saptanmış ve birden fazla mitokondriyal yolla ilişkili olduğu bulunan 6 adet miRNA öncelikli adaylar olarak belirlenmiştir. Hücre temelli işlevsel analizlerimizde, bu miRNA'lar arasından miR-409-3p'nin iskelet kas hücrelerinde arttırılmış ifadesinin, hücrelerde hem ATP sentezini azalttığı hem de organel morfolojisini bozduğu saptanmıştır. Bu miRNA'nın hangi hedef gen/ler üzerinden mitokondri hasarına sebep olduğunun saptanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: miR-409-3p'nin potansiyel hedef genlerinin tespit edebilmesi amacı ile biyoinformatik hedef gen tahmin araçları (miRWalk, mirDB, TargetScan vb.) kullanıldı. Bu miRNA'nın bağlanma potansiyelinin olduğu tüm hedef genler, Human MitoCarta3.0 listesindeki mitokondriyal genler ile karşılaştırılarak potansiyel mitokondriyal hedef gen listesi oluşturuldu. GENEONTOLOGY-PANTHER veri tabanı yardımıyla miR-409-3p için belirlenmiş olan potansiyel hedef genlere yolak analizi yapıldı ve aday genler seçildi. Hücre temelli işlevsel analizlerle miR-409-3p ifade artışının seçilen öncelikli hedef genin ifadesi üzerindeki etkileri RNA ve protein düzeyinde araştırıldı.

Sonuçlar: Çalışmamız sonucunda, miR-409-3p için mitokondri işlevi ile ilişkili tüm potansiyel hedef genler tanımlanmış ve C2C12 fare miyoblast hücrelerinde arttırılmış miR-409-3p ifadesinin bu genler arasından öncelikli adayımız olan Mitofusin-1 (MFN1)'in ifade seviyesini azalttığı sonucuna varılmıştır.

Tartışma: miR-409-3p ve/veya hedef genleri, nadir nöromusküler hastalıkların patogenezinde ortak ve sekonder bir bulgu olarak iskelet kasında gözlenen mitokondri hasarının önlenmesi ya da geriye döndürülmesi amacıyla kullanılabilecek tedavi hedefleri olma potansiyeline sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Hedef gen, mikroRNA, mitokondri hasarı, nöromusküler hastalıklar.

Bilim Kurulu'na Not: Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmektedir (Proje No: TSA-2017-14413).

Prostat Kanseri Transmisyon Elektron Mikroskobu İle Eksozom Karakterizasyonu

Emine Yagci¹; Cansu Ozbayer¹; Ata Ozen²; Hulyam Kurt³

¹Kutahya Health Science University, Medical Faculty, Department of Medical Biology, Kutahya, Türkiye

²Eskisehir Osmangazi University, Medical Faculty, Department of Urology, Eskisehir, Türkiye

³Eskisehir Osmangazi University, Medical Faculty, Department of Medical Biology, Eskisehir, Türkiye

Amaç: Prostat kanseri, özellikle yaşlı erkekleri etkileyen, erkeklerde en sık görülen ikinci kanserdir. Prostat kanseri insidansı neredeyse tüm ülkelerde sürekli artmaktadır, ancak yüksek morbiditesine rağmen etiyojisi tam olarak bilinmemektedir. Prostat kanserinin tanısında prostat spesifik antijen seviyeleri kullanılır. Ancak, PSA seviyelerindeki artış kansere özgü değildir ve benign prostat hiperplazili (BPH) hastalarda da görülebilir. Bu nedenle prostat kanserinde teşhis için daha spesifik biyobelirteçlerin tanımlanmasına ihtiyaç vardır. Eksozomlar, boyutları 20-100 nm arasında değişiklik gösteren ekstrasellüler veziküllerin en küçük üyesidir. Eksozomları ilgi çekici kılan özellikleri taşıdıkları kargo içeriği ve köken aldıkları hücrelere göre boyut, şekil ve yapı açısından farklılık göstermeleridir. Bizim çalışmamızda da hasta ve kontrol bireyler arasında eksozomların boyut ve şekil açısından farklılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Metod: Çalışmamızda; 75 hasta (25 BPH, 25 Lokalize prostat kanseri hastası (LPCa) ve 25 Metastatik prostat kanserli hasta (MPCa)) ve 21 kontrol bireyden alınan plazma örneklerinden eksozom izole edilmiştir. Eksozomların boyut ve şekil açısından değerlendirilmesi için transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile karakterizasyonu yapılmıştır ve İmage J programı kullanılarak eksozom boyutları ölçülmüştür.

Bulgular: Çalışmamız sonucunda, özellikle kontrol grubu ve hastalık grupları arasında eksozomların şekilleri arasında farklılık gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda eksozom şekilleri daha dairesel ve düzgünken BPH grubu da dahil olmak üzere kanser gruplarında da eksozom şeklinin bozulduğu daha oval hatta sivri uçlu bir görünüm kazandığı belirlenmiştir. Çalışmamızda eksozom boyutları kontrol grubunda 21,36-98,94 nm aralığında iken, BPH grubunda 22,35-104,07 nm, LPCa grubunda 42,94-137,28 nm ve MPCa grubunda ise 38,11-124,33 nm aralığındadır.

Sonuç: Bu sonuçlar özellikle kanserli grupta kontrol ve BPH grubuna göre eksozom boyutlarının önemli ölçüde arttığını göstermektedir. Kontrol grubu ile kanserli gruplar (LPCa, MPCa) arasında eksozom boyutu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenirken ($p < 0.005$), kontrol grubu ile BPH grubu arasında önemli bir fark belirlenmemiştir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Tümör İçi Heterojeniteye Bağlı Anöploidi, Kanserde Tedavi Direncini Belirler

Öykü Gönül Geyik^{1,2,3}; Claudia Galofre⁴; Dara Wangsa²; Daniela Hirsch²; Jordi Camps^{4,5}; Thomas Ried²; Zeynep Yüce³

¹Tıbbi Biyoloji AD, Tıp Fakültesi, İstinye Üniversitesi İstanbul, Türkiye

²Center for Cancer Research (CCR), National Cancer Institute (NCI), National Institutes of Health (NIH), Bethesda, MD, United States of America

³Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Tıp Fakültesi, Dokuz Eylül Üniversitesi İzmir, Türkiye

⁴Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

⁵Unitat de Biologia Cel·lular i Genètica Mèdica, Facultat de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

Kanserin iki özelliğinden olan anöploidi ve kromozomal instabilitenin (CIN) etki mekanizması ve progresyonu bugün itibarıyla tam olarak anlaşılamamıştır. İntratümöral heterojenite (ITH), tümör hücrelerinin sürekli değişen koşullar altında kendi mikro ortamlarında hayatta kalmak için rekabet ettiği, çeşitli mutasyonlar ve/veya epigenetik değişikliklerle daha agresif alt popülasyonlara yol açtığı bir olgudur. Kanser hücrelerinde, tam genom duplikasyonu (WGD), ITH'yi artırır ve hücre migrasyonunda artış ile ilişkilidir.

WGD'nin kanser ilerlemesindeki rolünü incelemek amacıyla gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada, WGD geçiren 4N klonların, 2N muadillerine rekabet üstünlüğü sağlamalarını ve çeşitli kanser ilaçlarına karşı direnç oluşturmalarını sağlayan bir fenotip elde etmelerini incelemek üzere beş farklı floresan renk kullanarak iki near-diploid ve üç near-tetraploid klon işaretlenmiştir. Bu klonların, ploidi ilişkili invazif yeteneklerinin in vivo incelenmesi ksenograft farelerde gerçekleştirilmiştir.

Araştırmamız sonucunda, 4N kolorektal kanser hücre klonlarında kemoterapi ve radyoterapiye direnç kazanılmasıyla ilişkili belirli genetik değişiklikler tespit edilmiştir.

Covid-19 Enfeksiyonuna Bağlı Pulmoner Emboli Gelişen Hastalarda İmmunolojik ve Hematolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi

Gülşel Ayaz¹, Nihal Enşen², Ersan Atahan², Buket Çalışkaner Öztürk², Bilun Gemicioğlu²

¹Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Covid-19'a bağlı pulmoner emboli (PE) geçiren hastalarda koagülasyon mekanizmalarının bozulduğunu bildiren çalışmalar olmasına rağmen hücrel etkileşimler ile immünolojik ve hematolojik mekanizmalar arasındaki ilişki tam olarak aydınlatılamamıştır. Çalışmamızda, Covid-19'a bağlı PE geçiren hastalarda, serum glikoprotein 2b3a (GP2b3a) ile alfa 2-antiplazmin (α 2AP) düzeylerini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Covid-19 tanısı alan 80 kişi arasında PE geçirmemiş (n=26), PE'li 3 ay tedavi alan (n=26) ve PE'li 6 ay tedavi alan (n=28) hastalar çalışmaya alındı. Serum GP2b3a ile α 2AP düzeyleri ELISA ile tespit edildi. Windows PASW İstatistik-18 programı kullanıldı. Normalite Shapiro-Wilk, üç grup kıyaslaması Kruskal Wallis testiyle yapıldı. Alt grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney testi uygulandı.

Sonuçlar: GP2b3a düzeyleri ile α 2AP düzeyleri, Covid-19'a bağlı PE geçiren ve geçirmeyen hasta grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır (p>0.05). Hematolojik ve biyokimyasal parametreler Tablo 1'de sunulmuştur.

Tartışma: Covid-19'a bağlı PE geçiren hastalarda hematolojik ve immünolojik parametrelerde değişiklikler bildirilmiştir. Trombosit GP2b3a reseptörleri, fibrinojen köprüleriyle trombus formasyonuna yol açarlar. Covid-19'da inflamasyon ve pıhtılaşma eğilimi artar. Bulgularımızda GP2b3a düzeylerinde anlamlı fark görülmemiştir.

Fibrinolitik sistem elemanlarından α 2AP, plazminin inhibitörüdür. Farelerde PE çalışmalarında α 2AP'nin trombusun çözünmesini azalttığı ve PE sırasında mortaliteyi artırdığı gösterilmiştir. Bulgularımızda α 2AP düzeylerinde anlamlı fark görülmemiştir.

Covid-19 ile ilişkili koagülopati ve yüksek D-dimer düzeyleri bildirilmiştir ve yüksek ölüm oranıyla ilişkilendirilmiştir. Bulgularımızda emboli ve süresi ile bağlantılı olarak D-dimer'in yükseldiği gözlenmiştir.

Covid-19'da ve inflamasyonda Pct'nin yükseldiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bulgularımızda emboli ve süresi ile bağlantılı olarak Pct'nin arttığı gözlenmiştir.

Covid-19 hastalarında tedaviye rehberlik etmek amacıyla trombositlerin ve fibrinolitik mekanizmalarının rolünü aydınlatmak için detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Covid-19, pulmoner emboli, glikoprotein 2b3a, alfa 2-antiplazmin

Tablo1. Covid-19 enfeksiyonuna bağlı PE(-) ve PE(+) 3-6 ay tedavi olgularında hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması

	PE (-) (n=26)	PE (+) 3ay tedavi n=26	PE (+) 6 ay tedavi n=28
Plt (10³µL)	260,75 ± 72,24	311,59 ± 114,16	304,39 ± 77,93
MPV (fl)	8,44 ± 0,90	8,37 ± 0,83	8,18 ± 0,58
Pdw (%)	16,73 ± 0,61	16,76 ± 0,74	16,83 ± 0,58
Pct (%)	0,23 ± 0,07	0,27 ± 0,07*	0,29 ± 0,07**
Hct (%)	39,87 ± 5,05	37,10 ± 7,47	39,12 ± 3,14
Fibrinojen (mg/dl)	409,12 ± 146,17	417,95 ± 84,50	412,19 ± 89,15
D dimer (mg/L)	0,46 ± 0,32	1,15 ± 1,07**	1,67 ± 2,42***
CRP (mg/L)	2,98 ± 2,95	8,56 ± 16,37	6,62 ± 17,23
GP2b3a (ng/ml)	0,40 ± 0,22	0,42 ± 0,23	0,48 ± 0,32
α2AP (ng/ml)	45,60 ± 21,01	36,21 ± 23,76	38,18 ± 26,31

*p<0,05, **p<0.01, ***p<0,001 PE (-) grubu ile farkı gösterir. Veriler, ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur.

PE: Pulmoner Emboli, GP2b3a: Glikoprotein 2b3a, α2AP: alfa 2-anti-plazmin, Plt: Trombosit, Pct: Platelet crit; MPV: Ortalama Trombosit Hacmi; PDW: Trombosit Dağılım Genişliği; Hct: Hematokrit, fL: femtolitre, n: Hasta sayısı

NOT: Bu çalışma İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: TSA-2022-36041



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Tamoksifen Direncinde WWOX Geninin Rolü ve Hippo Sinyal Yolağı ile İlişkisi

Ebrucan Bulut¹; Gulsah Cecener¹; Mustafa Sehsuvar Gokgoz²; Guven Ozkaya³; Hulya Ozturk Nazlıoğlu⁴; Unal Egeli¹

¹Bursa Uludağ University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology,, BURSA, Türkiye

²Bursa Uludağ University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, BURSA, Türkiye

³Bursa Uludağ University, Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, BURSA, Türkiye

⁴Bursa Uludağ University, Faculty of Medicine, Department of Medical Pathology, BURSA, Türkiye

Giriş: Tamoksifen (Tam), östrojen reseptör pozitif (ER+) meme kanserli hastaların büyük çoğunluğunun tedavi protokolünde yer alan ER modülatörüdür. TAM'ın yan etkilerinin azaltılması ve ilaç direncine karşı tedavi protokollerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Hippo yolağının TamR mekanizması ile ilişkisini anlamının, direncin aşılmasında yeni stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. WWOX'un kaybının çeşitli kanserlerin gelişmesinde rol aldığı bilirse de meme kanserinde bu genin KO'nun TamR mekanizmasına etkisi hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır. Bu doğrultuda, mevcut çalışmada CRISPR/Cas9 yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen WWOX geninin knock-out (KO) ve overeksprese (OE) hippo sinyal yolağı ile ilişkili TamR'ye etkisinin incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Klinik ve in-vitro olarak gerçekleştirilen çalışmaya 20 mg/gün tamoksifen tedavisi almış 50 hasta dahil edilerek parafinize tümör ve normal dokularından RNA izole edilerek cDNA sentezi, ardından; CRISPR/Cas9 aracılı WWOX-KO-MCF-7 ve WWOX-OE-TamR-MCF-7 hücre hatları oluşturularak yine hücrelerden RNA izolasyonu ve cDNA sentezi gerçekleştirildi. Daha sonra WWOX, WBP2, YAP, TAZ genlerinin ekspresyon düzeyleri RT-qPCR ile değerlendirildi. Elde edilen veriler normallik, t-test, X2-testi ve korelasyon analiziyle değerlendirildi.

Sonuçlar: WWOX, WBP2, YAP, TAZ ekspresyonlarında normal dokuya göre artış olduğu, WWOX ile WBP2, YAP, TAZ ekspresyonları arasında korelasyon olduğu belirlendi (* $p < 0.001$). Hastalarda gelişen TamR ile YAP, WWOX, WBP2 ($p < 0.05$) arasında korelasyon görüldü. Ayrıca YAP ekspresyon düzeyi ile nekroz ($p = 0.041$), perinöral-invazyon ($p = 0.048$), tümör-boyutu ($p = 0.035$) arasında korelasyon gözlemlendi. TAZ ekspresyonu ile nekroz ($p = 0.031$), tümör-derecesi ($p = 0.017$), venöz-vasküler-invazyon ($p = 0.014$) arasında anlamlı oranda fark saptandı. Ekspresyon sonuçlarına göre WWOX, WBP2, YAP, TAZ genlerinin fold-change değerleri MCF-7-KO hücre hattında sırasıyla -1,785; 1,022; -1,454; -1,873 (* $p < 0.05$) MCF-7-OE hücre hattında ise sırasıyla; 0,035; 0,027; 0,649; 0,178'dir (* $p < 0.05$).

Tartışma: Mevcut çalışma, WWOX ile Hippo yolağı arasındaki ilişkiyi ve WWOX kaybının tamoksifen direncine yol açabileceğini göstermektedir. Ayrıca WWOX'un overekspresyonunun TamR hücrelerini, Tam'a karşı duyarlı hale getirebileceği fikrini sunmaktadır. Elde edilen bulgular, WWOX'un TamR'de prognostik biyobelirteç olarak rolüne ilişkin önemli ipuçları sağlamakta olup, hedefli tedavi geliştirilmesine katkı sağlar niteliktedir.

Bu çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi BAP tarafından (LTP-TYL-2022-1282) desteklenmektedir.

Piwi İnteracting RNA'ları İnhibe Edilen Üçlü Negatif Meme Kanseri Hücrelerinin Karakteristik Özelliklerindeki Değişimlerin Belirlenmesi

Çağrı Öner¹; Faruk Köser²; Ertuğrul Çolak³

¹Maltepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD., İstanbul, Türkiye

²Maltepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye

³Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ABD., Eskişehir, Türkiye

Amaç: Bu çalışmada piR-651 ve piR-823 bölgelerinin inhibisyonu ile MDA-MB-231 üçlü negatif meme kanseri hücrelerinin metastatik özelliklerinde yarattığı değişimleri belirlemek amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Non-Target, anti-piR-651 ve anti-piR-823 dizilerini HUVEC ve MDA-MB-231'e transfekte etmek için lipofektamin kullanıldı. Her iki hücre hattında da 24., 48. ve 72. saatlerde proliferasyon ve motilite belirlendi. Motilite deneyinden elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurularak MDA-MB-231 hücrelerinde kristal viyole ile invazyon deneyi yapıldı. Ki-67, HIF-1 α , MMP-2 ve MMP-9 gen ekspresyonları her iki hücre hattında optimum inhibisyon etkisinin tespit edildiği 48. saatte belirlendi.

Sonuçlar: Anti-piR-651 ve anti-piR-823 ile transfekte edilmiş MDA-MB-231 hücrelerinin 48. saat proliferasyonu kontrol grubuna göre, azalan motilite ve invazyon testi sonuçları göz önünde bulundurulduğunda, en uygun saat olarak seçildi ($p < 0,001$). Ancak anti-piR-651 ve anti-piR-823 ile transfekte edilen HUVEC hücrelerinin proliferasyonu ve motilitesi kontrol grubuna göre anlamlı bir fark göstermedi ($p > 0,05$). Anti-piR-823 ile transfekte edilen HUVEC hücrelerindeki MMP-2 ve anti-piR-823 ile transfekte edilen MDA-MB-231 hücrelerindeki HIF-1 α hariç; Ki-67, HIF-1 α , MMP-2 ve MMP-9 gen ekspresyonları her iki hücre hattında da kontrol gruplarına göre azaldı ($p < 0,001$).

Tartışma: Anti-piR-651 ve anti-piR-823 uygulanan sağlıklı hücrelerin proliferasyonu ve motilitesi etkilenmemiş olsa da Ki-67, HIF-1 α ve MMP-9 ekspresyonundaki azalmalar hücrelerin genetik potansiyelini ortaya koymaktadır. Her iki inhibisyon, MDA-MB-231 hücrelerinde motilite, invazyon ve proliferasyonda bir azalmaya neden olmakla beraber; gen ekspresyonu verileri hücre hareketi verilerini destekler durumdadır. piR-651 ve piR-823 inhibisyonlarının sağlıklı hücrelerin sağkalımında herhangi bir etkisinin olmaması, sadece metastatik kanserlerde önemli derecede sağkalımı ve metastazı düşürmesi; piR-651 ve piR-823'ün meme kanserinin metastazının ve invazyonunun baskılanmasında etkili potansiyele sahip olabileceklerini göstermektedir. Bu sonuçlar ileri zamanda yapılacak olan gen terapi ya da genetik manipülasyon çalışmalarında ilgili bölgelerin iyi bir aday olabileceği fikrini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: İnvazyon, metastaz, Piwi interacting RNA, üçlü negatif meme kanseri.

Bilim Kurulu'na Not: Bu araştırma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) 1002 Hızlı Destek Araştırma Programı tarafından desteklenmiştir (119Z550).

Mide Kanserinin Erken Tanı ve Takibinde Yeni Bir Hedef Olarak GANKYRIN ve CDO1 Genleri Promoter Metilasyon Değişikliklerinin Değerlendirilmesi

Metehan Karataş²; Selin Kankaya^{1,5}; Engin Hatipoğlu³; Nuray Kepil⁴; Zeynep Çalışkan⁵; Matem Tunçdemir²; Yıldız Dinçer¹

¹İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı,, İstanbul, Türkiye

²İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Patoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

⁵Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Yeni Yüzyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Anormal DNA metilasyonu, tümör baskılayıcı genlerin ve onkogenlerin ekspresyonunu değiştirerek karsinogenezde önemli bir rol oynar. DNA metilasyonunun tersine çevrilebilirliği, promoter hipermetilasyonu tarafından susturulan tümör baskılayıcı genlerin yeniden aktivasyonuna izin verir. Cysteine dioxygenase type 1 (CDO1) ve PSMD10 (Gankyrin) hücre içi karsinojenik yolları etkileyen ve ekspresyonları temel olarak DNA metilasyonu ile düzenlenen genlerdir. Kronik gastrit nedeniyle oluşan prekanseröz lezyonların gastrik kanser için risk faktörü olduğu bilinmektedir ve Gankyrin ve CDO1 genlerine ait promoter bölgesindeki DNA metilasyonu ile ekspresyon durumunun mide tümörleri ile karşılaştırmalı olarak incelenmesine yönelik bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızda Gankrin ile CDO1 genlerinin metilasyon ve ekspresyon seviyelerini belirledikten sonra klinikopatolojik verilerle karşılaştırarak mide kanseri için erken evre ve takipte kullanılabilecek potansiyel biyobelirteç özelliğini araştırmayı hedefledik.

Materyal Metod: Kronik gastrit tanısı alan 40 birey ve mide kanseri tanısı alan 60 hastaya ait Gankyrin ve CDO1 genlerinin ekspresyon durumları immünohistokimyasal olarak incelenirken, bu genlere ait promoter metilasyon durumları bisülfid dönüşüm sonrası DNA sekanslama yöntemi ile gerçekleştirildi. Sonuçlar klinikopatolojik verilerle karşılaştırıldı.

Bulgular: Hasta grubuna ait CDO1 promoter metilasyon düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Klinik evre, tümör boyutu ve lenf nodu tutulumunun artışına bağlı olarak CDO1 promoter metilasyon düzeylerinin anlamlı düzeyde arttığı belirlendi. İki grup arasındaki Gankrin genine ait metilasyon ve ekspresyon durumları ve klinikopatolojik karşılaştırmalarında bir anlamlı bir değişiklik gözlenmedi.

Sonuç: CDO1 promoteri metilasyon durumu, mide kanseri için öngörücü ve prognostik bir potansiyele sahiptir ve mide tümörlerinin epigenetik tedavisi için bir hedef olabilir.

Anahtar Kelimeler: DNA metilasyonu, Ekspresyon, Epigenetik, Mide Kanseri.

SERPİNB1 İfadesinin Temozolomid'e Karşı Gelişen Glioblastom İlaç Direncindeki Rolü

Hilal Buse ŞİRİN^{1,2}; Nihal KARAKAŞ^{2,3}

¹Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Programı, İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Kanser Araştırma Merkezi, Sağlık Bilim ve Teknolojileri Araştırma Enstitüsü, İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

³Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Uluslararası Tıp Fakültesi, İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Amaç: Glioblastom (GBM), ortalama 12-18 aylık sağkalım süresine sahip son derece kötü huylu bir glial tümör olarak kabul edilir. Standart tümör tedavilerine karşı oluşan direnç, tedavide başarı oranlarını azaltan önemli bir faktör olarak karşımıza çıkar. GBM tedavisinde öncelikli olarak kullanılan kemoterapötik ajan Temozolomid (TMZ)'dir, ancak GBM hücrelerinin yarısının TMZ'ye direnç geliştirmesi nedeniyle tümör tamamen ortadan kaldırılamamaktadır. Bu nedenle adjuvan tedavilere ihtiyaç duyulmakta ve yeni prognostik belirteçlerin araştırılması kaçınılmaz hale gelmektedir. Bu kapsamda, serin proteaz inhibitörlerinden SERPİN B sınıfı proteinlerinin, GBM kanser kök hücrelerinin sağkalımını teşvik ettiği ve tümör nüksüne katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Bunlar arasında SERPİNB1, çeşitli tümör hücrelerinde kanser hücre migrasyonu ve invazyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada ise, SERPİNB1 ifade seviyelerinin GBM ilaç direncinin gelişimindeki rolünü ve prognoz üzerindeki etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

Yöntemler: Bu amaçla, ilk olarak çeşitli GBM hücre hatlarında SERPİNB1 ifade düzeyleri belirlenmiştir. SERPİNB1 ifade düzeyleri gen transfeksiyonu ile sağlanmış, siRNA'ler aracılığı ile de SERPİNB1 ifade düzeyleri azaltılmıştır. Daha sonra bu hücre hatları üzerinde SERPİNB1'in ilaç direnci üzerindeki in vitro terapötik etkisi saptanmıştır.

Bulgular: Sonuçlar, GBM hücrelerinde SERPİNB1 ifade düzeylerindeki artışın bazı hücrelerde canlılığı arttırdığını ve SERPİNB1 düzeylerindeki azalmanın ise GBM hücrelerini TMZ'ye daha duyarlı hale getirdiğini göstermiştir. Bu nedenle bu çalışma, SERPİNB1'in GBM'de TMZ direncine olan etkisini ilk kez açığa çıkarmakta ve aynı zamanda, SERPİNB1 ifade seviyelerinin GBM tedavisindeki prognostik öneminin araştırılması gerektiğini vurgulamaktadır.

Sonuç: Bu çalışma, SERPİNB1 ifade seviyelerindeki değişimin GBM tedavisi açısından prognostik önemini vurgulamaktadır. SERPİNB1 ve GBM arasındaki moleküler ilişkinin kapsamlı olarak araştırılması, TMZ direncinin temelinde yatan moleküler mekanizmaların anlaşılmasına katkı sağlama potansiyeline sahiptir. Bulgular, standart tedavilerin geliştirilmesine ve GBM için yenilikçi tedavi yaklaşımlarının oluşturulmasına yol açabilir. SERPİNB1 düzeyleri ve TMZ direnci ile ilişkili moleküler mekanizmalar üzerine yapılacak daha kapsamlı araştırmalar, hastalığın seyrinin iyileştirilmesine ve GBM için yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Glioblastom, İlaç Direnci, Kemoterapi, SERPİNB1, Temozolomid

Kolanjiokarsinoma Kanserinde Prognostik Gen Belirteçlerinin Biyoinformatik Araçlar ile İncelenmesi

Merve Arda¹; Efza Kutlu²; Mustafa Güneş³; İpek Evren³; Aslı Kutlu³

¹Kanser Biyolojisi ve Farmakolojisi AD, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Tıbbi Biyoloji ve Genetik, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

³Moleküler Biyoloji ve Genetik, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Amaç: Kolanjiokarsinom (KKA), safra ağacındaki epitelyal hücrelerden gelişen malign bir kanserdir. Tüm primer karaciğer malignitelerinin %15'ini oluşturan ve tüm dünyada hızla büyüyen bir kanser türüdür. Biyobelirteç keşif çalışmaları KKA'nın erken tespiti ve tedavisi için potansiyel bir stratejidir. Son araştırmalar, COL1A1 (Kolajen Tip I Alfa 1 Zinciri), COL1A2 (Kolajen Tip I Alfa 2 Zinciri) ve MMP7'nin (Matris Metallopeptidaz 7) olası kolanjiyokarsinom (KKA) biyobelirteç adayları olduğunu ve COL1A1 ile COL1A2'nin intrahepatik KKA (iKKA) ve ekstrahepatik KKA (eKKA)'yı ayırt edebildiğini göstermiştir. COL1A1 ve COL1A2'nin kanser gelişimi ve prognozuyla ilişkilendirilmiştir. MMP7 geni ise, tümör metastazı ve inflamatuvar süreçlerle ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmanın amacı, KKA biyobelirteçleri olarak COL1A1, COL1A2 ve MMP7'nin etkinliğini tespit etmektir.

Gereç ve Yöntem: Biyoinformatik teknikler ve araçlar kullanılarak, COL1A1, COL1A2 ve MMP7 genlerinin KKA ile ilişkisinin kapsamlı bir araştırması yapıldı. Çalışmada DisGeNET ve SNP araçlarının yanı sıra Cbioportal, GeneDisteller ve R-dil programlama kullanılarak yeni çalışma hattı oluşturuldu. Gen mutasyonlarına ilişkin temel bilgiler DisGeNET veri tabanı kullanılarak elde edildi. SNP veritabanları, genler ve hastalıklar arasındaki ilişkiyi araştırma ve potansiyel biyobelirteç tanımlaması için KKA ile ilişkisi incelenmiştir. Bu genlere ilişkin hasta istatistikleri Cbioportal'da tekrar analiz edildi. GeneDisteller kullanılarak diğer tümörlerle olan ilişkilerine bakmak için metin madenciliği analizi yapıldı.

Sonuçlar: Analiz, bu genlerin özellikle CCA örneklerinde önemli ölçülerde eksprese edildiğini ortaya çıkardı.

Tartışma: COL1A1, COL1A2 VE MMP7 genlerinin hücre dışı matriksin yeniden düzenlenmesi ve dokudaki yeniden yapılanma üzerindeki rollerini gösteren sonuçlar iKKA ve eKKA'yı ayırt etmede potansiyel biyobelirteç olma rollerini arttırmıştır.

Anahtar Kelime: Biyoinformatik, Biyobelirteç araştırması, Kolanjiyokarsinom, COL1A1, COL1A2, MMP7

xCT İnhibitörü İmidazol Keton Erastin'in Kolorektal Kanser Hücrelerinde 5-fluorourasil Terapötik Potansiyeline Etkisi

Senanur Malcanlı²; Öykü Gönül Geyik¹; Ali Burak Özkaya⁴; Remzi Okan Akar³

¹Tıbbi Biyoloji AD, Tıp Fakültesi, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Kanser Biyolojisi ve Farmakolojisi AD, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

³Tıbbi Biyokimya AD, Tıp Fakültesi, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

⁴Tıbbi Biyokimya AD, Tıp Fakültesi, İzmir Ekonomi Üniversitesi, İzmir, Türkiye

Amaç: Kolorektal kanser, dünya çapında insidans açısından üçüncü, mortalite açısından ise ikinci sırada yer alan önemli bir malignitedir. Potansiyel yan etkiler ve ilaç direnci nedeniyle geleneksel kemoterapi yaklaşımlarının yetersizliği, konvansiyonel kemoterapötik ilaçların antioksidan mekanizma inhibitörleri ile kombine uygulanması gibi yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesini gerektirmektedir. Çalışmamızda, antioksidatif mekanizmada önemli rol oynayan glutatyon'un (GSH) SLC7A11 taşıyıcı proteininin inhibe edilmesi aracılı deplesyonuna odaklanılmıştır. GSH inhibisyonunun, kanser hücrelerinde geleneksel kemoterapötik ilaç olan 5-fluorourasil'in (5-FU) etkinliği üzerine etkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu amaçla, HCT-116 kolorektal kanser hücrelerinde SLC7A11 inhibisyonuyla GSH aktivitesini azaltmak için imidazol keton erastin (İKE) kullanılmıştır. İKE, 5-FU ve bunların kombinasyonunun hücre canlılığı üzerindeki etkisi Sülfrodamin-B testi, GSH&GSSG miktarları üzerindeki etkisi GSH&GSSG miktar tayini, sistinin hücre içine giriş düzeyleri sistin izleme analizi, ROS seviyesi üzerindeki etkileri akış sitometrisi, hücre ölümü üzerindeki etkileri Hoechst-33342&PI boyamasıyla belirlenmiştir.

Sonuçlar: HCT-116 hücrelerinde 5-FU'nun hücre canlılığı üzerindeki etkisi Sülfrodamin-B testi ile test edilmiş ve kombinasyon için IC50 değeri belirlenmiştir. İKE molekülünün hücre canlılığı üzerindeki etkisi araştırılmış ve 0,1 µM, 1 µM ve 4 µM konsantrasyonları, ilerleyen denemelerde kullanılmak üzere seçilmiştir. GSH&GSSG miktarları ve sistinin hücre içine giriş düzeyleri tespit edilerek İKE'nin SLC7A11 inhibisyonunu sağladığı gösterilmiştir. İKE ile 5-FU kombinasyonunun HCT-116 kolorektal kanser hücrelerinde ROS seviyesini artırdığı, ancak hücre ölümünü tetiklemediği belirlenmiştir.

Tartışma: Sonuç olarak, projemizde İKE ile antioksidan sistem inhibisyonunun, 5-FU'nun etkinliğine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Bu nedenle gelecekte translasyonel çalışmaların, İKE gibi küçük molekül inhibitörlerin kanser terapisine eklenmesini değerlendirebileceğini öngörmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Antikanserojenik Ajanlar, Antineoplastik Kombine Kemoterapi Protokolleri, Kolorektal Neoplazmlar, Fluorourasil, Glutatyon, İmidazol keton erastin.

Bu çalışma 16470 numaralı TUSEB A Grubu Acil Ar-Ge Projesi ile desteklenmiştir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



GSTM3 Susturulmuş Prostat Kanseri Hücrelerinde RSL3 Kaynaklı Ferroptotik Hücre Ölümünün Araştırılması

Didem Seven, Ömer Faruk Bayrak
Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD

Amaç: Erkeklerde görülen en yaygın kanser olan prostat kanseri, dünyada her yıl yaklaşık 1,6 milyon yeni olgu tanı almaktadır. Prostat kanseri vakalarının %20'sini yüksek evreli hastalar oluşturmaktadır. Kanserde tümör heterojenitesinin varlığı uygulanan tedavileri güçleştirmektedir. Bu yüzden prostat kanserinin moleküler mekanizmalarının ve genetik temellerinin kapsamlı bir şekilde anlaşılması, yeni ve daha etkili tedavi yöntemlerinin araştırılmasında önem taşımaktadır. Glutasyon S-Transferaz Mu 3 olarak da bilinen GSTM3 geni, glutasyon S-transferaz (GST) gen ailesinin bir üyesidir. GST'ler, glutasyonun konjugasyonunu katalize ederek çeşitli zararlı bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli rol oynar. GSTM3 genetik polimorfizmleri ile prostat kanseri ve tedaviye yanıtı arasındaki ilişki önceki çalışmalarda gösterilmiştir. GSTM3 geninin prostat kanserinde mekanizmasını ve detoksifikasyon süreçlerindeki rolünü anlamak, kanser duyarlılığı ve kişiselleştirilmiş tıp yaklaşımlarının araştırılmasında önemlidir. RSL3, kanser araştırmaları alanında, özellikle ferroptotik programlanmış hücre ölümünde sıkça araştırılmış küçük molekülü bir bileşiktir. Bu çalışmada prostat kanserinde GSTM3 ekspresyonu ve RSL3 indüksiyonunun olası etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: GSTM3 geni, prostat kanseri hücrelerinde (DU-145, PC-3 hücre hatlarında) siRNA kullanılarak susturuldu. Susturmanın etkileri 48 saat sonra incelendi. GPX4 geni ifadesi RT PCR ile değerlendirildi. RSL3 ile indüklenen hücrelerin canlılığı MTS ile ölçüldü. ROS tespiti, hücre akış sitometrisinde H2DCFDA kullanılarak gerçekleştirildi.

Sonuçlar: GSEA analizi kullanılarak yapılan transkriptom analizinde GSTM3 geninin aşırı ekspresyonu gözlemlendi. Ferroptozun önemli hedefi olan GPX4 geni, GSTM3 geninin susturulması sonucu arttı. ROS üretiminin, RSL3 ile indüklenen GSTM3 susturulmuş prostat kanseri hücrelerinde, kontrol hücrelerine kıyasla arttığı gözlemlendi.

Tartışma: Prostat kanseri için hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesi, hastalığın iyileşmesi, yan etkilerinin ortadan kalkması için hayati önem taşımaktadır. GSTM3'ün stratejik hedeflemesinin, prostat kanseri hücrelerinin ferroptozun neden olduğu hücre ölümüne duyarlılığını arttırdığını göstermektedir.

Trisetin, Kolorektal Kanser Hücrelerinde 5-Fluorourasil'in Terapötik Potansiyelini Arttırmaktadır

Efza KUTLU^{2,1}; Dilruba TIRPANLAR¹; Mustafa GÜNEŞ¹; Senanur MALCANLI³; Öykü GÖNÜL GEYİK⁴

¹Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

³Kanser Biyolojisi ve Farmakolojisi AD, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

⁴Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Amaç: Dünyada en sık görülen üçüncü kanser türü olan kolorektal kanser (KRK) günümüzde etkin bir tedaviden yoksundur. KRK ile mücadele yenilikçi tedavilerin geliştirilmesini gerektirmektedir. Son araştırmalar, organik bileşikleri geleneksel tedavilerle birleştirerek kanserin ilerlemesini durdurmaya yönelik yeni bir yaklaşımı öne çıkarmaktadır. Bu organik bileşiklerden biri, antikanser potansiyeli olan bir tür flavonoid olan trisetin'dir. Burada trisetin'in KRK hücre hattı HCT-116 hücreleri üzerindeki antikanser etkileri incelenmiş ve trisetin ile 5-FU'nun pozitif etkilerinin in vitro modelde ilk deneysel kanıtı ortaya koyulmuştur. Bu çalışmanın amacı bu kombinasyonun translasyonel onkolojide kullanım potansiyelini test etmektir.

Yöntemler: Trisetin'in tek başına veya konvansiyonel bir kemoterapötik olan 5-fluorourasil (5-FU) ile kombinasyon halinde hücre canlılığı üzerindeki etkileri Sülfrodamin-B testi ile, hücre ölümü üzerindeki etkileri Hoechst 33342/PI tekniği ile, apoptotik yolakla ilişkili proteinlerin ekspresyon seviyeleri ise Western blotlama ile belirlenmiştir.

Sonuçlar: 5-FU'nun trisetin ile kombinasyonu (%39), tek başına kullanımına (%45) kıyasla HCT-116 KRK hücrelerinin canlılığını daha da azaltmıştır. Takip eden deneylerde trisetin IC₃₀ (40 uM) ve 5-FU IC₅₀ (20 uM) kullanılmıştır. PARP ve Kaspaz-3'ün protein ekspresyon düzeyleri Western blotlama yoluyla belirlenmiştir. Kaspaz-3, apoptotik sinyalleşme sırasında çevresel strese yanıt olarak aktive edilen ve DNA onarımında yer alan nükleer bir enzim olan PARP'ı parçalayarak DNA onarımı kapasitesini devre dışı bırakır. Apoptotik sinyalizasyonun tanınmış bir göstergesi, bölünmüş PARP'ın varlığıdır. Bulgularımıza dayanarak kaspaz-3, 5-FU ve trisetin ile PARP bölünmesinin, bu yolak aracılığıyla HCT-116 hücreleri üzerinde apoptotik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Tartışma: Bu çalışma kapsamında trisetin'in, 5-FU'nun KRK'deki terapötik yeteneğini arttırdığı ve onkolojik tedavide terapötik bir yardımcı olarak kullanılabilceği belirlenmiştir. Trisetin'in hastalarda kullanımını araştırmak için translasyonel klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, Flavonoid, Kombinasyon tedavisi, Kolorektal kanser, Trisetin.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Osteojenik Matriks Olgunlaşmasında La-ilişkili Protein 7 'nin Rolü

M. Samil Ozisin²; Gozde Imren^{1,2}; Beren Karaosmanoglu¹; Ekim Z. Taskiran^{1,2}

¹Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Ankara, Türkiye

²Hacettepe University, Institute of Health Sciences, Department of Medical and Surgical Research, Ankara, Türkiye

Amaç: La-ilişkili proteinler, yapılarında ortak olarak La modülü içeren ve RNA metabolizmasında görev yapan RNA-bağlayıcı proteinlerin bir ailesidir. Alazami sendromu La-ilişkili protein 7 (LARP7) geninde ortaya çıkan homozigot mutasyonlar sonucu ortaya çıkan, büyüme ve zeka geriliği, yüzde dismorfik bulgular ve iskelet sistemi bozuklukları ile karakterize genetik bir hastalıktır. RNA-bağlayıcı proteinlerin doku/hücre spesifik ifade göstermeleri nedeniyle işlevlerinin aydınlatılması için hücresel modellere ihtiyaç vardır. Bu fenotipten yola çıkarak amacımız LARP7'nin osteogenez sürecindeki fonksiyonunun aydınlatılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: İnsan primer mezenkimal kök hücrelerinde osteojenik farklılaşma indüklenmiş ve bu süreç boyunca LARP7 ifadesinin takibi yapılmıştır. İfade düzeyinin en yüksek olduğu gün belirlenmiş ve bu aşamada LARP7 gen ifadesinin susturulması RNA interferans ile gerçekleştirilmiştir. Ardından yüksek ölçekli RNA dizileme (RNA-seq) yöntemi ile global gen ifade profili analiz edilmiş ve belirlenen hedef genlerin validasyonları qRT-PCR ile tamamlanmıştır.

Sonuçlar: RNA-bağlayıcı proteinlerin mRNA ifadeleri hücresel farklılaşma süreçlerinde detaylı biçimde analiz edilmiştir. Hastalık fenotipi ile uyumlu olarak özellikle osteogenez sürecindeki ifade düzeylerinde ilginç bir örüntü gözlemlenmiş ardından yapılan deneylerde LARP7 ve beraberinde diğer süper aile elemanlarının büyük çoğunluğunda matriks olgunlaşmasına denk gelen (orta) dönemde ifade artışı gözlenmiştir. LARP7 gen ifadesinin en yüksek olduğu aşamada gene özgül siRNA dizileri ile LARP7 ifadesi baskılanmış ve osteojenik farklılaşmanın gerilediği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, bu deneyden elde edilen RNA örneklerinde yüksek ölçekli transkriptomik analiz yapılmış ve hangi genlerin ifade değişimi gösterdiği ortaya çıkarılmıştır.

Tartışma: LARP7'nin osteogenez sürecinde matriks maturasyonunda rol oynadığı bulgusu elde edilmiş ve LARP7 eksikliğinin gen ifade örüntüsüne etkisinin incelendiği transkriptomik analizlerde LARP7 baskılamasının özellikle yüksek kopya sayısına sahip olan mRNA'ların ifadesinde bir azalmaya sebep olduğu görülmüştür. LARP7'nin RNA metabolizması üzerinden indirekt olarak transkripsiyon faktörleri ve osteogenezde yer alan sinyal molekülleri dahil olmak üzere çeşitli RNA moleküllerinin işlenmesini ve stabilitesini etkileyebileceği ön görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Alazami Sendromu, COL1A1, La-ilişkili protein 7 (LARP7), osteogenez, matriks olgunlaşması



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Yeni Visinal Diaril-Substitüe İzoksazol ve Pirazol Türevleri Keşfi: Meme Kanserini Hedefleyen Sitotoksik Bileşiklerin Mekanizmaları Ve Tedavi Potansiyeli

Esra Nalbat¹; Sezen Güntekin-Ergün²; Sümeyye Turanlı³; Deniz Lengerli³; Burcu Çalışkan³; Erden Banoğlu³; Rengül Çetin-Atalay⁴

¹Middle East Technical University, Graduate School of Informatics, Department of Health Informatics, Cancer System Biology Laboratory (CanSyL), Ankara, Türkiye

²Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara, Türkiye

³Gazi University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Ankara, Türkiye

⁴University of Chicago, Section of Pulmonary and Critical Care Medicine, Chicago, United States of America

Amaç: Meme Kanseri (MK), meme hücrelerinde oluşan malign bir tümördür, genel kanser vakalarında en yaygın ve kadınlar arasında en sık teşhis edilen kanser türüdür. Meme kanserinin küresel anlamda önümüzdeki on yılda, geç menopoza, meme hücrelerinin hormonal uyarımı, yaş ve obezite gibi faktörler nedeniyle daha da artması beklenmektedir. Gen mutasyonları ve birçok kritik sinyal yolunda meydana gelen düzensizlikler nedeniyle konvansiyonel tedavilere direnç göstermektedir. Bu nedenle, meme kanserine karşı yeni tedavi yöntemleri tasarlamak ve geliştirmek son derece önemlidir. Bu çalışmada, meme kanseri üzerinde yeni keşfedilen sitotoksik visinal diaril izoksazol bileşiklerinin moleküler mekanizmaları araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Gerçek zamanlı hücre analiz sistemi (RT-CES) ile bileşiklerin sitotoksitesini değerlendirildikten sonra, hücre döngüsü, hücre ölümü ve DNA hasarı akış sitometrisi ile analiz edildi. Transkriptom değişiklikleri, 770 kanserle ilişkili genleri ve sinyal yollarının analizi PanCancer paneli kullanılarak incelendi. Senesens ilişkili β -Galaktozidaz aktivitesi ve oksidatif stres, immün boyama yöntemi ile değerlendirildi. Hücre döngüsü, senesens ve oksidatif stresle ilişkilendirilen yollar, western blot tekniği ile analiz edildi. Ayrıca, bileşiklerin antikanser etkileri in vivo olarak bir tümör xenograft deneyi ile değerlendirildi.

Sonuçlar: 60'tan fazla bileşik içerisinde, 11 ve 85 moleküllerinin, düşük dozlarda meme kanseri hücrelerine karşı son derece sitotoksik olduğu gösterildi. 11 ve 85 ile inkübasyon sonrasında zaman ve doza bağlı olarak büyüme inhibisyonu gözlemlendi; bu, oksidatif stres kaynaklı DNA hasarına bağlı olarak senesense giren hücrelerin artmasına, hücre döngüsünün G0/G1 fazında durmasına ve apoptozise yol açtı. Hücre döngüsü yolağı ve ilgili genler, kanser panelinin analizi ile en farklılaşmış yollar ve genler olarak belirlendi. Ayrıca, moleküllerle inkübasyon sonrası G0/G1 fazında rol alan proteinlerin ekspresyon seviyeleri değiştiği gözlemlendi. Dahası, hem 11 hem de 25 moleküllerine maruz bırakılan nude farelerde tümör boyutunda önemli bir azalmaya neden olduğu gösterildi.

Tartışma: 11 ve 85 bileşiklerinin gösterdiği anti-tümoral etkiler, bu bileşiklerin meme kanseri için umut verisi anti-kanser ajanları olarak potansiyellerini doğrulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, terapötikler, anti-kanser aktivite, sitotoksitesite.

Bu çalışma TUBİTAK (#215S015) tarafından desteklenmiştir.



Gliomada Sonic Hedgehog Yolağının Temozolamide Karşı Direnç Gelişimi ile İlişkisinin Araştırılması

Yılmaz Ezgi¹; Çelebi Asuman¹; Avşar Timuçin¹

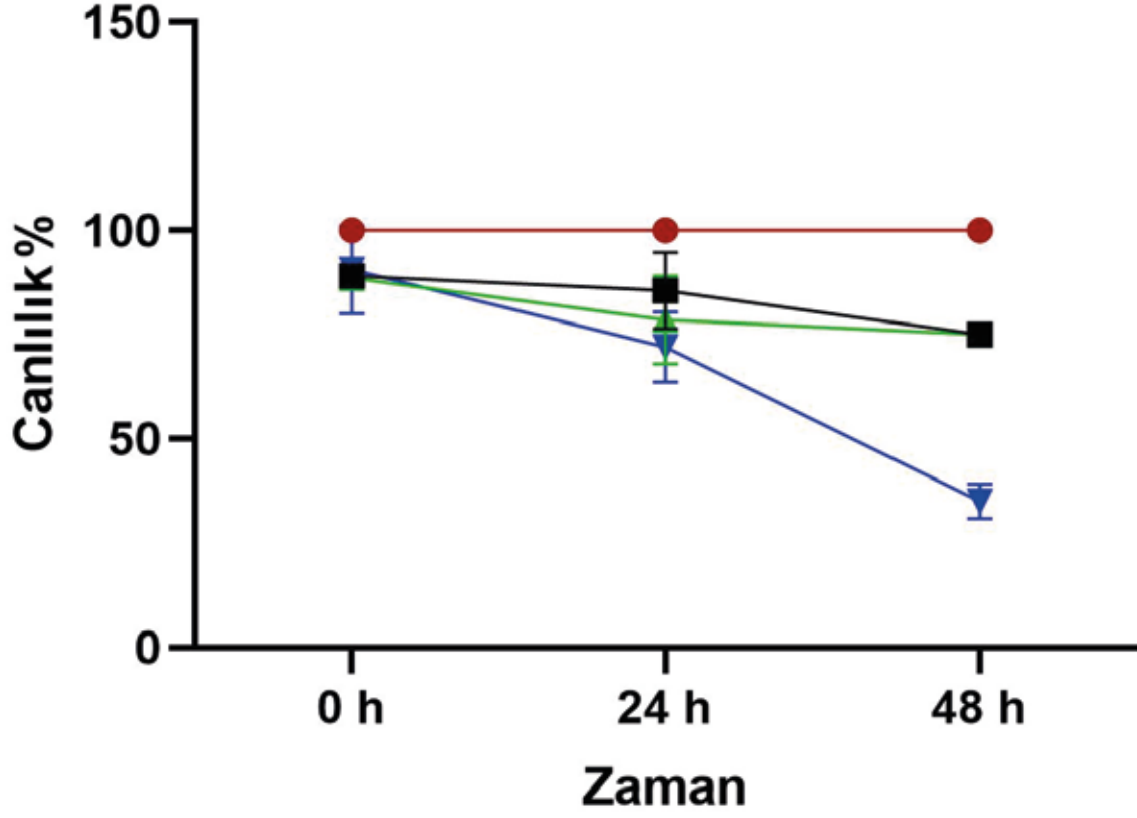
¹Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Bu çalışmada amaç IDH1 wild-type ve mutant gliomalarda Sonic Hedgehog (SHH) hücrel yolağının ilaç dirençliliğine olan etkisini incelemek ve SHH yolağın inhibe ederek temozolomide karşı hassasiyetin artırılmasını sağlamaktır.

Çalışmamızda Temozolomide karşı dirençli LN-18 hücre hattı kullanılmıştır. SHH yolağı ile Temozolomide etkinliği arasındaki ilişkiyi incelemek için ise Cyclopamine kullanılmıştır. Cyclopamine SMO proteinine bağlanarak SHH yolağın inhibe etmektedir. IDH wild-type ve IDH R132H mutasyonuna sahip plazmitler LN-18 hücre hattına transfekte edilmiştir. İlk olarak herhangi bir işlem uygulanmamış LN-18 hücrelerinde 5-10-20 µM cyclopamine ve 50-100-250 µM Temozolomide uygulanarak konsantrasyon değişimlerinin 72 saatlik süreçte hücre canlılığına etkisi hücre canlılığı analizi ile incelenmiştir. SHH yolağına ait SMO, GLI1, PTCH1, IDH1, TGF-beta ve GAPDH molekülleri mRNA ve protein düzeyinde kantitatif olarak incelendi ve kombine ilaç kullanımı sonrası hücrelerin apoptoz, ROS ve hücre döngüsü analizleri yapıldı.

Yapılan çalışmada 50 ve 100µM Temozolomide hücrelerin direnç gösterdiği ve ilacın belirgin bir başarı yaratmadığı 250 µM Temozolomidin ise 24. saat ile kontrol ile kıyaslandığında toksisite yaratabildiği görülmüştür. Değişen konsantrasyonlarda Cyclopamine ile eş zamanlı Temozolomide uygulandığında ise 50 ve 100 µM Temozolomidin etkin olabildiği ve 250 µM Temozolomidin etkinliğinin artış gösterdiği görülmüştür. LN-18 hücrelerinde 100µM Temozolomide ve 10µM Cyclopamine ile yapılan hücre canlılığı deneylerinde ise cyclopamine'in her üç grupta da Temozolomidin etkinliğini arttırdığı; özellikle 48 saat itibarıyla wild-type ve işlem uygulanmamış LN-18 hücrelerinde belirgin artış gösteren Temozolomide direncini önleyebildiği kanıtlanmıştır. Ayrıca cyclopamine uygulaması sonrasında SHH yolağın etkinliğinin azaldığı, apoptoz ve ROS aktivitesinde artış gözlemlenmiştir.

Temozolomide karşı dirençli olan LN-18 hücrelerinde Cyclopamine ile kombine Temozolomide uygulanması durumunda IDH1 wild-type glioma hücrelerinde 1 kemoterapotik etkinin başarı oranının arttığı gözlemlenmiştir. Gen ekspresyon düzeyleri incelendiğinde ise PTCH1 ve SMO gen ekspresyonlarının mutasyondan bağımsız olarak azaldığı fakat GLI1 ekspresyonunun yüksek kaldığı ve TGF-B ekspresyonunun bu yükselmeyi destekleyen şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Çalışmalarımız Temozolamide dirençli glioma hastalarında cyclopamine kombinasyonunun tedavide başarı etkinliğini arttıracaklarını düşündürmektedir.



- Kontrol
- Temozolomide 100 µM
- ▲ Cyclo 10 µM
- ▼ Temozolomide 100 µM+ Cyclo 10 µM

Zeytinyağı, Zeytin Yaprağı Ekstraktları ve Likopenin Birlikte Kullanımı Sorafenib'in Hep40 Hücreleri Üzerindeki Etkinliğini Artırır

Gül Kahraman¹; Mücahit Taha Özkaya²; Özlem Yıldırım³

¹Hacettepe Üniversitesi Medikal Onkoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Fen Fakültesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara, Türkiye

³Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji, Ankara, Türkiye

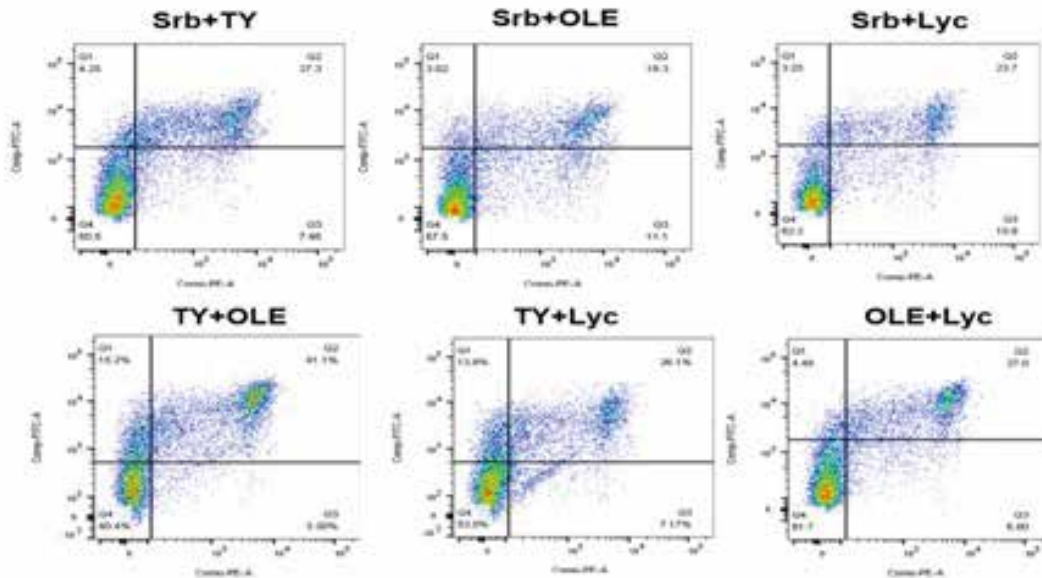
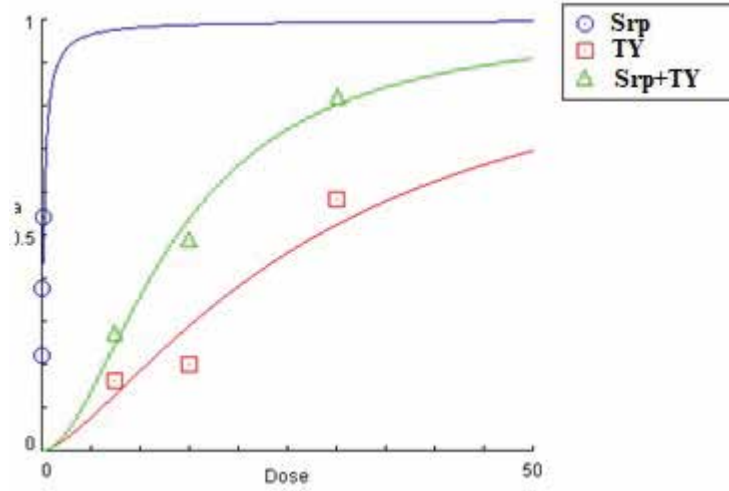
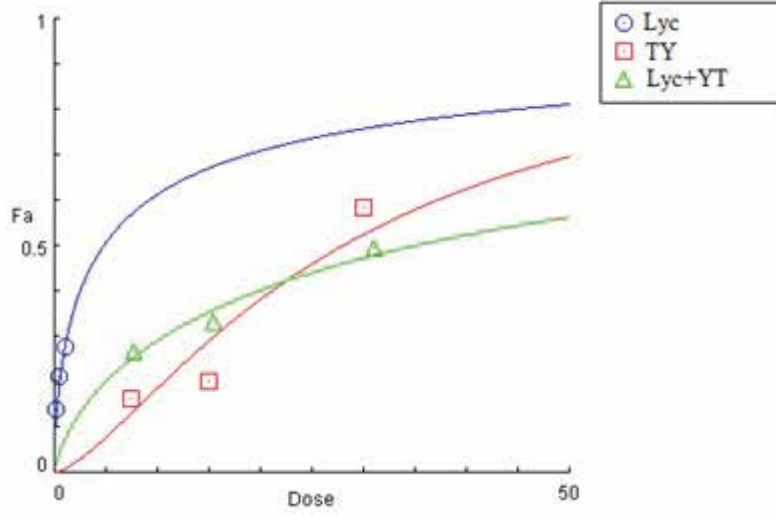
Amaç: Karaciğer kanseri (HCC) dünyada en yaygın kanserlerden birisidir ve HCC'de uygulanan primer kemoterapi Sorafenip (Srp) ilacıdır. HCC hastalarının Srp'e iyi yanıt vermemesi ve uzun süreli kullanımının primer veya sekonder ilaç direnci ile sonuçlanması Srp'in etkinliğini optimize edecek yeni terapötik stratejilere olan ihtiyacı ortaya koymaktadır. Son yıllarda ilaçların geliştirilmesinde biyoaktif bileşiklere olan ilgi artmıştır ve bazı bitki bazlı biyoaktif bileşiklerin, klinik uygulamalarda kullanılan ilaçlarla sinerjik etki gösterdiği birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu bağlamda mevcut çalışma ile Srp'nin etkinliğini artırmak için zeytinyağı fenolik ekstraktı, zeytin yaprağı ekstraktının (OLE) dahil edildiği doğal fenolik bileşikler ve likopenin (Lyc) kombinasyon terapisinin sinerjisi ile Srp'in dozunun azaltılmasına olanak sağlayacak bileşikler olası tüm kombinasyonlarla değerlendirildi.

Yöntem: Karaciğer kanseri hücre hattı Hep40, tek başına Srp ile veya eş zamanlı bu ekstraktlarla kombinasyon halinde tedavi edildi. Hücre çoğalması, MTT testi ile ve apoptoz yanıtları annexin V ile araştırıldı. Kombinasyon indeksini (CI) belirlemek için CompuSyn algoritması kullanıldı. Ek olarak mevcut çalışma ile Türkiye'de yetişen dört farklı bölgeden temin edilen zeytinyağlarının kimyasal kompozisyonu belirlemek için sıvı kromatografi (HPLC) ve gaz kromatografi (GC) analizleri kullanılarak yağ asit, sterol ve polifenol kompozisyonları çıkarıldı.

Sonuçlar: Zeytinyağı ekstraktının, Srp'in terapötik etkinliğini belirgin şekilde güçlendirdiği görüldü. Bunun aksine, OLE ve Lyc, Srp'in Hep40 hücrelerine karşı etkinliğini zeytinyağı ekstraktı kadar arttırmazken zeytinyağı ekstraktı ile birlikte Lyc ve OLE ile eş zamanlı tedavi Hep40 hücre sitotoksitesini güçlendirdi. Ek olarak zeytinyağı ekstresi ve OLE'nin dahil olduğu kombinasyonlar Srp ile sinerjik etki gösterdi. Zeytinyağının kimyasal kompozisyonunun çeşit ve yetiştiği bölgesel farklılığa bağlı olarak çok değişkenlik gösterdiği görüldü.

Tartışma: Çalışmamızda, zeytinyağının hep40 hücre büyümesini spesifik olarak inhibe ettiğini gösterildi. Zeytinyağında bulunan fenollerin, Srp yanıtını güçlendiren özelliklerinin anlaşılabilmesi için detaylı moleküler analizler ve insan karaciğer kanserinde Srp ve fenolik ekstraktların kombine tedavisinin terapötik bir strateji olması için in-vivo potansiyelinin inceleneceği ek çalışmalar gerektirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer kanseri, Likopen, İlaç kombinasyonları, Sorafenip, Zeytinyağı, Zeytin yaprağı.



Oleuropeinin U937 Monositik Hücre Modelinde Enflamasyon Üzerine Etkileri

Ayla Solmaz Avcıkurt¹

¹Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir, Türkiye

Amaç: Zeytin antioksidan, antimikrobiyal, antihipertansif, antiviral, antiinflamatuvar, hipoglisemik, nöro koruyucu ve antikanser özelliklere sahip olabilecek birçok potansiyel olarak biyoaktif bileşik içerir. Oleuropein, zeytin meyvesinin ilk dönemlerinde meyvede daha fazla bulunan, olgunlaşmanın ilerlemesi ile zamanla metabolize olarak miktarı azalan ve meyveye acılık veren bir maddedir. Oleuropein bir glikosillenmiş secoiridoid, yeşil zeytin, deri, et, yapraklar, argan yağı ve tohumlarda bulunan bir tür fenolik acı bileşiktir. Son zamanlardaki temel araştırma çalışmaları ve gözlemsel epidemiyolojik çalışmalar, doğal ürünlerin hastalıkları önleyici etkilerinin kısmen antioksidanlara atfedildiğini güçlü bir şekilde desteklemektedir. Bu çalışmada oleuropeinin U937 monositik hücre modelinde enflamasyon üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Araç Yöntem: Oleuropeinin hücre canlılığı üzerine etkisi ve uygulanacak dozlar MTT testi ile belirlenmiştir. IL-1 β ve IL-6 genlerinin ekspresyon düzeyleri ise qRT-PCR yöntemi ile belirlenmiştir. İstatistiksel değerlendirme MTT testi, mRNA ve yara iyileşme deneyi için Minitab 14 programı kullanılarak yapılmıştır. MTT testi için UV Spektro ile alınan sayısal verilerin ortalamaları, standart sapmaları hesaplanacak ve ANOVA kullanılarak kontrol hücreleri ile karşılaştırılmıştır.

Bulgular: U937 hücreleri farklı konsantrasyonlarda oleuropein ile (3mg/ml, 2mg/ml, 1mg/ml, 500 μ g/ml, 250 μ g/ml, 100 μ g/ml, 50 μ g/ml, 30 μ g/ml, 10 μ g/ml) farklı zaman aralıklarında (24saat, 48saat, 72saat) inkübe edildi. Daha sonra hücrelerin canlılık oranlarını belirlemek için MTT yapıldı. Deneyler her defasında 6 'lı ve en az iki bağımsız deney olacak şekilde dizayn edilmiştir. U937 hücrelerinde, oleuropein 24, 48 ve 72 saatte, kontrol grubuna göre 250 μ g/ml konsantrasyonda, hücre canlılığında, istatistiki olarak anlamlı bir azalış görülmektedir ($p < 0.05$). Sitotoksik etkide artış doz artışı ile korelasyon göstermektedir. Oleuropeinin uygulanan 250 μ g/ml dozu IL-1 β geninde ekspresyonu kontrole göre 3,21 katı artırmış ($p = 0,026$) IL-6 ekspresyonunu 2,71 ($p = 0,043$) oranında arttırmıştır.

Sonuç: Oleuropein IL-1 β ve IL-6 gen ekspresyonu arttırması kronik ve akut enflamasyon yanıtını arttırdığı gösterilmiştir. Çalışma oleuropeinin bu genlerin protein seviyesinde yapmış olduğu değişikliklerin gösterilmesi ile genişletilecektir.

Histonla İlişkili HIST1H4F Geninin Metilasyon Analizi ve Bunun Mesane Kanserinde Gen Ekspresyonu Üzerindeki Etkisi

Nuray Varol¹; İbrahim Keleş³; Handan Yıldız²; Kürşat Zengin³; Haşmet Sarıca³; Çiğdem Tokyol⁴

¹Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Ankara, Türkiye

²Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, Afyon, Türkiye

³Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji AD, Afyon, Türkiye

⁴Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD, Afyon, Türkiye

Amaç: Son zamanlarda, HIST1H4F geninin (Histone 4 proteinini kodlayan) anormal DNA metilasyonunun, erken kanser tanısı için ümit verici bir biyobelirteç görevi görebileceği birçok kanser türünde gösterilmiştir. Ancak mesane kanserinde HIST1H4F geninin DNA metilasyonu ile gen ekspresyonundaki rolü arasındaki ilişki belirsizdir. Sonuç olarak, bu çalışmanın ilk amacı HIST1H4F geninin DNA metilasyon paternini araştırmak ve ardından mesane kanserinde HIST1H4F mRNA ekspresyonu üzerindeki etkisini daha da aydınlatmaktır.

Gereç ve Yöntem: Mesane doku örneklerinde ve mesane tümör hücre hattı T24 hücrelerinde, HIST1H4F geninin metilasyon paterni sekanslama yoluyla analiz edildi ve bu genin metilasyon profillerinin mesane kanserinde qPCR yoluyla HIST1H4F mRNA ekspresyonu üzerindeki etkileri incelendi.

Sonuçlar: Sekanslama analizi, mesane tümörü örneklerinde HIST1H4F geninin metilasyon frekanslarının normal örneklere göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya çıkardı ($p < 0,0001$). Ayrıca HIST1H4F hipermetilasyonu ile klinikopatolojik parametreler (tümör evresi, tümör derecesi, lenf nodu metastazı, kas invazyonu) arasındaki korelasyonlar değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ($p < 0,05$). Sonrasında, HIST1H4F geninin hipermetilasyonunun HIST1H4F gen ekspresyonu üzerindeki rolünü değerlendirdik. HIST1H4F geninin hipermetilasyonunun mesane kanserinde mRNA ifadenmesi üzerine etki etmediğini gözlemledik. Ayrıca, T24 hücrelerinde (HIST1H4F geni hipermetiledir) HIST1H4F ekspresyonunun zamana bağlı olarak azalmasına veya artmasına rağmen HIST1H4F metilasyon profilinde herhangi bir değişiklik tespit etmedik.

Tartışma: HIST1H4F geninin hipermetilasyonu, kanser hastaları için umut verici bir erken tanısal biyobelirteç ve prognostik belirteç olarak kullanılabilir. HIST1H4F'nin hipermetilasyonu, kromatin yapısını etkileyerek mesane kanseri tümör oluşumunda rol oynayabilir.

Anahtar kelime: HIST1H4F gen, DNA metilasyonu, Histon 4, Mesane Kanseri

SN38-OA/Cur Kombinasyonunun Üçlü Negatif Meme Kanseri Hücre Hattı Üzerindeki Sinerjistik Etkileri

Rumeysa Balaban¹; Gülşah Çeçener¹; Gamze Koz²; Ayşe Poslu Halıç²; Ünal Egeli¹

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

²Bursa Teknik Üniversitesi, Bursa, Türkiye

Giriş: Üçlü negatif meme kanseri (TNBC), meme kanseri alt tipleri arasında en düşük sağkalıma sahip heterojen tümör grubudur. TNBC hastalarında kemoterapiye karşı gelişen direnç sebebiyle tedavi seçenekleri sınırlıdır. Bu nedenle TNBC tedavisi için yeni ilaç keşiflerine ve alternatif tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır. Irinotekan (Ir), kanser tedavisi için yaygın kullanılan bir kemoterapötik ajandır. Ir'nin aktif metaboliti SN-38 topoizomerez I-DNA kompleksine bağlanıp çift iplik kırılmalarına yol açarak anti-tümör etki göstermektedir. SN-38, pH \leq 4,5'te antitümör aktiviteye sahip aktif formu laktone dönüşürken pH \geq 7.5'da ise terapötik etkisi sınırlı, daha az stabil formu inaktif karboksilat formunda bulunmaktadır. Bu sınırlayıcı etkisinden dolayı daha etkin bir tedavi için SN38'in yapısal modifikasyonuna ihtiyaç duyulmaktadır. Mevcut çalışmada, SN38'in laktone formunun korunması için Oleik asitin (OA) bağlanarak yeni ilaç sentezinin gerçekleştirilmesi ve SN38-OA'nın potansiyel etkinliğini arttırmak amacıyla antioksidan aktivitesi bilinen kurkumin (Cur) ile kombinasyonu hazırlanarak TNBC tedavisinde kullanılabilecek efektif kombin tedavi modeli geliştirilmesi planlanmıştır.

Metotlar: SN38-OA ön ilacı ester sentezi ile modifiye edilip NMR, FTIR, UV-VIS yöntemleri ile karakterize edildi. SN38, SN38-OA ve Cur ile kombinasyonlarının MDA-MB-231 ve MCF10-A hücre hatlarında hücre canlılığı, hücre ölümü, hücre döngüsü ve migrasyon üzerine etkileri; MTT, AO/EtBr, Annexin V, cell cycle ve scratch assay yöntemi ile analiz edildi.

Sonuçlar: SN38-OA'nın etkin süre olan 48. saatte SN38'e göre düşük dozda IC₅₀ (75nM- *p<0,05) değeri gösterdiği belirlendi. Tek başına kullanımlarına kıyasla SN38-OA/Cur kombinasyonunun (25nM/25mM) sinerjistik bir etki yarattığı ve hücre canlılığını %85 oranında inhibe ettiği görülürken sağlıklı hücrede istatistiksel olarak anlamlı bir toksik etki görülmedi. SN38-OA ve SN38-OA/Cur kombinasyonunun kontrole kıyasla apoptotik hücre oranını arttırdığı saptandı. SN38-OA ve SN38-OA/Cur kombinasyonunun G2/M evresinde hücre arrestini tetiklerken, hücre migrasyonunu yaklaşık %80 oranında inhibe ettiği belirlendi (*p<0,001).

Tartışma: Elde edilen bulgular; SN38-OA/Cur kombinasyonunun MDA-MB-231 hücre hattı üzerinde SN38'in potansiyel etkinliğini arttırdığı ve kombinasyonun TNBC tedavisinde umut vadeden bir tedavi yaklaşımı olabileceği öngörülmektedir.

Anahtar kelimeler: SN38, oleik asit, Üçlü negatif meme kanseri, sinerjistik etki



Remdesivir ve Quercetin Kombinasyonunun Triple Negatif Meme Kanseri Hücrelerinde Sinerjistik Etkilerinin Araştırılması

Ebrucan Bulut¹; Mesut Karabulut²; Ceyda Colakoglu Bergel¹; Unal Egeli¹; Gulsah Cecener¹

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Bölümü, Bursa, Türkiye

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Bursa, Türkiye

Amaç: Triple negatif meme kanseri (TNBC), meme kanseri alt tiplerinin en agresif olanıdır. TNBC'de tedavi yöntemlerinin kısıtlılığı ve mevcut tedavilere karşı direnç gelişimi nedeniyle yeni tedavi stratejilerine ihtiyaç duyulmaktadır. Yapılan çalışmalarda kanser hücrelerinin ve parazitlerin metabolizmalarının benzerlik gösterdiği, antiparazitik ajanların anti-kanser etkilerinin olabileceği gösterilmiştir. Remdesivir (Rem), antiparazitik ajan olarak kullanılan RNA-bağımlı-RNA-Polimeraz (RdRp) inhibitörüdür. Rem'in prostat kanseri, melanoma gibi kanser türlerinde anti-kanser etkisi belirlenmiş olsa da, kullanımı yüksek toksisitesi nedeniyle kısıtlayıcıdır. Flavonoidlerin anti-inflamatuar, anti-oksidan ve anti-kanser etkileri bilinmektedir. Meme kanseri hücrelerinde de etkisi bilinen flavonoidlerden biri olan Quercetin'in (Que) çeşitli kemoterapötikler ile sinerjistik etkisi belirlenmiştir. Mevcut çalışmada Rem-Que'nin TNBC hücrelerinde sinerjistik etkisinin araştırılması hedeflendi.

Gereç ve Yöntem: Rem, Que, Rem-Que'nin MDA-MB-231 kanser hücreleri üzerindeki etkileri üzerine analizler; WST-1, Annexin-V, hücre döngüsü analizleri, Akridin turuncusu (AO) / Etidium bromür (EB) boyaması ile değerlendirildi.

Sonuçlar: Rem, Que ve Rem-Que'nin 72. saatte MDA-MB-231'de hücre canlılığını istatistiksel olarak anlamlı oranda inhibe ettiği belirlendi ($p < 0.01$); Rem'in 25 ve 50 μM dozlarda hücre canlılığının sırasıyla %52.04 ve %42.5; Que'nin 40 ve 50 μM için %51.3 ve %44.41 olduğu gösterildi. Kombinasyonları için Compusyn programıyla belirlenen IC50 değerleri olan Rem-Que 25-50 μM kombinasyonunun 72. saatte canlılığı %40.23'e düşürdüğü saptandı. MDA-MB-231'de AO/EB analizinde Rem'in tek başına kullanımına kıyasla Rem-Que kombinasyonunun sitoplazmik hasarı arttırdığı, hücre boyutunda küçülmeye neden olduğu ve kombinasyonun apoptotik hücre oranını arttırdığı gözlemlendi. Ayrıca MDA-MB-231 hücreleri 25 μM Rem, 50 μM Que ve 25+50 mM Rem-Que uygulamasından sonra G2/M fazındaki hücrelerin oranı kontrole oranla sırasıyla %44.8'den %52 ve %59.3'e yükseldiği, Rem-Que'de ise bu değerlerin %48.3'e arttığı gözlemlendi.

Tartışma: Elde edilen bulgular, TNBC hücrelerinde Rem'in sitotoksik ve Rem-Que'nin ise sinerjistik etkiye sahip olduğunu ilk kez ortaya koymakta olup, TNBC tedavisinde düşük dozda kullanılan Rem'in etkinliğinin artırılması için Que'nin potansiyel bir doğal bileşik olarak kullanılabilirliğini destekler niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Remdesivir, Quercetin, Triple negatif meme kanseri.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir [Proje No: 2209-A/1919B012220501]

Meme Kanseri Hücre Hatlarında NEAT1 ve miR-410-3p'nin Ekspresyonlarının Araştırılması ve Metastaza Etkilerinin Belirlenmesi

Cihangir Doğan, Buket Er Urgancı, İbrahim Açıkbaş

Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Denizli, Türkiye

Amaç: Bu çalışmamızda meme kanser hücre hatları MCF-7 ve MCF10A'da NEAT1 ve hedefi miR-410-3p'nin ekspresyonlarının araştırılması ve metastazdaki rollerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Gereç ve yöntemler: Araştırmalarımızda meme kanseri hücre hattı olarak MCF-7 ve kontrol olarak sağlıklı meme hücre hattı MCF-10A hücre hatları kullanılmıştır. Kültüre edilen hücrelerimiz lysis reagent ile kaldırılarak total RNA izolasyonu gerçekleştirildi. RNA düzeyindeki ekspresyonların değişimini tespit etmek amacıyla izole edilen RNA'lardan cDNA sentezi gerçekleştirilmiş, daha sonra qRT-PCR ile ekspresyon seviyeleri tespit edilmiştir. Hücrelerin invazyon kapasitelerini tespit etmek içinde Transwell invazyon deneyi gerçekleştirilmiş, 24 saat inkübasyonun sonunda hücreler boyanarak görüntülenmiştir.

Bulgular: Hücre hatlarına qRT-PCR ile NEAT1 ve miR410 ekspresyonları belirlenmiştir. NEAT1 ekspresyonu MCF-7 hücre hattında MCF-10A hücre hattına göre 2.30 kat artış göstermiştir ($p=0,000145$). miR-410 ekspresyonu MCF-7 hücre hattında MCF-10A hücre hattına göre 0,35 kat azalma göstermiştir ($p=0,000001$).

Hücre hatları arasındaki farklı invazyon kapasitelerinin belirlenmesi amacı ile matrigel-invazyon testi gerçekleştirilmiştir. Kristal viyole boyası kullanılarak invazyon yapan hücrelerin boyanması sonrasında literatür ile uyumlu olarak MCF-7 hücre hattının invaziv özelliğinin olduğu ancak MCF10A hücre hattının kemoatraktant varlığında bile invaziv özellik kazanmadığı görüldü.

Sonuçlar: Yapılan bu çalışmada, meme kanseri hücre hattı MCF-7'de normal meme hücre hattı MCF-10A'ya göre NEAT1 ekspresyonları literatüre uygun olarak yükseldiği ve miR-410-3p'nin ekspresyonlarını baskıladığı buna bağlı olarak invazyonu ve metastazı arttırdığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Meme Kanseri, Metastaz, NEAT1, miR-410-3p

Not: Bu çalışma, PAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon (Proje No: 2020SABE028) tarafından desteklenmiştir.

Kimyasal Şaperonların Memeli Hücrelerinde Antikor Üretimi Üzerine Etkisinin İncelenmesi

Ayşe Gökçe Erman¹; İlayda Engin¹; Erkan Yılmaz¹

¹Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, Türkiye

Amaç: Kimyasal şaperonlar, protein katlama fonksiyonunu taklit eden küçük moleküllerdir. Doğal protein konformasyonlarının daha etkili şekilde oluşmasını sağlayabileceği için biyolojik üretimlere katkıda bulunmaktadır. Rekombinant antikorlar son yıllarda birçok hastalığın tedavisi için kullanılan, tasarlanabilen ve yan etkilerinin çok az olması beklenen ilaç grubudur. Bu çalışmanın amacı kimyasal şaperonların trastuzumab antikorunun HEK293T hücre hattında üretilmesi üzerinde etkisini araştırmaktır.

Yöntem: İnsan embriyonik hücre hattı olan HEK293T uygun besiyerinde 37C'de 5%CO₂ ortamında kültür edilmiştir. Trastuzumab geni içeren pVitro plazmidi hücrelere CaCl₂ ve lipofectamine ile linearize transforme edilmiştir. Seçici ortam olarak hygromycin antibiyotiği kullanılmıştır. Antibiyotik varlığında dört hafta stabil olarak eksprese olması sağlanmıştır. Stabil hale getirilen hücre pelletinden RNA izolasyonu ve cDNA kütüphanesi oluşturulmuştur ve aktin PCR'ı ile kontrol edilmiştir. Stabil hücre hattının trastuzumab üretiminin gen ekspresyonu seviyesinde gösterilmesi için plazmid yapısında bulunan antibiyotik direnç geni ve trastuzumab antikorunun constant bölgesinin ağır ve hafif zincirleri ile ilgili PCR aşamaları tamamlanmıştır. Trastuzumab antikorunu üretimi western blotting ile gösterilmiştir.

Trastuzumab üreten hücrelere bir kimyasal şaperon olan 4-PBA uygulanmıştır. 4-PBA uygulanmış hücre hattında trastuzumab antikorunun gen ekspresyon ve protein seviyesinde üretiminin 4-PBA uygulanmamış hücre hattındaki üretimle kıyaslaması yapılmıştır.

Sonuç: Yapılan denemeler sonucunda hücre hattının ilgili plazmid ile transfekte edilebildiği, gen ekspresyonu seviyesinde ve protein seviyesinde trastuzumab üretiminin gerçekleştirildiği gösterilmiştir. Kimyasal bir şaperon olan 4-PBA in stabil hücre hattına uygulanması sonrasında antikor üretiminin arttığı belirlenmiştir.

Tartışma: Yapılan çalışmalar düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerin mutant proteinlerin agregasyonunu veya kalite kontrol sistemlerinden kaçışını ve bu sayede fonksiyon kaybına uğramalarını engellediğini göstermektedir. Bu düşük moleküler ağırlıklı bileşikler kimyasal şaperon olarak adlandırılır ve genellikle seçici olmadan mutant proteinleri stabilize edebilmekte ve katlanmalarını kolaylaştırabilmektedir. Hidrofobik yüzeylere bağlanma özellikleriyle mutant proteinleri agregasyondan koruyabilirler. Bu özellikleriyle protein katlanmasıyla ilişkili hastalıklara karşı yardımcıdırlar. Bu bağlamda literatürdeki çalışmalara paralel olarak yapılan bu çalışmada da kimyasal şaperonların protein/antikor üretimini artırabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Trastuzumab, antikor üretimi, memeli hücre kültürü

Metabolik Sendromlu Sıçanların Testis Dokusunda Vitamin D'nin Endoplazmik Retikulum Stresi Üzerine Etkisi

Meryem Sarıkaya^{1,3}; Betül Zorkaya³; Fatma Kaya Dağistanlı²; Ayşe Evrim Bayrak¹; Bilge Özsaıt Selçuk¹

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

Amaç: Diyabet, hipertansiyon ve dislipideminin bir arada görüldüğü metabolik sendrom (MetS), kardiyovasküler hastalıklar için önemli risk faktörü olmakla beraber son yıllarda erkek infertilitesi ile ilişkisi tartışılmaktadır. MetS'li infertil olguların testis dokularında, hipoksi ve nutrisyonel etkiler gibi çevresel şartlar veya kalsiyum homeostazını bozan etkenler sonucunda uyarılan endoplazmik retikulum stresinin (ERS) görüldüğü bildirilmiştir. Diğer yandan, Vitamin D'nin (VitD) MetS ve ERS üzerine düzenleyici etkisi çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmada, testis dokusunda MetS tarafından tetiklenen ERS yolu üzerine VitD'nin etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma grubu MetS (n=8), VitD takviyesi yapılan MetS (MSD, n=8) ve sağlıklı kontrol gruplarından (n=8) oluşmaktadır. MetS modeli, Sprague-Dawley ırkı erkek sıçanların 15 hafta boyunca %10'luk fruktozlu su ve %17 yağ ve %17 fruktoz içeren yem ile beslenmesiyle oluşturuldu. MSD grubuna 3. haftadan itibaren MetS diyetine ek olarak VitD takviyesi uygulandı. Deney grubu 15. haftada sakrifiye edilerek testis dokularının diseksiyonu yapıldı. Dokular şok donduruldu ve RNA izolasyonuna kadar -80°C'de saklandı. Dokuların homojenizasyonunun ardından total RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yapıldı. Gen ekspresyon analizi kantitatif gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) yöntemi ile yapıldı ve relatif kantitasyon (RQ) değerleri karşılaştırmalı Ct yöntemiyle hesaplandı. Tüm örnekler triplike olarak çalışıldı. ERS ve VitD yolları ile ilişkili olarak glukoz-regüle protein 78 (Hspa5), aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (Atf6) ve endoplazmik retikulum lokalize 57 (Pdia3) genlerinin ekspresyonları araştırıldı. Kontrol olarak aktin beta (Actb) geninin değerleri kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık student T testi kullanılarak karşılaştırıldı.

Sonuçlar: Testis dokusunda MS ve MSD grupları arasında Atf6 gen ekspresyonunda anlamlı bir değişim gözlenmezken MS grubunda Hspa5 (p=0,005) ve Pdia3 (p=0,004) genlerinin ekspresyonunda artış olduğu gözlemlendi.

Tartışma: Bu sonuçlar, MetS varlığında testis dokusunda ERS ve VitD ilişkili genlerin regülasyonunda değişim olduğunu ve spermatogenez sürecinin etkilenmesi yolu ile erkek infertilitesi ilişkili olabileceğini göstermektedir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Nöral Sistemin İnsan ve Fare Meme Kanseri Hücre Hatlarında Kansere Etkisinin Araştırılması

Neşe Aysıt¹; Esra Altıntaş¹; Esranur Yiğit¹; Fulya Alkan²; Emre Vatandaşlar¹; Hasan Körkaya¹; Gürkan Öztürk¹

¹*İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye*

²*Wayne State University, Detroit, United States of America*

Sinir sistemi, gelişme, büyüme doku homeostazı ve vücuttaki onarıma kadar çeşitli fizyolojik süreçlerle yakından ilgilidir. Yapılan çalışmalarda sinir sisteminin pankreas, kolon, meme, baş ve boyun kanseri gibi bazı kanser türlerinde de etkin rol oynadığı gösterilmiştir. İlâveten, nöral infiltrasyon tümörün ilerlemesiyle ve kötü prognozuyla ilişkilendirilmiştir. Meme kanseri dünya genelinde kadınlar üzerinde en çok teşhis edilen ve en fazla ölüme sebep olan kanser çeşidi olmakla birlikte nöral infiltrasyonun oldukça yoğun gözlemlendiği bir kanser türüdür. Ancak yapılan çalışmalarda nöronların kanser hücrelerinde nasıl bir etki oluşturarak davranışlarını etkilediği açıklanamamıştır. Bu doğrultuda çalışmada biyogörüntülenebilir Beta-III Tubulin GFP nöronlar ve mCherry ekspresyonuna sahip kanser hatları kullanılmıştır. Çalışmada insan (MDA-MB-231, fare (EMT6) meme kanseri hücre hatları kullanılmış ve hücreler AKG'ler ile bir arada kültür edilmiştir. Kültür aşamasından bir süre sonra hücreler konfokal mikroskopta görüntülenmiştir. Sonrasında hem nöronlarda hemde kanser hatlarında CD44, STAT3, ekspresyon seviyelerine Western Blot ve kantitatif PCR yöntemiyle bakılmıştır. Elde edilen sonuçlar nöronların ve kanser hücrelerinin birbirlerini çift yönlü olarak etkilediğini ortaya koymuş ve tedavi yaklaşımlarında nöral sistemi hedeflemenin kanser tedavisi için potansiyel bir strateji olabileceğini göstermiştir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



CD8+ T Hücrelerinde Böbrek Nakli Sonrası CTLA-4 Metilasyon Profilinin Belirlenmesi

Mustafa Soyöz¹; Burcu Çerçi Alkaç¹; Melek Pehlivan²; Tülay Kılıçaslan Ayna¹; Aslı Eldem¹; Erhan Tatar³; Mehmet Tanrısev⁴; İbrahim Pirim¹

¹İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD., İzmir, Türkiye

²İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, İzmir, Türkiye

³Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bozyaka Eğitim Araştırma Hastanesi, Nefroloji ABD, İzmir, Türkiye

⁴Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi, Nefroloji ABD, İzmir, Türkiye

Amaç: CTLA-4 immün kontrol noktası molekülünden biridir ve özellikle naif T hücre aktivasyonunun başlangıç basamağında, otoreaktif T hücrelerini durdurmaktadır. CTLA-4 yanıtı özellikle kanser çalışmalarında oldukça ilgi çekmekteyken organ naklindeki rolünü anlamaya yönelik elde edilen veriler kısıtlıdır. Bu çalışmada amacımız, böbrek nakli olmuş hastaların nakil öncesi ve sonrası CTLA-4 promotor bölgesindeki metilasyon düzeylerinin belirlenerek gen ekspresyon düzeyleri ile ilişkisini belirlemektir.

Gereç ve Yöntem: 2022 yılında tamamladığımız önceki projemizde CTLA-4 gen ifade düzeyleri belirlenen 30 adet böbrek nakli hastasından nakil öncesi ve sonrası dönemde izole edilen CD8+ T hücre DNA örneklerine bisüfit modifikasyonu yapıldı. Ardından CTLA-4'e spesifik primerlerle PCR reaksiyonu yapıldı ve Sanger sekanslama ile CTLA-4 gen promotorundaki 4 adet CpG adasının metilasyon düzeyleri belirlendi. Ayrıca Western blot yöntemi ile CTLA-4 protein düzeyleri ve ELISA yöntemi ile de serumda çözünebilir sCTLA-4 seviyeleri belirlendi.

Sonuçlar: 2 hastanın 1 nolu CpG adasının nakil öncesi ve sonrası hemimetile olduğu 2-3-4 nolu adaların ise metile olduğu; 2 hastanın ise 1 ve 2 nolu CpG adaları nakil öncesi metileyken nakil sonrasında hemimetile olduğu belirlendi. 2 hastanın gen ekspresyon düzeyi ile metilasyon seviyesi arasında ilişki bulunmuşken, diğer 2 hastanın gen ekspresyon seviyeleri ile metilasyon düzeyleri arasında herhangi bir ilişki bulunamadı. Gen ekspresyon değişimleri ile protein düzeyleri birbiri ile uyumlu bulunsa da sCTLA-4 seviyeleri ile aralarında anlamlı bir ilişki bulunamadı. Hastaların nakil sonrası klinik durumları (rejeksiyon atağı) ve kullandıkları ilaçlar göz önünde bulundurulduğunda, CTLA-4 metilasyon düzeyleri ve protein seviyeleri ile klinik durum arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı.

Tartışma: Gen ekspresyon düzeylerinin sadece gen metilasyonu ile kontrol edilmediği fikrinden yola çıkarak ilerleyen süreçte CTLA-4 geniyle ilişkili miRNA profilinin çıkarılması, histon asetilaz ve deasetilazların ifadelerindeki değişimin belirlenmesi gibi diğer epigenetik kontrol mekanizmalarının etkilerine yönelik çalışmalar planlamaktayız.

Anahtar Kelimeler: CTLA-4, Böbrek nakli, DNA metilasyon

Bilim Kurulu'na Not: Bu çalışma TÜBİTAK 1002 hızlı destek programı kapsamında 321S274 proje numarası ile desteklenmiştir.

Irp5 Mutant Zebra Balığında Göz ve Kemik Patolojilerinin Değerlendirilmesi

Sezen Güntekin Ergün¹; Fulya Yaylacıoğlu Tuncay²; Beril Talim¹; Pervin Dinçer¹

¹Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara, Türkiye

Amaç: LRP5 genindeki fonksiyon kaybı mutasyonlarla ilişkili bir hastalık olan Osteoporozis-Pseudoglioma (OPPG) sendromu, konjenital veya erken başlayan körlük, erken başlayan şiddetli osteoporoz, iskeletlerde kırılabilirlik ve bazen de öğrenme güçlüğü ile karakterize otozomal resesif bir hastalıktır. Çalışmanın çıkış noktasını kemik kırığı ve çocukluk çağı osteoporoz şikayeti olmayan ve mikroftalmi dışında başka göz bulgusu bulunmayan, bugüne kadar izole mikroftalmi olarak değerlendirilen bir aile oluşturmaktadır. Buna dayanarak ilk kez çalışmamızda homozigot olarak saptanan c.2827+1G>A splice site mutasyonunun kemikten ziyade gözde özellikle mikroftalmi gibi bir anomaliye neden olabileceği düşünülmektedir. OPPG sendromu bugüne kadar zebra balıklarında spesifik olarak çalışılmamıştır. Bu noktadan hareketle, amacımız ilgili mutasyonu oluşturmak ve değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışma için Irp5 sa11097 zebra balığı hattı kullanılmıştır. Gözde histolojik değerlendirme için H&E boyama, kıkırdak ve kemik yapısını incelemek için sırasıyla Alcian blue ve alizarin red boyama yapılmıştır.

Sonuçlar: Bu çalışmada, 8 günlük mutant larvalarda kafa çevresinin 8 günlük yabancıl AB tip larvalara kıyasla önemli ölçüde daha küçük olduğu belirlenmiştir. Gözün boyutları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. 8 günlük yabancıl AB tip ve mutant larvalar kemik ve kıkırdak yapısı açısından incelendiğinde, mutant larvaların notokord yapısının gelişiminin yabancıl AB tip larvalara göre daha yavaş olduğu belirlenmiştir.

Tartışma: Bu çalışma literatürde göz ve kemik-kıkırdak bulgularını birlikte değerlendiren ilk çalışma niteliindedir. Bu çalışmada mikroftalmi lehine bir bulguya rastlanmamış olmakla birlikte notokord gelişiminde anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. Ancak bu farklılığın mutasyona özgü olup olmadığını anlamak için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sanguinarin Uyarımı ile Dirençli Glioblastomalarda Kombine Tedavi Olasılıklarının Araştırılması

Asuman Celebi¹; Timuçin Avşar¹

¹Bahçeşehir Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Amaç: Glioblastoma erişkinlerdeki primer beyin tümörlerinin yaklaşık %70'ini oluşturmaktadır. Glioblastoma oluşumu ve gelişiminde hem kalıtsal hem de çevresel faktörlerin etkisi bulunmaktadır. Cerrahi işlemin ardından eş zamanlı Temozolomid (TMZ) kemoterapi ve radyoterapi tedavisine rağmen 15 ay içerisinde tümör tekrar ederek yüksek evreli gliomaya dönüşebilir ve yüksek mortaliteye neden olabilir. Hücrede genomik kararsızlık oluşur, ROS düzeyi artar. Artan ROS hücre homeostazını bozar ve hücre sitotoksitesini artırarak hücre ölümüne neden olur. Ancak TMZ, her bir glioblastoma hastasında aynı etkinliği gösteremez ve hastalar TMZ'e direnç geliştirebilir. Glioblastoma hastalarında gelişen bu kemoterapötik direnci ortadan kaldırmak için TMZ etkinliğini güçlendiren, hücrenin TMZ duyarlılığını artıran yeni terapötik ajanlar ile kombine tedavi uygulamaları önem arz etmektedir. Bu çalışmada hücre homeostazında önemli rol oynayan hücre içi ROS düzeyini artıran moleküller kullanılarak hücrenin TMZ duyarlılığının artırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Kanser hücresi olarak U87-MG ve TMZ dirençli U87-MG, sağlıklı hücre olarak HUVEC hücre hatları kullanıldı. ROS oluşumunu artırmak için Sanguinarin (SNG) ve Mitoksantron (MİT), Ketokonazol (KET) ve Breksipirazol (BREX) molekülleri kullanıldı. Hücre canlılığı, hücre içi ROS düzeyi ölçüldü ve koloni oluşumu izlendi.

Sonuçlar: Hücre canlılığı analizinde 48. saat sonunda U87-MG hücresinde IC50 değerleri SNG-57,9µM, MİT-1,9µM olarak bulundu. HUVEC hücresinde IC50 değerleri SNG-64,61µM iken MİT-2,21µM'di. TMZ dirençli U87-MG hücrelerinde ise IC50 değeri SNG- 47,99µM, MİT-1,93µM bulundu. KET ve BREX moleküllerinin tüm hücre hatlarında IC50 değeri 150-200µM aralığındaydı. KET+ BREX kombine tedavisi hiçbir hücre hattında hücre canlılığını etkilemezken diğer moleküllerin kombine uygulamalarının hücre canlılığını yaklaşık 10 kat düşürdüğü gözlemlendi. Moleküllerin tek başına uygulamalarına kıyasla kombine uygulamaları hücre içi ROS düzeyini yaklaşık 5 kat artırdı ve koloni oluşumunu azalttı.

Tartışma: Yüksek evreli ve TMZ dirençli glioblastomalarda SNG, MİT, KET ve BREX molekülleri hücre ölümünü artırır. Moleküllerin kombine uygulamaları glioblastoma tedavisinde yaygın olarak kullanılan TMZ'in yerine alternatif bir yaklaşım olarak düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Glioblastoma, mitoksantron, sanguinarin, ROS



Netotik ve Piroptotik Hücre Ölümünün Dolaşımdaki Belirteçleri ve Covid-19 Hastalığındaki Prognostik Önemleri

Yeliz ÖGRET^{1,2}; Ayşe Seda AKDEMİR^{2,3}; Şeydanur DOĞAN¹; Selen Zeliha MART KÖMÜRCÜ⁴; Merve Damla KORKMAZ⁵; Ebru KAYA⁶; Sevim YAVAŞ⁷; Ahmet DİRİCAN⁸; Selçuk DAŞDEMİR¹; Melek ÖZTÜRK²

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Karabük Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı., Karabük, Türkiye

⁴Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Bölümü., İstanbul, Türkiye

⁵Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁶Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁷Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği., İstanbul, Türkiye

⁸İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı., İstanbul, Türkiye

Amaç: SARS-CoV2 enfeksiyonunun neden olduğu Covid-19 patofizyolojisinde lökositlerdeki çeşitli hücre ölümü tiplerinin etkili olabileceği ileri sürülür. Bu çalışmada Covid-19 hastalık şiddeti ile netotik ve piroptotik ölüm arasındaki ilişkiyi araştırdık.

Gereç-Yöntem: Hafif (H), orta(O) ve ağır(yoğun bakım,YB) seyirli 150 Covid-19 hastasıyla 89 sağlıklı bireyden serum örnekleri toplandı. Nötrofil elastaz(NE), mieloperoksidaz(MPO), serbest-dolaşan DNA(cfDNA), sitrülin histon-H3(CitH-H3), gasdermin-D(GSDMD) IL18 ve IL8'in serum düzeyleri ELISA yöntemiyle analiz edildi. Dolaşımdaki netoz(NET) ve piroptoz belirteçleriyle hastalık şiddeti ve klinik parametreler arasındaki ilişkiler araştırıldı.

Sonuçlar: NE, CitH-H3 ve GSDMD'nin düzeyleri tüm-hasta grubunda sağlıklı gruba göre anlamlı derecede yüksekti. YB hastalarında yaş, D-dimer, ferritin, CRP ve nötrofil düzeyleri anlamlı yüksek bulunurken lenfosit ve hemoglobin düzeyleri düşüktü. YB hastalarında CitH-H3 seviyeleri, H+O hastalarındaysa NE anlamlı yüksek seviyelerdeydi. Vefat-eden hastalarda IL-8 düzeyleri düşük, CRP yüksek, entübe hastaların yaş, CRP ve CITH3 düzeyleri anlamlı olarak yüksek, IL-8 düzeyleri düşüktü.

Tartışma: Sonuçlarımız Covid-19 hastalarında dolaşımdaki netoz ve piroptoz belirteçlerinin inflamasyon, düzensiz hemostaz ve fibrinoliz ile ilişki gösterdiğini, hastalık şiddetinin bir göstergesi olarak prognozda rol oynadığını, Covid-19 tedavisinde potansiyel hedefler olarak dikkate alınabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: SARS-CoV2, Covid-19, netoz, piroptoz, komorbidite

NOTCH3 Geni Sekans Varyantları ve Prostat Kanseri Riski

Cansu Özbayer¹; Yağcı Emine¹; Özen Ata³; Kurt Hülyam²

¹Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Kütahya, Türkiye

²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

³Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

Prostat kanseri, özellikle ileri yaşlarda erkeklerde en sık görülen ikinci kanser türü olarak tanımlanmış olup insidansı neredeyse tüm ülkelerde sürekli artmaktadır, ancak yüksek morbiditesine rağmen etiyojisi tam olarak bilinmemektedir. İlerleyen yaş, ırk ve aile öyküsü bilinen risk faktörleridir. Notch sinyali evrim süresince korunmuş, gelişim döneminde hücre kaderinin belirlenmesinde rol oynayan hücre etkileşim mekanizmalarından biridir. Tümör süpresör ve onkogenik mekanizmaları etkilemesi nedeni ile karsinogenez ile yakından ilişkilidir. Memelilerde dört Notch geni (Notch 1- 4) bulunur. Prostat bezinde ekspresyon olan ve prostat kanserinde ekspresyon farklılığı belirlenen Notch üyeleri ise Notch1 ve Notch3'dür.

Çalışmamızda; Prostat dokusunda ekspresyon olan Notch3 genine ait promotör bölgelerinin sekanslanması ve serum Notch3 protein seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda proje önerimizde 25 benign prostat hiperplazi (BPH), 25 lokalize prostat kanseri (PCA), 25 metastatik prostat kanseri (MPCA) hastası ile 15 kontrol bireyde Notch3 gen promotörü Sanger sekans yöntemi ile dizilenmiş ve serum Notch3 seviyeleri Elisa kitleri kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar uygun istatistiksel yöntemler ile değerlendirilmiş ve 0.05'den küçük olan p değeri anlamlı kabul edilmiştir.

Notch3 gen bölgesi için veri setinin tamamının blastlandığı analizde en yaygın varyasyon olan 6758. Pozisyondaki C>T varyasyonu 67 örnekte belirlenmiştir (rs1044009). Notch3 serum seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BPH grubunda (P = 0,002), MPCA grubunda (P = <0,001) ve PCA grubunda (P = <0,001) anlamlı oranda düşük bulunmuştur.

Sonuç olarak Notch3 geninin prostat kanseri için aday bir gen olduğu ve serum protein seviyelerinin de daha geniş popülasyonlarda valide edilerek tanıda kullanılabileceği düşünülmektedir.



Sıçan Omurilik Hasarı Rejenerasyonu İçin Altın Nanopartiküller ve Nöral Faktörlerle Modifiye Edilmiş Sinir Kılavuz Kanalının Geliştirilmesi

İlyas Özçiçek^{1,2}; Neşe Ayşit^{1,2}; Zeynep Balçıkınlı²; Nilüfer Ulaş Aytürk³; Asel Aydeğer⁴; Gülsena Baydaş^{4,5,2}; Mehmet Şerif Aydın²; Esra Altıntaş^{4,2}; Ümit Can Erim^{2,6}

¹İstanbul Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilim ve Teknolojileri Araştırma Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

³Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Çanakkale, Türkiye

⁴İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

⁵İstanbul Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁶İstanbul Medipol Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Omurilik hasarları dünya genelinde oldukça yaygın olup, etkilenen hastaların yaşam kalitelerini çarpıcı düzeylerde etkilemektedir. Çevresel sinirler için kısmi bir rejenerasyon kapasitesi olsa da merkezi sinir sisteminin kendi inhibitör mikro-çevresinden dolayı fonksiyonel kazanım oldukça zordur. Geleneksel tedavilerdeki zorluklar ve yetersizlikler göz önüne alındığında, biyomalzeme ve nanotıp alanlarındaki gelişmeler oldukça ümit vaat edicidir. Bu çalışmanın amacı sıçan omurilik hasarının rejenerasyonuna yönelik mikro-kanallı topografyaya sahip, altın nanopartiküllerle (AuNPs) iletken hale getirilmiş ve yüzeyi BDNF/NGF/IKVAV-pentapeptitle modifiye edilmiş sinir kılavuz kanalının geliştirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Elektron demeti litografisi ve spin kaplama tekniği kullanılarak düz ve 1 mikron kanal genişliğine sahip polikaprolakton (PCL)/polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA) hibrit film iskeleler üretilmiştir. İskelelerin yüzeyleri iki farklı malzeme (AuNPs ve polipirol:PPy) kullanılarak iletken hale getirilmiştir. Ayrıca iskele yüzeyleri çeşitli biyomoleküllerle (BDNF/NGF/IKVAV-pentapeptit) modifiye edilmiştir. Tübüler hale getirilen sinir kılavuz kanalları Sprague Dawley sıçanlarda gerçekleştirilen sağ lateral yarı-kesim hasar bölgesine implante edilmiştir. 5 ve 10 haftalık bakım süreci sonrasında davranış çalışmaları, histolojik boyamalar ve Western-blot analizleri gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Dizayn edilen PCL/PLGA implant materyal genel olarak doku ile iyi düzeyde bir bütünleşme göstererek süreç içinde yıkıma uğramıştır. Sinir rejenerasyonuna yönelik en optimal sonuçlar 1 mikron kanal genişliğine sahip (PCL/PLGA G1-BDNF/NGF-AuNPs) gruptan alınmıştır. Mikro topografya, nöral faktörler ve uygun yüzey iletkenliği (AuNPs) tek başına etkili rejenerasyon sağlamayıp, birlikte sinerjistik etkiyle optimal nöral iyileşmeyi teşvik etmiştir. Diğer taraftan PPy modifiye grup ve düz iskele grubu istenilen düzeyde bir sinir rejenerasyonu sağlamamıştır.

Sonuç: Bu çalışmada fonksiyonel kanallı yapıda, altın nanopartiküllerle iletken hale getirilmiş ve BDNF/NGF/IKVAV-pentapeptit molekülleriyle modifiye edilmiş PCL/PLGA sinir kılavuz kanalı, sıçan omurilik hasarının uzun dönemdeki rejenerasyonunu teşvik etmek için geliştirilmiştir. Dizayn edilen mikro/nano tasarımlı PCL/PLGA doku iskeleleri çeşitli sinir hasarları sonrasında fonksiyonel kazanım için gerekli olan optimal aksonal kılavuzluğu ve nöral rejenerasyonunu sağlamak için sinir kanalı olarak kullanılabilir.

Not: Bu çalışma TÜBİTAK-SBAG-119S141 numaralı proje tarafından desteklenmiştir



Küratif Kemoradyoterapi ve Cerrahi Sonrası Radyoterapi Uygulanan Baş Boyun Kanserli Hastalarda Sitogenetik Hasarın Mikronukleus Yöntemiyle İncelenmesi

Laman Azimli¹; Sevda Kanat²; Başak Aslaneli Çakmak¹; R. Dilhan Kuru¹; Şükriye Yılmaz¹; Meltem Dağdelen²; Songül Karaçam²; Ahmet Dirican³; Ömer Erol Uzel²; Ayşe Çırakoğlu¹

¹İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Radyoterapi (RT), baş ve boyun kanserlerinde (BBK) cerrahi rezeksiyon ve kemoterapiyle birlikte uygulanan temel tedavilerden biridir. Radyasyon DNA'da çift zincir kırıklarını indükleyerek, hücrede mutasyon, disentrik, asentrik fragmentler gibi kromozom anomalilerine, dolayısıyla genomik instabiliteye yol açar. Genomik instabilite göstergesi olarak kabul edilen mikronukleusların (MN) sıklığı, genotoksisitenin gösterilmesinde önemli bir belirteçtir. RT normal hücrelerde de toksisiteye neden olmaktadır. Bu çalışmanın amacı, RT ve kemo-radyoterapi (KRT) uygulanan BBK hastalarında, lenfositlerdeki kromozom hasarını ve bireysel radyotoksisiteleri incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya RT uygulanan 12, KRT uygulanan 10 hasta ile 10 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Hastalardan, tedavi öncesi, ortası ve sonunda olmak üzere 3 kez heparinli perifer kan örnekleri alınmıştır. İki ayrı tüpe alınan kan örneklerinden biri 2 Gy X ışını ile ışınlandıktan sonra, diğeri ışınlanmadan kültüre edilmiş, 44.saatte sitokinezi engellemek için cytochalasin B eklenerek 72.saatte kültür çıkışı yapılmıştır. Aynı işlemler kontrol grubundan alınan örnekler için de gerçekleştirilmiştir. Yayılıp giemsa ile boyanan preparatlardan her olgu için 1000 hücre sayılması hedeflenmiş ve FENECH'in kriterlerine göre değerlendirilmiştir.

Sonuçlar: Tedavi öncesi RT ve KRT olgularında MN sıklığının kontrol grubuna göre yüksek olduğu, kendi aralarında bir fark olmadığı gözlenmiştir. MN sıklıkları, RT grubunda tedavi öncesi, ortası ve sonu arasında farklı bulunmamış, KRT grubunda tedavi öncesi ve sonu arasında, tedavi ortası ve sonu arasında anlamlı fark bulunmuştur. MN sıklıkları ile tedavi sırasında oluşan şiddetli yan etkiler arasında da ilişki gözlenmiştir. RT olgu grubunda, tedavi öncesi MN sıklığındaki fark ile kserostomi, KRT olgu grubunda, tedavi sonu MN sıklığındaki fark ile disfaji arasında anlamlı ilişki bulunmuştur.

Tartışma: Çalışmamız, radyosensitivite belirlenmesinde, MN sıklığının incelenmesinin önemli olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Baş boyun kanserleri, genomik instabilite, kemoradyoterapi, mikronukleus, radyoterapi

Bilim Kuruluna Not: Bu çalışma, İÜC BAP Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje ID no. 36531).

ACTH Salgılayan PitNET'lerde Yeni Gen Kümelerinin İfadesi

Sera Kayacan¹; Nurperi Gazioğlu^{2,3}; Ceren Orhan¹; Nil Çomunoğlu⁴; Pınar Kadioğlu^{3,5}; Necmettin Tanrıöver^{6,3}; Ömer Uysal⁷; Fatma Kaya Dağistanlı¹; Melek Öztürk¹

¹İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Hipofiz Merkezi, İstanbul, Türkiye

⁴İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁵İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁶İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁷İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoistatistik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Cushing hastalığı (CH), ACTH salgılayan hipofiz nöroendokrin tümörü (PitNET) nedeniyle aşırı miktarda endojen glukokortikoidlere maruz kalma sonucunda ortaya çıkan nadir bir hastalıktır. Bu çalışmanın amacı, ACTH salgılayan PitNET'lerin gelişiminde rol oynaması muhtemel CDKN2A ve USP8 genlerinin metillenme profilinin yanı sıra hücre döngüsünün düzenlenmesinde, deubikütinleştirmede, transkripsiyon faktörlerinin üretiminde ve hücre sinyalleşmesinde görevli genlerin ifadesini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Otuz iki kortikotrof adenomlu hastadan alınan hipofiz tümör dokusu örnekleri ve taze otopsilerden elde edilen on beş ön hipofiz dokusu incelendi. USP8, CABLES1, USP2, STAM2, VPS28, HDAC2, IL-6, SMARCA4, EGFR, WEE1, CDKN2A, CCND1, NR4A1, NEUROD1 ve RIPK1 gen ifade analizi qRT-PCR ile, metilasyon analizi ise MS-PCR ile yapıldı. Tüm veriler IBM SPSS Statistics 21 programı ve Temel Bileşen Analizi (TBA) kullanılarak analiz edildi.

Sonuçlar: CABLES1, NR4A1, CCND1, NEUROD1, USP2 ve WEE1 genlerinin ifadesi önemli ölçüde değişti. RIPK1, SMARCA4 ve USP2 ifadesi ile pre-op kortizol düzeyleri; WEE1 ifadesi ile pre-op ACTH düzeyleri; CDKN2A ifadesi ile idrar kortizol düzeyleri; CABLES1, NEUROD1, SMARCA4 ve STAM2 ifadesi ile post-op 48 saat kortizol düzeyleri; CCND1 ifadesi ile adenom boyutu ve son olarak WEE1 ifadesi ile remisyon durumu arasında anlamlı bir korelasyon saptandı. CDKN2A geninin kısmen metillenmiş olduğu ve USP8 geninin ise tamamen metillenmemiş olduğu tespit edildi.

Tartışma: TBA sonuçları kullanılarak ACTH salgılayan PitNET için hastalık gelişimi ve parametreleri ile korelasyon gösteren dört ortak etkili gen saptandı: USP2, CABLES1, CDKN2A ve WEE1. Bu genlerin değişmiş ifadelerinin ACTH salgılayan PitNET gelişimi ile ilişkili olduğu gösterildi. Özellikle WEE1'in, erken remisyonu tahmin edebilmek için bir hedef gen olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Endotelin Dönüştürücü Enzim-1b Genetik Varyantları Hiperlipidemi Riskini Artırabilir ve Stentli Koroner Arterlerde Restenoz Oluşumunda Rol Oynayabilir

Gulcin Ozkara^{1,2}; Ezgi Irmak Aslan^{2,3}; Ayse Begum Ceviz^{2,4}; Ozgur Selim Ser⁵; Onur Kilicarslan⁵; Sadiye Nur Dalgic⁵; Cem Bostan⁵; Ahmet Yildiz⁵; Oguz Ozturk²; Hulya Yilmaz Aydogan²

¹Bezmialem Vakif University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Türkiye

²Istanbul University, Aziz Sançar Institute of Experimental Medicine, Department of Molecular Medicine, Istanbul, Türkiye

³Istanbul Nisantasi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Istanbul, Türkiye

⁴Istanbul Health & Technology University University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Istanbul, Türkiye

⁵Istanbul University-Cerrahpasa, Institute of Cardiology, Department of Cardiology, Istanbul, Türkiye

Amaç: Ateroskleroza yol açan artmış LDL-kolesterolün, stentli koroner arterlerde neoateroskleroz oluşumuyla karakterize stent içi restenoz (ISR) için bir risk faktörü olabileceği olasılığı son yayınlarla desteklenmektedir. Membrana bağlı endotelin dönüştürücü enzim-1 (ECE-1), insanlarda en güçlü vazokonstriktör olarak bilinen endotelin-1 (ET-1)'in olgunlaşma sürecinde rol oynamaktadır. ET gen ailesindeki polimorfizmler önceki çalışmalarda ateroskleroz gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, bu çalışmada, ISR'ye genetik yatkınlık ile ilişkili olup olmadıklarını belirlemek için ECE-1 genindeki rs213045 ve rs2038089 polimorfizmlerinin etkilerini inceledik.

Gereç ve Yöntem: Tüm hastalara koroner anjiyografi (CAG) ile doğrulanan koroner arter hastalığı (KAH) tanısı konuldu. Stent implantasyonundan en az altı ay sonra yapılan CAG sonuçlarına göre hastalar ISR'li (n=102) ve ISR'siz (n=74) olarak iki gruba ayrıldı. Genotiplerin tespiti için real-time PCR yöntemi kullanılmıştır.

Sonuçlar: ECE-1 genindeki rs213045 ve rs2038089 varyasyonlarının genotip dağılımları çalışma gruplarında benzer bulunmuştur. Ancak tip II diyabet (T2DM) ve hiperlipidemi ISR gelişiminde risk faktörü olarak saptanmıştır (sırasıyla, $p < 0,010$ ve $p < 0,001$). Hiperlipidemik ve hiperlipidemik olmayan ISR hastaları arasında yaş, cinsiyet, hipertansiyon, T2DM ve ECE-1b rs213045 ve rs2038089 varyasyonlarının sıklıklarını karşılaştırmak için yapılan ileri analizde, rs213045 T aleli ($p = 0,017$), hipertansiyon ($p < 0,001$), T2DM ($p < 0,001$) ve kadın cinsiyeti ($p = 0,007$) hiperlipidemik ISR hastalarında daha yüksek bulunmuştur. Regresyon analizinde, rs213045 T aleli ($p = 0,036$) ve T2DM'nin ($p < 0,001$) restenoz hastalarında hiperlipidemi risk faktörleri olduğu gösterilmiştir.

Tartışma: Bulgularımız ECE-1b rs213045 polimorfizminin aterosklerozun önde gelen nedeni olan hiperlipidemi ile ilişkili olabileceğini ve stent operasyonu geçiren KAH hastalarında ISR gelişiminin saptanmasında değerli bir genetik belirteç olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, endotelin dönüştürücü enzim-1b, hiperlipidemi, stent-içi restenoz, varyasyon.

İmatinib Dirençli Kronik Myeloid Lösemi Modelinde Mitokondriyal-Türevli Peptid (MOTS-c)'in in vitro Etkilerinin Araştırılması

Pelin Yalçın¹; Sefa Kızıldağ¹; Halil Ateş¹; Zeynep Yüce¹; Seda Baykal Köse¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir, Türkiye

Amaç: Mitokondriyal türevli peptidlerin (MDPs) keşfi, nükleer ve mitokondriyal genom arasında çift yönlü bir iletişim ağını ortaya çıkarmıştır. 12S rRNA tip-c'nin mitokondriyal kısa açık okuma çerçevesi (MOTS-c), mitokondri genomu tarafından kodlanan 16 aminoasitlik MDP'lerden biridir. Bu biyopeptidin, hücrel stres ve metabolizma yanıtlarındaki rolüne ilişkin araştırmalar mevcuttur. Ancak MOTS-c'nin lösemi ve ilaç direnci ile ilgili rolü henüz net değildir. Bu çalışmanın amacı, in vitro kronik myeloid lösemi (KML) ve ilaç dirençli (imatinib)- KML'de, ekzojen MOTS-c maruziyetinin hücre canlılığı ve apoptotik hücre ölümüne olası katkısının araştırılmasıdır.

Yöntemler: Çalışmamızda, atasal KML hücre hattı(K562) ve atasaldan türevlenen imatinib dirençli-KML hücre hattı (K562-IR) ile in vitro model inşaa edildi. Ekzojen olarak farklı doz ve sürelerde MOTS-c (0.1 µM, 1.0 µM ve 10 µM)' ye maruz bırakılan bu lösemik hücre hatlarında, hücre canlılığı (MTT), hücre ölümü (Annexin-PI) ve lipid peroksidasyonu araştırılarak, eksojen MOTS-c'nin lösemik hücreler ve ilaç direncindeki etkisi incelendi. Verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statistics 24.0 tek yönlü ANOVA ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Hücre canlılığına ilişkin sonuçlar, MOTS-c 'nin hücre ölümünü her iki hücre hattı için anlamlı düzeyde tetiklediğini gösterdi. Dirençli hücrelerde apoptozun 10 µM ile ilk 24 saat diliminde gerçekleştiğini (p<0,039) ve 72. saatte bu konsantrasyonun atasal hücrelere kıyasla daha fazla apoptoza(p<0,046) neden olduğunu ortaya çıkardı. MOTS-c konsantrasyonuna bağlı canlılık oranı atasal hücrelerde azalırken, dirençli grupta yanıtların değişken olduğu tespit edildi. Ancak lipid peroksidasyonu açısından atasal ve dirençli hücreler arasında anlamlı fark bulunamadı.

Sonuç: Kanser metabolizması, akıllı moleküllerin keşfine rağmen zamanla gelişen ilaç direncinin aşılması için öncelikli hedefdir. Araştırmamızın sonuçları, MOTS-c'nin kanserdeki sekonder ilaç direncinde hücre canlılığı ve hücre ölümü üzerindeki etkisini ilk kez göstermesi açısından önemlidir. Sonuçlarımız, MOTS-c etkisinin tedavi dirençli alt klonlarda sitotoksik etkisinin daha yüksek olabileceğini gösterse de, konsantrasyona bağlı yanıtların değişkenlik gösterebileceğini düşündürmektedir. MOTS-c ve kanser direnç patogenezindeki olası fonksiyonlarının anlaşılması için daha fazla temel araştırmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Mitokondriyal türevli peptidler, MOTS-c, Kronik Myeloid Lösemi, İmatinib, İlaç direnci

Sanal Tarama Yöntemine Dayalı İn Silico Analiz ile Yeni Keşedilen LIM Kinaz Hedefli İlaç Adaylarının HCC Hücrelerinde İn Vitro Doğrulanması

Tunca Doğan²; Ece Akhan Güzelcan¹; Marcus Baumann⁴; Altay Koyas³; Heval Atas³; Ian R. Baxendale⁵; Rengül Çetin Atalay^{3,6}

¹Hacettepe University, Rare Disease Biobank, Ankara, Türkiye

²Hacettepe University, Department of Computer Engineering, Ankara, Türkiye

³Middle East Technical University, CanSyL, Graduate School of Informatics, Ankara, Türkiye

⁴University College Dublin, School of Chemistry, Dublin, Ireland

⁵University of Durham, Department of Chemistry, Durham, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland

⁶University of Chicago, Section of Pulmonary and Critical Care Medicine, Chicago, United States of America

Amaç: LIM kinazlar (LIMK) hücre hareketliliğinin düzenlenmesinde, hücre döngüsü ilerlemesinde ve aktin filamentlerinin dinamiğinde önemli bir rol oynar. LIMK'lar, aktin depolimerizasyon proteini Cofilin'i fosforile ederek inaktif hale getirir. Hücre migrasyonunda önemli bir rol oynadığı için LIMK'lar kanser ilaç araştırmalarının hedefi haline gelmiştir. Bu çalışmada, ilaç keşfi için dizayn edilmiş protein-bileşik bağlantılarını hedef alan yeni bir sanal tarama yöntemi olan "DRUIDom" (DRUG Interacting Domain tahmini) kullanılarak ve PI3K/AKT yolağı hedef alınarak yeni LIMK inhibitörleri (LIMKi) keşfedilmiştir. Bu moleküllerin sentezleri ve biyoaktivite analizleri ile deneysel olarak in vitro etkileri hepatosellüler karsinoma (HSK) hücre hatlarında çalışılmıştır.

Yöntem: DRUIDom sanal tarama yöntemiyle keşfedilen LIMKi'lerin sitotoksik etkileri HSK hücre hatlarında (Huh7 ve Mahlavu) Sulforhodamine B (SRB) ve xCelligence SP Gerçek Zamanlı Hücre Analiz Sistemi ile test edilmiştir. Moleküllerin sitotoksiteleri ölçülmüş, IC50 dozları diğer deneylerde de kullanılmak üzere belirlenmiştir. Bileşiklerin LIMK yolu üzerindeki hedef proteinleri baskılayıcı etkileri Western Blot (WB) analizi ile test edilmiştir. Son olarak, inhibitörlerin, metastazın bir sonucu olan kanser hücrelerinin hücresel göçünü nasıl etkilediğini göstermek için gerçek zamanlı hücre göçü deneyi ve yara iyileşmesi deneyi yapılmıştır.

Sonuç: Keşfedilen LIMKi'lerin ve türevlerinin LIMK ve alt yolağında bulunan Cofilin fosforilasyonunu engellediği gösterilerek moleküllerin hedeflerine yönelik baskılayıcı özellikleri kanıtlanmıştır. Bu inhibitörlerin önemli bir özelliği ise kanser hücrelerine özgün olup normal hücrelere (HEK297) sitotoksik etki göstermemeleridir. Gerçek zamanlı hücre göç analizi ve yara iyileşme analizi sonuçları benzer şekilde agresif özellik gösteren Mahlavu hücre hatlarında da migrasyon özelliğini ciddi ölçüde baskılamıştır. Bu etki kanser hücre invazyonunu engellemek için çok önemlidir.

Tartışma: Bulunan sonuçlar, DRUIDom'un belirlenen hedefler için ilaç aday bileşiklerini tanımlamak için kullanılabileceğini göstermiştir. Genel olarak, keşfedilen bu inhibitörlerin kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri ve invazyonu baskılayıcı özellikleri sebebiyle hepatosellüler kanser tedavisi için yeni bir yaklaşım olabileceğini öngörülmektedir.

Anahtar Kelime: Hepatosellüler Karsinoma, LIM Kinaz, in silico ilaç keşfi, küçük moleküllü inhibitörler

Tirozin Kinaz Tedavisi Almakta Olan Kronik Miyeloid Lösemi Olgularında Nonklonal Kromozom Anomalilerinin Değerlendirilmesi

R. Dilhan Kuru¹; Ayşe Çirakoğlu¹; Şükriye Yılmaz¹; Deniz Özmen²; Aydın Habibi²; Didem Gülhan²; Emre Eşkazan²; Ayhan Deviren¹; Yelda Tarkan Argüden¹

¹İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Nonklonal kromozom anomalileri (NKKA) stokastik bir oluşum ve arka plan artefaktı olarak kabul edilmekteyken, son araştırmalar NKKA'ların kanser gelişiminde rol oynayan kromozomal instabiliteye yol açabileceği -ne işaret etmiştir, bu durum yeni bir bakış açısı kazandırmıştır.

Tirozin kinaz tedavisi almakta olan kronik myeloid lösemi (KML) olgularının nonklonal kromozom sayı ve yapı düzensizlikleri açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Ortanca yaşı 48 (16-83) olan, 95'i erkek 52'si kadın 147 KML olgularına ait sitogenetik sonuçlar ve klinik bulgular retrospektif olarak incelenmiştir. Çalışmada, olguların takipleri sırasında farklı zamanlarda yapılan sitogenetik analizlerde tekrarladığı gözlenen NKKA'lar değerlendirilmeye alınmıştır.

Sonuçlar: İncelenen 147 olgudan halen tirozin kinaz tedavisi ile takip edilen 70, ve ölüm gerçekleşen 30 olgudan oluşan iki grup değerlendirmeye alınmıştır. Çalışılan ilk örnekleri dikkate alındığında, tam yanıtlı 70 olgunun 15'inde (%21) Ph(+), 5'inde (%7) Ph(+)/(-), 47'sinde (%67) Ph(-), 2 olguda (%3) varyant Ph gözlenmiştir. Bu grupta, tekrarlayan NKKA sayısı 2-27 arasında gözlenmiş, Ph(-) olgularda bu sayının daha yüksek olduğu dikkati çekmiştir. NKKA çoğunlukla kromozom kaybı şeklinde olup, en sık 19, 20, 10, 14.kromozomların kaybı saptanmıştır. İki olguda (%3) yapısal NKKA gözlenmiştir.

Tedavi alan ancak kaybedilen 30 olgunun 24'ünde (%80) Ph (+),birinde (%3) Ph(+)/(-) ve 5'inde (%16) Ph(-) gözlenmiştir. Bu grupta, tekrarlayan NKKA sayısı 1-40 arasında değişmektedir. Bu grupta da NKKA'lar, çoğunlukla kromozom kaybı şeklinde gözlenmiş, en fazla kromozom kaybı sırasıyla 19, 21 ve 20.kromozomlarda saptanmıştır. Dört olguda (%13) yapısal NKKA gözlenmiştir. İki grup karşılaştırıldığında tedaviye tam yanıt alınan grupta daha fazla sayıda farklı kromozom kayıpları bir arada gözlenirken, tedavi sırasında kaybedilen olgularda ise daha fazla kromozom yapı düzensizlikleri saptanmıştır. İki grupta da NKKA'ların bazılarının, olguların sonraki gelişlerinde klonalleştiği gözlenmiştir.

Tartışma: Son araştırmalar, NKKA'ların kanser gelişimine katkıda bulunan temel bir mekanizma olarak önermekte ve kanserli olgularda artan NKKA'lar ile kısa sağ kalım süresi arasında ilişki kurulmaktadır. Hasta grubumuzda, sayısal ve yapısal en fazla NKKA yükü tedavi sırasında kaybedilen olgulardadır. Sonuç olarak, çalışmamız son yıllara kadar arka plan artefaktı olarak görülen NKKA'ların kanser sitogenetiğinde dikkate alınması gereken önemli bulgular olduğunu vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Tirozin kinaz tedavisi, Kronik miyeloid lösemi, Nonklonal kromozom anomalileri, Sitogenetik

Pleomorfik Adenom Gen Benzeri 2'nin (PLAGL2) Keratinositlerde Apoptozis Üzerindeki Katkısının Analizi

Ümit Uzun¹; Tuba Dinçer²

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye

²Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye

Amaç: Cildin en dış tabakası olan epidermisin kendini yenileme özelliği bulunur. Bazal tabakada sürekli olarak yeni deri hücreleri üretilir, üretilen bu hücreler olgunlaşır ve alttan gelen yeni hücrelere yer açmak için apoptoza uğrarlar. Bu süreç esnasında apoptoz düzenlenmesindeki aksaklıklar genellikle cilt gelişim anormallikleri ve deri hastalıkları ile ilişkilendirilmiştir. Bir çinko-parmak transkripsiyon faktörü olan Pleomorfik adenom gen benzeri 2 (PLAGL2)'nin farklı hücre türlerinde apoptozu düzenlediği gösterilmekle beraber keratinositlerde apoptoz üzerine etkisine yönelik bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı PLAGL2'nin keratinosit-ilişkili apoptozdaki rolünü deri homeostazı açısından araştırmaktır.

Materyal ve Metot: İnsan keratinosit HaCaT hücrelerinde PLAGL2 ekspresyonunu susturmak için CRISPR/Cas9n sistemi uygulandı. CRISPR/Cas9n aracılığıyla oluşan insersiyon ve delesyonları (INDEL'ler) her iki alelede de tanımlamak için klonlama ve Sanger dizileme yöntemleri kullanıldı. PLAGL2 ekspresyonu PLAGL2 knock-out klonlarında ve kontrol hücrelerinde PLAGL2 antikorunu kullanılarak yapılan Western blot yöntemi ile analiz edildi. Apoptoz analizleri için, Annexin-V/Propidium iodide (PI) ile boyanan hücrelerin akış sitometrisi ile ölçülmesi ve Kaspaz3, PARP gibi apoptotik belirteç seviyelerinin Western blot yöntemiyle belirlenmesi yaklaşımları kullanıldı.

Sonuçlar: PLAGL2'nin CRISPR/Cas9n ile hedeflenmesinin ardından, PLAGL2 ifadesinin susturulduğu Western blot ile gösterilen klonlar INDEL'ler için analiz edildi ve her iki alelinde de çerçeve kayması mutasyonlarına neden olan INDEL'lere sahip iki klon seçilerek apoptoz analizleri için kullanıldı. Annexin-V/PI boyama ve apoptotik belirteç analizleri sonuçları PLAGL2 ifadesinin susturulduğu HaCaT hücrelerinde kontrol hücrelere kıyasla apoptozun belirgin ölçüde arttığını gösterdi.

Tartışma: Transkripsiyon faktör PLAGL2'nin susturulmasının keratinositlerde apoptozu indüklemesi, PLAGL2'nin keratinosit sağkalımını düzenleyerek epidermal homeostazın kontrolünde rol oynayabileceğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: CRISPR-Cas sistemleri, gen knock out, HaCaT hücreleri, PLAGL2 protein, programlanmış hücre ölümü.

Bilim Kurulu'na Not: Bu çalışma, yürütücülüğünü Doç. Dr. Tuba DİNÇER yaptığı KTÜ BAP06, Lisansüstü Tez Projesi kapsamında TDK-2021-9752 No'lu proje ile desteklenmiştir.

Progesteron Reseptör Geninin V660L Gliomlarda Hastalık Özellikleri ile İlişkisi

Merve Nur Aksakal¹; Adil Meriç Altınöz²; Mahmut Özden³; Melih Bozkurt³; Özlem Kurnaz Gömleksiz^{4,5}

¹Altınbaş University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Türkiye

²Acıbadem University, Department of Medical Biochemistry, Istanbul, Türkiye

³Memorial Bahçelievler Hospital, Department of Neurosurgery, Istanbul, Türkiye

⁴Altınbaş University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Türkiye

⁵Altınbaş University, Central Research Laboratory (AU-MERLAB), Istanbul, Türkiye

Amaç: Primer MSS neoplazmalarının en yaygın türü olan gliomlar, glial hücrelerden türemektedir. Gliomlar seks steroidlerinden etkilenebilir. Progesteron, östrojenle birlikte çalışarak nöronal uyarılabilirliği, öğrenmeyi ve glial hücrelerin neoplastik proliferasyonunu etkiler. Progesteronun düşük dozları glioma büyümesini uyarırken, yüksek dozları antiproliferatif etki gösterir. Progesteron reseptörleri (PGR) beyinde bulunur ve progesteron etkilerinden sorumludur. Ekzon4'teki PGR V660L (rs1042838) missense substitüsyonu glioma ile kapsamlı olarak çalışılmamıştır. Bu çalışmada rs1042838 ve PGR düzeylerinin gliomların patolojik özellikleri ile ilişkili olup olmadığını belirlemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: 105 glioma hastasında PGR düzeyleri ELISA ile ölçüldü ve rs1042838 allelik ayırım testiyle tespit edildi.

Sonuçlar: Yüksek dereceli gliomlar kadınlara (%32,4) kıyasla erkeklerde (%67,6) daha fazla gözlenmiştir (p=0,05;OR:2,207;CI95%:0,971-5,015). Yüksek dereceli gliomlarda CC genotipleri (%74,6) nadir A aleline (%25,4) göre daha yüksekti (p=0,183). Yüksek dereceli gliomlar A aleli taşımayan (CC genotipi) erkeklerde (%84,4) A aleli taşıyanlara (AA+CA) (%15,6) göre daha yüksekti.(p=0,044;OR:0,289;CI95%:0,093-1,004). Glioma dokularında kadınlarda erkeklere göre daha yüksek PGR düzeyleri saptanmıştır (3.545±1.67ng/ml vs.2.70±1.70ng/ml;p=0.022). A aleli taşıyıcıları, taşıyıcı olmayanlara (CC) göre daha yüksek PGR seviyelerine sahipti (3.73±1.54 vs 2.81±1.73;p=0.022).IDH mutanti olan kadınlarda IDH-Wild'a göre daha yüksek PGR seviyeleri gözlemlendi (p=0,032).Yüksek dereceli gliomlar düşük derecelere göre daha yüksek Ki67'ye sahipti (p<0,001). Yüksek dereceli kadınlarda düşük dereceli kadınlara göre daha yüksek Ki67 vardı. C-allel taşıyıcısı kadınlarda AA'lı kadınlara göre Ki67<%20 daha fazlaydı(p=0,034). C-allel taşıyıcılarında p53-wild olan gliomlar AA'lara göre daha yüksekti (p=0,05;OR:0,167;CI95%:0,028-0,997). IDH-mutasyonu (p=0.020;OR:8.167;CI95%:1.419-4.702) ve ATRX mutasyonu içeren gliomlar A-aleli taşıyan kadınlarda CC taşıyanlara göre daha yüksekti (p=0.022;OR:13.333;CI95%:1.280-138.845).

Tartışma: rs1042838 nadir A-alleli, kadınlar ve IDH-mutant hastalar gliomlarda yüksek PGR seviyeleri göstermiştir. A-allel taşıyıcı kadınlarda iyi prognozla ilişkili IDH ve ATRX mutasyonları vardı. Yüksek PGR düzeyleri iyi prognoz ile ilişkili olabilir. Bulgularımız, rs1042838 nadirA-allelinin gliomlar için iyi bir prognoz faktörü olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışma gliomlarda PGR rs1042838'in önemini gösteren ilk ve ön çalışmadır.

Anahtar kelimeler: Glioma, progesteron reseptör geni, progesteron reseptör düzeyleri, V660L varyasyonları.

Tablo-1: Glioma Hastalarının Tümör Derecesine Göre Özellikleri

	Yüksek derece	Düşük derece	p-değeri
Erkek n (%)	46 (67,6%)	18(48,6%)	0.05
Kadın n (%)	22 (32,4%)	19(51,4%)	
A alleli (AA+CA) n (%)	17 (25,4%)	14(37,8%)	0.183
A alleli taşımayan (CC genotipi) n (%)	50 (74.6%)	23(62.2%)	
A alleli taşıyan erkek n (%)	7 (15.6%)	7 (38.9%)	0.044
A alleli taşımayanlar (CC)	38 (84.4%)	11(61,1%)	
Ki67 (%)	26.0±18.29	5.58±5.52	<0.001
Yaş	46.81±17.47	35.14±16.05	<0.001
IDH wild n (%)	36 (69,2%)	9 (34.6%)	0.004
IDH mutant n (%)	16 (34.6%)	17 (65.4%)	
ATRX wild n (%)	43 (72.9%)	16 (27.1%)	0.032
ATRX mutant n (%)	6 (42.9%)	8 57.1%)	

Tablo-2. Glial tümörlerde PGR seviyesi

Glioma	Doku PGR düzeyi (ng/ml)	p
Kadın	3.45±1,67	0.022
Erkek	2.70±1,70	
A alleli taşıyan	3.73±1.54	0.022
A allele taşımayan (CC)	2.81±1.73	
Kadınlarda Glioma		
IDH wild	3.05±1.68	0.032
IDH mutant	4.78±1.81	

Bilim Kuruluna Not: Bu çalışma Altınbaş Üniversitesi tarafından PB2020-TIP-3 numaralı bilimsel araştırma projesi fonu ile desteklenmiştir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi
Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Poster Bildiriler

Prostat Kanseri Hücrelerinde Androjen ile Ölüm Reseptör Ligandı (PD-L1) Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

Narmin Najafzade⁴; Emre Özgür¹; Sema Bilgiç Gazioğlu²; Hatice Tıǧlı³; Eda Yılmaz¹; Ebru Esin Yörüker¹

¹İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³İstanbul Gelişim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İstanbul, Türkiye; ⁴İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

Prostat kanseri gelişiminde androjen önemlidir ve reseptörü aracılığıyla kanserin ilerlemesine neden olur.

Konağın tümör hücrelerine karşı bağışıklık cevabını azaltan PD-L1, kanser hücrelerinin çoğalma yollarını etkinleştirir. PD-L1'in pro-tümörjenik bir etkisi vardır.

PD-1/PD-L1'i hedef alan kanser tedavisi, hormona dayanıklı prostat kanseri hastaları için umut verici bir tedavi alternatifi olarak kabul edilebilir.

Çalışmanın amacı prostat kanseri hücre hattı olan LNCaP ve LNCaP AR++ hücre hatlarına dihidrotestosteron ve enzalutamidin ayrı ayrı veya birlikte verilmesi ile PD-L1 anlatımında mRNA düzeyinde meydana gelen değişiklikleri belirlemektir.

Çalışmadan çıkan sonuca göre her iki hücre soyunda da PD-L1 anlatımında DHT ile hormonal olarak androjen yolağının uyarmasının hiçbir etkisinin olmadığı gösterildi. Çalışmamızda Enzalutamid ile AR yolağının baskılanması ile PD-L1 anlatımının LNCap hücrelerinde önemli oranda eksildiği; LNCap-AR+ hücrelerinde ise farklılık yaratmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Prostat kanseri, Androjenler, Gen ekspresyonu, PD-L1

Kistik Fibrozis Hastalarında Mitokondriyal DNA Mutasyonu Olan M.1555A>G ile Aminoglikozit Ototoksitesisi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Zülal İlayda Gökırmak¹; Didem Dayangaç Erden¹; Halime Nayır Büyükaşahin²; Ebru Yalçın²; Nural Kiper²; Uğur Özçelik²; Deniz Doğru²; Nagehan Emiralioğlu²; İbrahim Emir Yeşil⁴; Selvet Akkaplan³; Serdar Özer⁴; Görkem Ertuğrul³; Gonca Sennaroğlu³

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Odyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁴Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz, Baş ve Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Amaç: Kistik fibrozis beyaz ırkta görülen, CFTR genindeki mutasyonların sebep olduğu otozomal resesif kalıtılan genetik bir hastalıktır. Kistik fibrozis tedavisinde kullanılan aminoglikozitler, hastalarda yan etki olarak işitme kaybına neden olmaktadır. Mitokondriyal DNA'da MTRNR1 genindeki m.1555A>G mutasyonunun aminoglikozit ilişkili işitme kaybına neden olduğu bilinmektedir. Bu sebeple hastalara aminoglikozit tedavisi uygulanmadan önce hastaların mutasyonlar açısından taranması kistik fibrozis hastalarında büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmadaki amacımız, kistik fibrozis hastalarında MTRNR1 geninde aminoglikozit ototoksitesisi ile ilişkili en yaygın m.1555A>G mutasyonunun sıklığını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza kistik fibrozis hastası, aminoglikozit kullanım öyküsü olan/olmayan retrospektif olarak seçilen 119 hasta dahil edildi. Hastalar otorinolaringolojik bulgular, odyolojik bulgular ve aminoglikozit kullanımı gibi klinik özelliklere göre sınıflandırıldı. m.1555A>G mutasyonu, PCR-RFLP yöntemi kullanılarak analiz edildi. Mutasyon bölgesini içeren 248 bç'lik PCR ürünleri 16 saat boyunca 55 °C'de BsmAI enzimi ile inkübe edildi.

Sonuçlar: 119 hastanın 97'sinde aminoglikozit kullanımı bulunmuş olup; 22 hastada bulunmamaktadır. Aminoglikozit kullanan 13 hastada işitme kaybı tespit edilmiştir. 11 hastada ise yüksek frekanslı işitme kaybı (> 8kHz) görülmüştür. 106 hastanın işitme testi ise normal bulunmuştur. 119 hasta m.1555A> G mutasyonu açısından taranmış ve mutasyon saptanmamıştır.

Tartışma: Aminoglikozit ototoksitesisine rağmen MTRNR1 gen mutasyon taramaları ülkemizde rutin olarak yapılmamaktadır. Hasta sayısı artırılarak devam edeceğimiz araştırma sonuçlarımıza göre aminoglikozit kullanmadan önce kistik fibrozis hastalarında mutasyon taramalarının hasta tanı ve izleme rehberlerinde yer alması planlanmaktadır. Mutasyon sıklıkları ile işitme kaybı parametrelerinin birlikte değerlendirilmesi ile kistik fibrozis hastalarında kişiye özgü tedavi yaklaşımı geliştirilmiş olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kistik Fibrozis, CFTR geni, Aminoglikozitler, Ototoksitesite, MTRNR1.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Meme Kanseriinde SRP9 Gen İfadesinin Perinöral İnvazyon ile İlişkisi

Sare Burcu Kaya¹; Mehmet Güven¹; Canan Kelten²

¹Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Department of Medical Biology,, İstanbul, Türkiye

²Ministry of Health, Istanbul Education and Research Hospital, Department of Pathology, İstanbul, Türkiye

Amaç: Meme kanseri dünya genelinde kadınlar arasında en fazla gözlenen ve aynı zamanda ölüme yol açan kanser türüdür. Kanser oluşumunda sadece hücresel genomda meydana gelen mutasyonların değil, aynı zamanda gen ekspresyonunu düzenleyen post-transkripsiyonel ve translasyon mekanizmalarındaki bozulmaların da etkili olduğu bilinmektedir. Sinyal tanıma partikülü (STP), salgı veya membran proteinlerinin sentezi sırasında endoplazmik retikulum (ER) membranına ko-translasyonel translokasyonuna aracılık etmektedir. Ayrıca, ER zarına aktarıncaya kadar protein sentezinin uzamasını durdurularak hatalı sentez veya katlanmayı da önler. SRP9, SRP'nin altı protein alt biriminden biridir ve SRP14 ile heterodimerik bir yapı oluşturarak uzamayı durdurma fonksiyonunda görev alır. Böylece, SRP9 salgı veya zar proteinlerin hatalı katlanması veya yanlış modifikasyona uğramasını engelleyerek; post-transkripsiyonel ve translasyonel düzeyde gen ifadesinin düzenlenmesi sürecinde kritik bir rol oynamaktadır. Bu bilgilerden yola çıkarak; çalışmamızın amacı meme kanserli hastaların sağlıklı ve tümörlü dokularında SRP9 gen ifadesindeki değişimleri araştırmak ve klinopatolojik bulgular ile karşılaştırarak olası prognostik önemini ortaya çıkarmaktır.

Gereç ve Yöntem: 49 meme kanseri hastasından elde edilen tümörlü ve komşusu olan sağlıklı doku örneklerinde SRP9 gen (mRNA) ifade düzeyleri "Kantitatif Gerçek Zamanlı-PCR" ile analiz edilmiş ve SRP9 gen ifadesinde saptanan değişimler, ki-kare istatistiksel analiz methodu kullanılarak hastalara ait klinopatolojik bulgular ile karşılaştırılmış ve anlamlılık ilişkisi yönünden incelenmiştir.

Sonuç: Tümörlü ve normal dokular arasında SRP9 gen ifadesi açısından anlamlı bir fark bulunmamış olmasına rağmen ($p=0,762$), SRP9 gen ifadesindeki artış ile perinöral invazyon arasında anlamlı bir olduğu tespit edilmiştir. ($p=0,041^*$).

Tartışma: SRP9 disfonksiyonu, salgı veya membran proteinlerinde herhangi bir gen mutasyonuna sahip olmasından bağımsız olarak, protein ekspresyonunlarını hatalı düzenlemesi yoluyla meme kanseri hücrelerinin metastaz ve tedaviye direnç oluşturmada önemli bir rol oynayabilir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, sinyal tanıma partikülü 9, gen ifadesi, perinöral invazyon.

Monoamin Oksidaz A ve SLC6A4 Genlerindeki Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Obsesif-Kompulsif Bozukluk İle İlişkisi

Jansed Berfin Yıldız¹; Efruz İrem Akkuş¹; Neşe Kocabaşoğlu²; Müjgan Cengiz¹

¹Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Türkiye

²Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Department of Psychiatry, Istanbul, Türkiye

Amaç: Obsesif-kompulsif bozukluk (OKB) kontrol edilemeyen, takıntılı düşünceler (obsesyonlar) ve tekrarlayan, zorlantılı davranışlarla (kompulsiyonlar) karakterize psikiyatrik bir durumdur. Serotonin, insan beyinde yaygın olarak bulunan kimyasal bir nörotransmitterdir. Serotonin seviyeleri intranöronal monoamin oksidazlar (MAO) tarafından kontrol edilmektedir. Monoamin oksidaz A (MAO-A), serotonin, noradrenalin ve dopamini metabolize ederek beyindeki monoamin seviyelerini düzenlemektedir. MAO-A enzimi, OKB de dahil olmak üzere diğer çeşitli psikiyatrik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir. Solut taşıyıcı aile 6 üye 4 (SLC6A4) geni serotonin taşıyıcı proteinini kodlar ve OKB gelişimi için aday bir genidir.

Yöntemler: Serotonerjik sistem genetiğinin OKB ile ilişkili aday genleri arasında yer alan MAO-A'daki rs909525 ve SLC6A4'teki rs16965628'in tek nükleotid polimorfizm (SNP) analizleri gerçek zamanlı PZR ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma grupları OKB tanısı almış 95 hasta ve 70 sağlıklı gönüllüden oluşmaktadır. Hasta grubunda hastalığın şiddeti uzman bir psikiyatrist tarafından uygulanan Yale-Brown Obsesif Kompulsif Ölçeği ile belirlenmiştir.

Bulgular: Deney grubunu yaş ortalaması 32.92 ± 10.01 olan 56 kadın ve 39 erkek hasta oluşturmaktadır. Kontrol grubuna, yaş ortalaması 31.73 ± 9.08 olan 35 kadın ve 35 erkek gönüllü dahil edilmiştir. OKB hastaları ve sağlıklı kontrollerin karşılaştırılması sonucunda MAO-A'daki rs909525 (C/T) polimorfizminin genotip dağılımları arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0.001$). Benzer şekilde, çalışma gruplarında SLC6A4'teki rs16965628 (G/C) polimorfizminin genotip dağılımları arasında anlamlı bir fark elde edilmiştir ($p < 0.001$).

Sonuç: Hasta ve kontrol gruplarında MAO-A ve SLC6A4 polimorfik genotip dağılımlarının karşılaştırılması anlamlı veriler sağlamış ve bu genlerin OKB ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. Bu çalışmanın serotonerjik sistem genetiği mekanizmalarının OKB gelişimi üzerindeki etkilerinin anlaşılmasında yardımcı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Monoamin oksidaz A, obsesif kompulsif bozukluk, serotonin, SLC6A4, tek nükleotid polimorfizmi



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Trastuzumab Dirençli Meme Kanseri Hücrelerinde miR-770-5p'nin KDM5B/HER2 Ekseni Üzerindeki Rolü

Senem Noyan¹; Hakan Gürdal²; Bala Gür Dedeoğlu¹

¹Ankara University, Biotechnology Institute, Ankara, Türkiye

²Ankara University, Department of Pharmacology, Ankara, Türkiye

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen malignitedir ve çeşitli tedavi stratejilerinin geliştirilmesine rağmen halen kadınlarda akciğer kanserinden sonra kansere bağlı ölümlerin ikinci en sık nedenidir. HER2 pozitif meme kanseri alt tipinde (HER2+) ERBB2 geninin aşırı ekspresyonu meydana gelir ve HER2'ye yönelik tedaviler HER2+ meme kanseri tedavisinde başarıyla kullanılmaktadır. Trastuzumab HER2+ meme kanserinde bir tedavi seçeneği olarak kullanılmasına rağmen tümör hücrelerinde moleküler karşılıklı etkileşim mekanizmaları nedeniyle bu ilaca direnç gelişmesi kaçınılmazdır. mikroRNA'lar (miRNA'lar), spesifik hedef genlerin ekspresyonunu düzenleyen kısa kodlamayan RNA'lar olup ilaç direncinde miRNA ekspresyon modülasyonunun rolü bilinmektedir. Önceki verilerimizde HER2+ meme kanseri hücre hatlarında trastuzumab ve lapatinibe cevap olarak artan tek miRNA miR-770-5p olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada miR-770-5p'nin trastuzumab dirençli HER2+ meme kanseri hücrelerinde ilaç etkinliği üzerine KDM5B aracılı etkisinin moleküler karakterizasyonunun incelenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda trastuzumab duyarlı ve dirençli BT-474 hücrelerinde real-time hücre proliferasyonu izlenmiş ve miR-770-5p varlığında dirençli hücrelerde trastuzumab hassasiyetinin geri kazanıldığı görülmüştür. Ek olarak ilaç direncinde yer alan bir mekanizma olarak EMT süreci incelenmiş ve miR-770-5p'nin Vimentin, KDM5B ve HER2 protein seviyesi anlamlı şekilde azaldığı belirlenmiştir. miR-770-5p'nin trastuzumab direncinde artan KDM5B'yi hedefleyerek hücreleri trastuzumab-duyarlı hale getirebileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: HER2+ meme kanseri, miR-770-5p, trastuzumab direnci.

Bilim Kurulu'na Not : Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (DOSAP, Proje No: TDS-2022-2401)

Oral Skuamöz Hücreli Karsinomda Makrofaj Kaspaz-1 Aktivitesi, T Yardımcı Hücre Fonksiyonunu Baskılayarak İmmün Hücre İnfiltrasyonunu Destekler

Mine Çamlıbel¹; Abdurrahman Şimşek²; Muhammed Ali Kızmaz²; Çağla Tekin¹; Melis Erçelik¹; Ferah Budak²; Özlem Saraydaroğlu³; Mustafa Aslıer⁴; İlnur Salafutdinov⁵; Bahareh Dabirmanesh⁶; Berrin Tunca¹; Svetlana F. Khaiboullina⁵; Gülçin Tezcan⁷

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

³Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

⁴Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

⁵Kazan Federal Üniversitesi, Temel Tıp ve Biyoloji Enstitüsü, Kazan, Russian Federation

⁶Tarbiat Modares Üniversitesi, Biyokimya Bölümü, Biyolojik Bilimler Fakültesi, Tahran, Iran (Islamic Republic of)

⁷Bursa Uludağ Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Bursa, Türkiye

Amaç: Çeşitli patojenik faktörlerin başlattığı çok aşamalı bir süreç oral skuamöz hücreli karsinomun (OSCC) oluşumunu tetikleyen proinflamatuvar veya immüno-supresif bir ortamının oluşmasına yol açmaktadır. Konağın mikrobiyal enfeksiyona tepkisine aracılık eden mekanizmalardan biri NOD-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3) inflamazom kompleksidir. NLRP3, prokaspaz-1'in proteolitik bölünmesini gerçekleştirir. Bununla birlikte, NLRP3 ve aktif kaspaz-1'in OSCC' de inflamatuvar hücre trafiği ve immün hücre infiltrasyonu üzerindeki etkisi tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, periferik makrofaj kaspaz-1 aktivitesinin makrofaj ve T yardımcı hücre popülasyon sıklığı, NLRP3 eksprese eden tümörle ilişkili makrofaj (TAM) ve nötrofil (TAN) infiltrasyonu ve OSCC tümör agresifliği üzerindeki rolü araştırılmıştır.

Yöntemler: Çalışmaya 8 OSCC hastası ve 8 sağlıklı gönüllü davet edildi. Makrofajların (CD14+, CD11b+), kaspaz-1 aktivitesi Caspase-1 (aktif) Boyama Kiti (ab219935, Abcam, ABD) kullanılarak belirlendi. Periferik makrofajların ve (CD3+, CD4+) T yardımcı hücrelerinin popülasyon oranları, akım sitometride belirlendi. İmmünohistokimya yöntemi ile TAM ve TAN hücrelerinin NLRP3 ekspresyon düzeyleri gözlemlendi. Makrofajların kaspaz-1 aktivitesi ve bağışıklık hücresi popülasyon sıklıkları arasındaki ilişki bağımsız T testi ile analiz edildi. Periferik hücrelerin kaspaz-1 aktivitesi ile TAM ve TAN hücrelerinin NLRP3 ekspresyonu arasındaki ilişki Pearson'ın korelasyon analizi ile belirlendi. Çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi yerel etik kurulu tarafından onaylanmıştır (2021-7/40).

Bulgular: OSCC hastalarında makrofaj kaspaz-1 aktivitesi sağlıklı kontrole göre arttı (p=0,002). OSCC hastalarında sağlıklı kontrollere göre periferik makrofaj sayısı artarken (p<0,001), CD4(+) T hücrelerinde azalma gözlemlendi. OSCC hastalarının periferik makrofajlarında artan kaspaz-1 aktivitesi ile tümör dokuda NLRP3 eksprese eden TAM ve TAN hücreleri arasında pozitif bir korelasyon saptandı (p<0,001).

Sonuç: Bulgularımız, makrofaj kaynaklı kaspaz-1 aktivasyonunun CD4(+) T hücre üretiminin azalmasına ve NLRP3 eksprese eden TAM ve TAN infiltrasyonunun artmasına yol açarak anti-tümör...



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi

Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



immün yanıtı baskılayabileceğine ve bu yolla tümör agresifliğini arttırabileceğine işaret etmektedir.

Anahtar kelimeler: KASPAZ-1, makrofaj, oral skuamöz hücreli karsinom.

Bilim Kuruluna Not: Bu araştırma, Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından finanse edilmiştir (TOA-2021-569).



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Meme Kanseri Hücrelerinde Tamoksifen ve Epibrasinolidin Kombine Tedavisiyle Endoplazmik Retikulum Stresine Bağlı Apoptotik Hücre Ölümü Düzeyi Artmıştır

Zeynep Demirel^{1,2}; Ünal Arabacı¹; Recep Gündoğdu¹; Sahure Üyümez¹; Nursena Cıncık¹; Pınar Obakan Yerlikaya^{1,2}

¹İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Mühendislik ve Doğal Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Bilim ve İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİLTAM), İstanbul, Türkiye

Amaç: Epibrassinolid (EBR), brassinosteroidlerin bir üyesi olup memeli steroid hormonlarına benzer bir yapıya sahip bitki büyüme düzenleyicisidir. Son verilerimiz, EBR'nin sağlıklı hücreleri veya fareleri etkilemeden kanser hücre hatlarında veya ksenograft kolon kanseri fare modellerinde kanser önleyici etkileri olduğunu göstermiştir. Endoplazmik retikulum (ER) stresi, stresin büyüklüğüne ve süresine bağlı olarak farklı tepkiler oluşturabilen katlanmamış/yanlış katlanmış proteinlerin ER lümeninde birikmesinden kaynaklanan hücresel bir olaydır. Tamoksifen (TAM), östrojen reseptörü pozitif meme tümörlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir kemoterapötik ilaçtır. İlaç direnci, hem tümör heterojenliği hem de uzun süreli TAM kullanımı nedeniyle kanser hücrelerinde ortaya çıkar. Bu çalışmanın amacı, EBR varlığında, özellikle MDA-MB-231 üçlü negatif ve MCF-7 meme kanseri hücrelerinde, ER stresin ve apoptozun TAM tarafından artırılabilirliğini göstermektir.

Metotlar: Hücre canlılığının saptanması için MTT testi yapıldı. Koloni oluşum testi ve asılı damla, 2B ve 3B olarak koloni oluşturma kabiliyetini göstermek için kullanıldı. DiOC6, PI ve DAPI floresan boyaları hücre ölümünü saptamak için kullanıldı. Protein ifade profillerini tespit etmek için immünoyotlama yapıldı.

Bulgular: EBR ve TAM'ın kombine tedavisi, tek başına EBR veya TAM uygulamasına kıyasla istatistiksel anlamlı şekilde hücre canlılığı kaybını MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde arttırmıştır. Koloni oluşumu ve asılı damla yöntemi de TAM'ın EBR kombinasyonu ile artırılmış inhibitör etkisini kanıtlamaktadır. Kombine tedavi ile DNA kondensasyonu ve hücre ölüm düzeyinin de anlamlı şekilde arttığını belirledik. Son olarak, ER stresi ve apoptoz biyobelirteçlerinin ifade profillerinin, her iki ilaca maruz kalma ile arttığı bulunmuştur.

Tartışma: Sonuçlarımız, EBR'nin özellikle ilaca dirençli meme kanseri hücrelerinde TAM yanıtını yükselten etkili bir ajan olabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Endoplazmik retikulum stres, epibrasinolid, ilaç direnci, tamoksifen.

MCF-7 ve MDA-MB-231 Meme Kanseri Hücrelerinde Tamoksifen Direnci Epibrasinolid Kombinasyonu ile Endoplazmik Retikulum Stresinin Tetiklenmesi Yoluyla Engellenmiştir

Nilay DİNÇKURT^{1,2}; ESRANUR KOPAL^{1,2}; ZEYNEP DEMİREL^{1,2}; ÜNAL ARABACI¹; RECEP GÜNDOĞDU¹; PINAR OBAKAN YERLİKAYA^{1,2}

¹İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Mühendislik ve Doğal Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Bilim ve İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİLTAM), İstanbul, Türkiye

Amaç: Hormon tedavisi, hormonla ilgili meme kanserinin büyümesini yavaşlatmak ya da durdurmak için önerilen tedavi stratejilerinden biridir. Tamoksifen (TAM), hormon pozitif meme kanseri için östrojen reseptör aktivasyonunu engellemek için tercih edilen bir terapötik ajandır. TAM direnci ilaç akışında artış, anti-apoptotik protein ifadeleri, ilaç metabolizması vb. dahil olmak üzere çeşitli nedenlerden dolayı ortaya çıkabilir. Epibrasinolid (EBR) grubumuz tarafından endoplazmik retikulum (ER) stres induksiyonu aracılığıyla bir anti-kanser ajanı olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma, ER stresinin meme kanserinde ilaç direncinin kırılmasına yardımcı olduğunu göstermeyi hedeflemektedir.

Metotlar: Tauroursodeoksikolik asit (TUDCA) varlığında TAM ve/veya EBR tedavisinin etkisini göstermek için MTT hücre canlılık testi gerçekleştirildi. İlaç tedavilerinden sonra hayatta kalma oranlarını tespit etmek için tripan mavisi dışlama testi kullanıldı. SubG1 popülasyonlarını göstermek için akım sitometrisi kullanıldı. Son olarak, ilaç direnci ve ER strese rolü olan protein ifade profillerini göstermek için immünoiblota yapılmıştır.

Bulgular: TAM varlığında EBR tedavisi meme kanseri hücrelerinde hücre canlılığı kaybını arttırmış ve apoptozu indüklemiştir. Bu induksiyon ER stres inhibitörü olarak bilinen TUDCA tarafından engellenmiştir. EBR ve TAM tedavisi MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde subG1 popülasyon oranını artırmıştır. Hücrelerin kombine tedaviye maruz kalması TUDCA tarafından önlenebilen ER stres seviyelerini artırmış ve ayrıca meme kanseri hücrelerinde ilaç direnci proteinlerinden MRP1 ve MDR1'in ifadesini azaltmıştır.

Tartışma: TAM ve EBR ile kombinasyonu, ER stresini indüklenmesi yolu ile TAM duyarlılığını artırmak ve ilaç direncini azaltmak için kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Endoplazmik retikulum stres, epibrasinolid, ilaç direnci, tamoksifen.

Tamoksifen ve EBR Kombinasyonunun Meme Kanseri Hücre Hatlarında Otofajiyi Tetiklenmesi ve Bu Etkinin 3-Metiladenin İle Önlenmesi

Esranur Kopal^{1,2}; Özlem Recimoğlu¹; Ebubekir Berat Sizgi¹; Merve Akbalık¹; Pınar Obakan Yerlikaya^{1,2}

¹İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Mühendislik ve Doğal Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Bilim ve İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİLTAM), İstanbul, Türkiye

Amaç: Meme kanserinin moleküler düzeyde heterojenik yapısı meme kanserine karşı geliştirilen tedavi yöntemlerini etkilemektedir. Bu durum sıklıkla ilaca dirençli meme kanseri türlerinde yeterince etkili bulunmamıştır. Östrojen reseptör modülatörü olarak bilinen tamoksifen (TAM), östrojen pozitif meme kanseri türlerinde birincil uygulanan ilaçtır. Uzun süreli TAM kullanımı ilaç direncinin gelişmesine neden olmaktadır. Endoplazmik retikulum (ER) stresi bir çeşit hücre stres cevabıdır ve ilaç direncine karşı mücadele için önerilen bir mekanizmadır. ER stres seviyesi aynı zamanda hücrenin yaşamsal döngüsüyle otofaji veyahut apoptoz aracılığıyla güçlü bir ilişkidir. Evrimsel süreçte korunmuş mekanizma olan otofaji, stres altında zarar görmüş organellerin parçalanması tekrardan kullanımının sağlanmasında ve yanlış katlanmış proteinlerin lizozom yardımıyla ortadan kaldırılmasında rol almaktadır. Bitkilerde bulunan steroid türevli bir ajan olan epibrasinolid (EBR), literatürdeki çalışmalarda hücre türü ve stres seviyesine bağlı olarak apoptoz veya otofajiyi tetiklediğini daha önceki çalışmalarımızda tespit ettik. Bu çalışmada EBR'nin yalnız veya TAM ile kombinasyonun ER stres üzerinden otofaji ilişkisi farklı türden meme kanseri hücre hatları kullanarak incelenmiştir.

Yöntem: İlaçların otofajik etkisinin ortaya konması için MTT, MDC boyama sonrası floresan mikroskopi ve immunoblotlama tekniği kullanılmıştır. Ayrıca tüm bu deneylerin tamamı bir otofaji inhibitörü olan 3-metiladenin (3-MA) varlığında da gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: EBR ve TAM kombine uygulanması sonucu hücre canlılığının azaldığını, bu azalmanın otofaji ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. 3-MA, EBR ve TAM kombinasyonu sonucu tetiklenen otofajiyi baskılamıştır. İlaveten EBR ve TAM beraber uygulaması, otofaji belirteçlerinden ATG'ler, p62 ve Beclin-1 ifade seviyelerini değiştirmiştir.

Sonuç: EBR meme kanseri hücrelerinde otofajiyi tetiklemiştir. TAM direncini kırmaya yardımcı olduğu için gelecekte meme kanseri tedavilerinde tercih edilen bir ilaç olarak yerini alabilir.

Anahtar Kelimeler: Epibrasinolid, ilaç direnci, otofaji, tamoksifen.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



IKBKE'nin Ülseratif Kolit ve Kolit İlişkili Kanser Gelişiminde Rolünün Belirlenmesi

Ümran Borucu¹; Ahmet Göktuğ Özkurt¹; Eylül Kılıç¹; Güneş Güner²; Tieu Lan Chau¹; Aytekin Akyol²; Serkan İsmail Göktuna¹

¹Bilkent Üniversitesi, Ankara, Türkiye; ²Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye

Objektif: Kolorektal kanser (KRK) dünya genelinde en yaygın kanserlerden birisi olup, aynı zamanda kanser kaynaklı ölüm oranlarından en yüksek birisine sahiptir. Ülseratif kolit, yaşamın ilerleyen dönemlerinde KRK gelişme olasılığını 4-5 kat artırmakla kalmayıp, hastaların yaşam kalitesini de oldukça düşürmektedir. IKBKE, ülseratif kolit ve KRK hastalarında zarar gördüğü bilinen interferon sinyal yollarının bir bileşenidir. IKBKE, kanser dahil olmak üzere birçok patolojik durumda pro-iltihabi sinyal yollarında rol almaktadır. Bu yüzden anti-iltihabi terapiler için hedef bir gen olarak görülmektedir. Ancak, IKBKE'nin ülseratif kolit ve kolit ilişkili kolorektal kanserde (KİK) rolü tam olarak araştırılmamıştır.

Metotlar: IKBKE, ülseratif akut kolit ve KİK fare modellerinde farmakolojik olarak inhibe edilmiştir. Bu farmakolojik inhibisyonun bağırsak hasarı üzerindeki etkisi klinik, histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelenmiştir.

Çıktılar: IKBKE'nin farmakolojik inhibisyonu hem ülseratif kolit hem de KİK fare modellerinde akut fazda daha kötü klinik ve histopatolojik sonuçlara yol açmıştır. Bu sonucun akut KİK farelerinde, akut ülseratif kolit farelerine kıyasla istatistiksel olarak daha önemli olduğu gözlenmiştir. Buna ek olarak, kolon mikro çevresinde belirli pro-iltihabi ve anti-iltihabi sitokinlerin seviyesinin önemli bir oranda değiştiği gözlemlenmiştir. Sitokin seviyelerinde gözlemlenen bu değişimler, inhibisyon sonucu artan iltihap seviyesini açıklamaktadır.

Sonuç: Bulgularımız, IKBKE'nin ülseratif kolit ve KİK'de akut fazda in vivo olarak pro-iltihabi bir gen olarak davranmadığını göstermektedir. Bu nedenle, iltihabi hastalıkların tedavisi amacıyla IKBKE'nin inhibe edilmesi iltihabın daha kötü hale gelmesine sebep olabilir. Bu olguya sebep olan moleküler yolların daha fazla araştırılması gerekmektedir.

Mitokondriyal-Türevli Peptid (MOTS-c)'in Meme Kanseri Hücrelerinde Canlılık Üzerine Etkisinin İncelenmesi

Derin Dua Ayata¹; Halil Ateş²; Pelin Yalçın²; Eren Konakçı³

¹Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye; ²Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir, Türkiye; ³Yeditepe Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Amaç: 12S rRNA Tip-c'nin Mitokondriyal ORF'si (MOTS-c), 16 amino asit içeren mitokondriyal türevli peptitlerden biridir. Ana hedef dokusu, glikoz alımını ve insülin duyarlılığını arttırdığı iskelet kasıdır. Araştırmalar, metabolik strese maruz kalan hücrelerde MOTS-c'nin AMPK sinyalini tetiklediğini ve NFR2 gibi antioksidan yanıt genlerinin ekspresyonunu indüklediği çekirdeğe hızla aktarıldığını vurguluyor. Kansere hücrelerinin hayatta kalabilmek için metabolik esnekliğe sahip olduğu bilinmektedir. MOTS-c ile kanser hücresi sağkalımı arasındaki ilişkiyi gösteren sınırlı sayıda çalışma vardır. Ayrıca MOTS-c etki mekanizmasında yer alan AMPK ve NFR2'nin, tümör oluşumu sürecinde onkogenik veya tümör baskılayıcı etkiye sahip olabileceğine dair kanıtlar vardır. Bu bağlamda çalışmamız MOTS-c'nin farklı meme kanseri türlerinde hücre sağkalımı üzerine in vitro olarak araştırılmasına katkı sağlamayı amaçladı.

Yöntemler: MDA-MB-231 ve MCF-7 hücre hatları, 48 saat, 72 saat boyunca MOTS-c'nin artan konsantrasyonlarına maruz bırakıldı ve hücre canlılığı analizleri ile değerlendirildi. p- değerleri tek yönlü ANOVA kullanılarak hesaplandı.

Bulgular: MOTS-c, MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücrelerinde hücre canlılığını tetiklemiyor gibi görünüyor. Ancak hücre canlılığı analizlerinin aksine, akım sitometrik ölçüm sonuçları, MOTS-c'nin, 72 saat boyunca tedavi edilen östrojen reseptörü pozitif MCF-7 hücrelerinde hücre ölümünü indüklediğini ($p < 0,000$) gösterdi.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları MOTS-c'nin farklı meme kanserlerinde hücre canlılığı üzerindeki etkisini göstermektedir. Verilerimiz MOTS-c etkisinin tümörün biyolojik alt tipine bağlı olarak farklılık gösterebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca dirençli hücreler üzerinde proliferatif etki gösterebilir. Kansere metabolizması, aynı tümör içerisinde farklı metabolik durumlardaki hücrelerin bulunduğu karmaşık bir konudur. MOTS-c'nin kanser hücrelerindeki metabolik yollar üzerindeki etkisini aydınlatmak için daha detaylı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Kansere metabolizması, Meme kanseri, Mitokondriyal türevli peptidler, MOTS-c.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



GTSE1 Geninin Kanserde Tanısal Önemi ve Prognostik Rolü

Fatma Gülce Demir¹; Hilal Özdağ Sevgili¹; Nevin Belder¹

¹Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, Türkiye

Amaç: Çalışmamızda, spesifik olarak hücre döngüsünün G2 ve S fazlarında ifade olan ve p53 gibi karsinogenez sürecinde rol oynayan genleri regüle eden GTSE1 geninin kanserde prognostik önemi ve kanser gelişiminde rol oynadığı mekanizmaların ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: GTSE1 geninin, TCGA kanserlerinde tümör ve normal ekspresyon seviyesi karşılaştırılması ile genel ve hastaliksız sağkalım analizleri TIMER2.0 ve GEPIA2 aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. cBioPortal ile GTSE1 genetik alterasyonları araştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilen kanserlerde ifade değişimi, kanser progresyonu ile ilişkisi ve sağ kalım analizleri GEO veri bankasından elde edilen bağımsız hasta veri setlerinde valide edilmiştir. LinkedOmics kullanılarak kanser RNA-seq verilerinde GTSE1 ifadesi ile pozitif korelasyon gösteren genlerin ilişkili olduğu yollar belirlenmiş ve String aracılığıyla GTSE1'in interaksyonda bulunduğu proteinler tespit edilmiştir.

Sonuçlar: TCGA veri tabanında bulunan 33 kanser türüne bakıldığında; GTSE1 geni kanserlerin 24'ünde, normal dokulara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek ifadelenebilir. 17 kanser türünde ise genin ifadesi farklı kanser evrelerinde anlamlı değişiklik sergilemektedir. GTSE1'in 10 kanser türünde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde prognozu kötü olarak etkilediği görülmüştür. Yine 10 farklı kanser türünde yüksek GTSE1 ifadesi kötü hastaliksız sağkalım oranları ile ilişkili bulunmuştur. cBioPortal analizlerinde GTSE1 amplifikasyonunun kanserlerde yüksek olduğu ve en yüksek alterasyon oranının %5,26 ile akciğer kanserinde olduğu görülmüştür. Analizlerimizde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde ettiğimiz, insidans ve mortalite açısından da halk sağlığında önemli yeri olan glioma, karaciğer, akciğer, pankreas ve böbrek kanserlerinin bağımsız hasta veri setleri ayrıca analiz edilmiş ve bu kanserlerde yüksek GTSE1 ifade seviyesi ve kötü prognozla ilişkisi her bir kanser türü için 2 farklı veri setinde doğrulanmıştır. Linkedomics aracılığıyla yapılan analizlerde GTSE1'in bu kanser türlerinde karsinogenez sürecini hücre döngüsü yolları üzerinden tetiklediği gösterilmiştir.

Tartışma: Çalışmamızda; GTSE1'in birçok kanser türünde yüksek ifadelendiği ve bu durumun hastaların prognozunu olumsuz etkilediği gözlenmiştir. Bulgularımız ayrıca, GTSE1 ekspresyon seviyelerindeki artışın yeni bir terapötik ve prognostik hedef olarak potansiyelini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Biyoinformatik analiz, G2 and S-phase expressed 1 geni, Kanser, Prognostik biyobelirteç.

Kemoterapi Kaynaklı Sekonder İnfertilitede *Prunus Laurocerasus*'un Etkisi ve Testiküler DNA Metilasyon Değişiklikleri

Emel Kabartan¹; Emine Gülçeri Güleç Peker²

¹Ordu Üniversitesi, Ordu, Türkiye

²Giresun Üniversitesi, Giresun, Türkiye

Amaç: Kemoterapi kaynaklı toksisite ve antioksidan maddelerin üreme hasarına karşı koruyucu etkinliği, önemli bir araştırma alanıdır. Spermatogenez sırasında DNA metilasyonu, memeli sperm olgunlaşmasında kilit rol oynamaktadır. Bu çalışma, bir antikanser ajan olan Doxorubicin (DXR) tedavisinin testislerdeki global DNA metilasyonunu nasıl etkilediğini ve *Prunus laurocerasus* ekstraktının (PE) etkilerini epigenetik bir perspektiften değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

Yöntem: Sprague-Dawley sıçanları rastgele dört gruba ayrıldı. Kontrol grubu olarak Grup 1 herhangi bir tedavi almadı. Grup 2 ve Grup 3 için on dört gün boyunca sırasıyla 500 mg/kg/gün ve 1000 mg/kg/gün dozlarında PE uygulandı. Grup 4 ise 13. güne kadar ek bir tedavi almadı. 13. gününde, Grup 2, 3 ve 4'e intraperitoneal DXR verildi. On beşinci gününde hayvanlar anestezi altında ötenazi yapıldı ve doku örnekleri toplandı. Spermatogenezini değerlendirmek için kaudal epididimden sperm sayımı yapıldı. Global DNA metilasyon analizi ve testis Dnmt1 ve Dnmt3a seviyeleri ELISA tabanlı yöntemlerle incelendi.

Sonuç: DXR, epididimal sperm sayısında önemli bir azalmaya neden olarak ciddi üreme toksisitesine yol açtı. DXR toksisitesi testislerdeki global DNA metilasyon seviyelerini kontrole kıyasla önemli ölçüde azalttı ($p < 0,05$). Sperm parametrelerinden bağımsız olarak, Grup 3'te metilasyon seviyeleri kontrol grubundakilere benziyordu ($p > 0,05$). Tam tersine, Grup 4'te metilasyon seviyeleri DXR'e benzer seviyelere düştü ($p > 0,05$). Metilasyon durumu ile Dnmt1 seviyeleri arasında herhangi bir ilişki bulunmazken ($p > 0,05$), Dnmt3a seviyeleri ile dikkate değer bir ilişki gözlemlendi ($r = 0,527$, $p < 0,05$).

Tartışma: PE, kemoterapiye bağlı testis hasarında koruyucu bir rol oynamaktadır. Dnmt'lerin yanı sıra muhtemelen diğer proteinlerin de dahil olduğu DNA metilasyon süreci, hem hasara neden olmada hem de koruma sağlamada kritik bir rol oynuyor gibi görünmektedir. Bu nedenle, uygun dozajların seçilmesi ve üreme tedavilerinde gen etkileşimlerinin epigenetik yaklaşımlar aracılığıyla kapsamlı bir şekilde incelenmesi son derece önemlidir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Pyrin Proteininin Homoloji Modelleme Yöntemi ile Üç Boyutlu Modellenmesi

Gönül Akmeşe¹; Ebru Marzioğlu Özdemir¹

¹Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Abd, Konya, Türkiye

Proteinler, tüm canlı organizmalarda bulunan ve fizyolojik süreçlerde önemli rolleri olan biyomoleküllerdir. Üç boyutlu yapıları, biyolojik süreçler açısından oldukça önemlidir ve asıl görevi belirleyen faktörlerden bir tanesidir.

Pyrin proteini, MEFV (Mediterranean Fever) geni tarafından kodlanmaktadır. Sınırlı doku ekspresyonu olan bu protein, nötrofil aktivasyonu sebebiyle inflamasyonu baskılayabilme özelliğine sahiptir. 781 amino asitten oluşur ve yaklaşık olarak 86 kDa'dur.

Mutasyonlar, proteinlerin moleküler yapısında değişikliklere sebep olmaktadır. Protein dizilerinde gözlenen herhangi bir değişim protein etkileşimlerini belirli bir lokusta ya da bütünde bozarak işlevini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Protein yapılarında gözlenen bu değişiklikler günümüzde biyoinformatik araçlar sayesinde belirlenebilmekte, klinik ve biyokimyasal açılarından değerlendirilebilmesini sağlamaktadır.

Biyoinformatik; biyoloji ve genetik gibi yaşam bilimleri, matematik ve istatistik gibi hesaplamalı bilimler ile bilgisayar bilimlerinin multidisipliner etkileşimleri sonucu ortaya çıkmış bir bilim dalıdır. Biyoinformatik bilimi, homoloji modelleme yöntemi ile proteinlerin üç boyutlu yapısının tahmin edilmesine olanak sağlamaktadır. Bir proteine ait üç boyutlu yapının bilinmesi protein-ligant, protein-protein etkileşimlerinin anlaşılması noktasında önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, pyrin proteini ve M694V patojenik varyantının biyoinformatik araçlar kullanılarak modellenmesi, fizikokimyasal özelliklerinin belirleyip bu özelliklerin üç boyutlu yapı ile arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Üç boyutlu homoloji modelleme Swiss Model homoloji modelleme veri tabanı ile çalışılmıştır. Fizikokimyasal özellikler ProtParam veritabanı ile hesaplanmış ve üç boyutlu yapıların görsellendirilmesi için Chimera ve Pymol programları kullanılmıştır.

PC3 Prostat Kanseri ve LKB1 veya AMPK Ekspresyonu Eksik PNT1A Prostat Epitel Hücrelerinde Orlistat'ın Terapötik Hedeflerinin Araştırılması

Ayyüce Sever¹; Elif Damla Arısan¹

¹Gebze Teknik Üniversitesi, Kocaeli, Türkiye

Amaç: Bu çalışmada, LKB1 eksikliği olan PC3 prostat kanseri ve PNT1A prostat epitel hücrelerinde LKB ekspresyonunu silmek için CRISPR kullanılarak bir lipaz inhibitörü olan orlistat'ın LKB'den bağımsız moleküler hedeflerinin kısmen tanımlanması ve rollerinin aydınlatılması amaçlanmaktadır. Hücresel yanıt mekanizmasında LKB1/AMPK ile etkileşime giren lipid metabolizmasındaki anahtar moleküllerin sayısı.

Yöntemler: Çalışmada AMPK veya LKB1 eksikliği olan PC3 prostat kanseri ve PNT1A prostat epitel hücrelerini oluşturmak için CRISPR/Cas9 gen düzenleme teknolojisi kullanıldı. PC3 ve PNT1A hücreleri için optimal orlistat konsantrasyonunu belirlemek için MTT ve koloni oluşumu analizleri kullanıldı. Orlistat'ın prostat kanseri ve prostat epitel hücreleri üzerindeki zamana bağlı etkisini gözlemlemek için proliferasyon tahlili yapıldı. Orlistat'ın hücresel etkilerini tanımlamak için floresan boyama teknikleri uygulandı.

Bulgular: Çalışmada, LKB1 veya AMPK α 1 eksikliği olan PC3 prostat kanseri ve PNT1A prostat epitel hücre hatları, CRISPR/Cas9 gen düzenleme teknolojisi ile üretildi. Orlistat'ın optimal dozu MTT hücre canlılığı ve koloni oluşumu analizleri ile 30 μ M olarak belirlendi. Orlistat'ın hem doza hem de zamana bağlı olarak prostat kanseri hücrelerinde antiproliferatif etki gösterdiği ve hücre ölümünü tetiklediği belirlendi. Orlistat, özellikle AMPK α 1 veya LKB1 eksikliği olan prostat kanseri hücrelerinde hücre ölümüyle ilişkili olarak membran potansiyelinin azalmasına ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) artmasına neden olur.

Sonuç: Bu çalışma, obezite karşıtı bir ilaç olan orlistat'ın prostat kanseri için umut verici bir kombinatoryal tedavi seçeneği olarak potansiyelini araştırmaktadır. LKB ve AMPK genlerinin CRISPR/Cas9 kullanılarak manipülasyonu yoluyla, orlistat'ın prostat kanseri hücrelerinde hücre proliferasyonunu inhibe ederek, hücre ölümünü indükleyerek ve membran potansiyelindeki değişiklikler yoluyla hücresel stres oluşturarak antiproliferatif ve antikanser etkiler gösterdiği gösterilmiştir. ve artan reaktif oksijen türleri. Orlistat, moleküler biyoloji teknikleriyle birlikte kullanıldığında, önemli bir halk sağlığı sorununa çözüm getirerek prostat kanseri tedavileri yelpazesine değerli bir katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Kümelenmiş Düzenli Aralıklı Kısa Palindromik Tekrarlar, prostat kanseri, hücre metabolizması, hücre ölümü.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Tiroid Kanserlerinde Mirna Oluşum Yoluğındaki Genlerin Ekspresyon Düzeylerinin Araştırılması

Sibel Özalp^{1,2}; Mehmet Emin Erdal¹; Rabia Bozdoğan Arpacı³

¹Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin, mersin, Türkiye

²İstanbul Medipol Üniversitesi Meslek Yüksek Okulu, İstanbul, istanbul, Türkiye

³Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

Amaç: Tiroid kanseri dünya çapında en sık görülen kanserdir ve dünya çapında sıklığı giderek artmaktadır. Bu yüzden altında yatan özgün moleküler genetik değişikliklerin ortaya konulması önem kazanmaktadır. Çalışmamızda bu amaçla, hücrede gen ifadesinin düzenlenmesinde görev yapan ve tüm gelişimsel, farklılaşma, fizyolojik fonksiyonlarda rol alan mikroRNA'ların (miRNA), oluşum yolağındaki genler olan DICER1, DROSHA, DGCR8, TARBP2, AGO1 genlerinin tiroid tümör dokularının oluşum ve gelişimine etki edebileceğini düşündüğümüz için, ekspresyon düzeylerinin araştırılması planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda, tiroid kanser tanısı konmuş hasta doku örneklerinden 42 tiroid kanserli (17 papiller tiroid kanseri, 18 foliküler tiroid kanseri, 7 medüller tiroid kanseri) birey örneği ve 42 sağlıklı birey kontrol örneği alınarak total RNA izolasyonu, ardından cDNA sentezi gerçekleştirildi. Belirlenen genlerin ekspresyon analizleri Real Time PCR da karşılaştırmalı CT ($\Delta\Delta CT$) yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi.

Sonuçlar: Ekspresyon düzeyleri Shapiro-Wilk istatistiği ile ve Mann-Whitney U testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Değerlendirme sonucunda DICER1, DROSHA, DGCR8, TARBP2, AGO1 genlerinin ekspresyon düzeylerinde, tiroid kanserinin üç türündeki hasta örneklerinde, kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir.

Tartışma: Yapılan çalışmalarda miRNA'lar ve onların oluşum yolağında meydana gelebilecek aksaklıkların, birçok yolağı etkileyerek kansere zemin hazırladığı, başlangıcı ve seyirini etkilediği bildirilmektedir. Tiroid kanseriyle ilgili miRNA ekspresyon verilerinin, papiller tiroid kanserinde, diferansiyasyon kaybına, tümörögenезin ilerleyişine ve klinik olarak ilgili alt sınıfları tanımlamaya katkı sağlayabileceği öne sürülmektedir. Çalışmamızda tiroid kanserlerinin tüm türlerinde miRNA'ların düzensiz ekspresyonları gözleendiğinden, tüm alt türlerinde daha geniş ve klinik verilerine göre daha homojen hasta gruplarıyla çalışılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ekspresyon, DICER1, DROSHA, mikroRNA, tiroid kanseri.

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2019-3-TP2-3790 no'lu proje olarak desteklenmiştir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Meme Kanserinde İleri Glikasyon Son Ürünleri ile DHRS2 Geninin Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Burcu Salman Yaylaz^{1,2}; Büneyan Tüzün^{1,2}; Elif Nur Bozdağ^{1,2}; Bahadır Kasap^{1,2}; Hümeysra Karaca^{1,2}; Şeyma Punar^{1,2}; Sema Sırma Ekmekci¹; Neslihan Abacı¹

¹İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

Amaç: İleri glikasyon son ürünleri (AGE) hücre içerisindeki lipid, protein ve nükleik asitlerin glikoz aracılığı ile modifiye edilmesi ile oluşur. Hücre içerisindeki birikimi ise oksidatif stres yolağı başta olmak üzere sitokin salınımı gibi birçok sinyal yolağını aktifleştirebilir. DHRS2 ise dehidrojenaz/redüktaz aktiviteye sahip bir enzimdir ve yapılan çalışmalarda hücreleri oksidatif stresten koruduğu gösterilmiştir. Bu çalışmamızda hücrelerdeki AGE miktarlarının DHRS2'nin artmış ve baskılanmış ekspresyonunda nasıl değiştiği incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem: DHRS2 ekspresyonları MCF10A, MCF7, T47D ve MDA MB 231 hücre hatlarında gene özgü siRNA (baskılama) ve lentiviral vektörler (arttırma) ile lipozomal ajanlar aracılı transfeksiyon ile ayrı ayrı manipüle edilmiştir. Hücrelerdeki en yüksek DHRS2 baskılama ve arttırma oranları qRT-PCR yöntemiyle belirlendi ve daha ileri analizler için en iyi oranlara sahip gruplar kullanıldı. AGE tayini ise elisa yöntemi ile yapılmıştır. Transfeksiyonların sonrasında hücre ortamlarından alınan örnekler kullanılmıştır ve kolorimetrik olarak ölçülmüştür.

Sonuçlar: DHRS2 ekspresyonundaki değişimlerin dramatik bir şekilde hücrelerdeki AGE miktarını da değiştirdiği bulunmuştur. Gen ifadesi baskılanmış MCF7 hücrelerinde diğer hücre gruplarına nazaran daha belirgin bir artış görülmüştür. Karsinom olmayan MCF10A hücre hattında ise AGE miktarları her iki durumda da en az seviyede değişim göstermiştir. Bununla birlikte, Hücre içerisindeki DHRS2 ekspresyonu arttırıldığında hücrelerdeki AGE miktarlarında yaklaşık 1,5 kat azalma görülmüştür.

Tartışma: DHRS2 enzimatik aktivitesi bulunan, hücre içerisindeki metabolitleri ve reaktif oksijen türlerini indirgeyici özelliğe sahip bir proteindir. Bu özelliklerinden yola çıkarak yaptığımız bu çalışmada ileri glikasyon son ürünlerinin DHRS2 ekspresyonundan etkilendiği gösterilmiştir. Hücre içindeki miktarının artması hücreler için oksidatif stresten koruyucu özelliğini desteklemektedir. DHRS2'nin daha sonraki çalışmalarda metabolik stresler için önemli bir belirteç olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: DHRS2, İleri glikasyon son ürünü, oksidatif stres, meme kanseri

Mikroakışkan Sistemde Uyarılmış Pluripotent Kök Hücre Kaynaklı İnsan Kardiyomiyosit ve Duyu Nöronu Etkileşiminin Karakterizasyonu

Gizem Yörükoğlu^{1,2}; Özlem Mutlu Burnaz¹; Zahra Babaie^{4,3}; Bihter Özhan Zaidi⁶; Sıdıka Sevede Yenigün Yaşar^{1,5}; Fazlı Kemal Bayat¹; Mehmet Kocatürk^{1,6}; Barbaros Çetin^{4,3}; Esra Çağavi^{8,1,2,7}

¹Research Institute for Health Sciences and Technologies (SABITA), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

²Medical Biology and Genetics Graduate Program, Institute of Health Sciences, Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

³Microfluidics & Lab-on-a-chip Research Group, Mechanical Engineering Department, Bilkent University, Ankara, Turkey

⁴UNAM - National Nanotechnology Research Center and Institute of Materials Science and Nanotechnology, Bilkent University, Ankara, Turkey

⁵Molecular Medicine and Biotechnology Graduate Program, Institute of Health Sciences, Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

⁶Department of Biomedical Engineering, Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

⁷Department of Medical Biology, International School of Medicine, Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

⁸Department of Medical Biology, School of Medicine, Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

Amaç: Kardiyak afferentler, kalpten beyne basınç ve ağrı gibi duyuşal bilgileri iletir. Literatürde, kalp ile sempatik/parasempatik nöronlar arasındaki etkileşimi incelemeye yönelik araştırmalar mevcutken, insan kökenli duyu nöronu (SensN) ve kardiyomiyosit (CM) etkileşimlerini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Çoklu elektrot dizilere (MEA) sahip mikroakışkan sistemler, nöro-kardiyak gibi sistemler arası etkileşimleri incelemek için fizyolojiye uygun bir ortam sağlar. Bu nedenle, araştırmamız kapsamında MEA ile entegre bir mikroakışkan sistem üreterek uyarılmış pluripotent kök hücreden (uPKH) farklılaştırılan insan SensN ile CM arasındaki etkileşimi moleküler ve fonsiyonel olarak incelemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Mikrokanallarla birbirine bağlanan iki ayrı kültür kuyucuğu fotolitografi tekniği ile PDMS kullanarak oluşturuldu ve paralel üretilen MEA üzerine entegre edildi. İnsan uPKH'leri CM ve SensN farklılaştırılarak qRT-PCR ve immünositokimyasal analizler ile karakterize edildi. İnsan SensN ve CM'leri, aralarındaki mikrokanallardan yalnızca aksonların geçebileceği mikroçipteki ayrı kuyucuklara ekildi. Mikroçiplerdeki hücreler arasındaki etkileşim immünositokimya, MEA kayıtları ve Fluo4-AM Ca²⁺ görüntüleme yöntemleri ile analiz edildi.

Sonuçlar: İnsan uPKH'den farklılaştırılan SensN ve CM kültürlerinde nöronal (Tuj1, PRPH, Vglut2, Synaptophysin) ve kardiyak cTnT belirteçlerinin mRNA ve protein ekspresyonu qRT-PCR ile belirlenirken Fluo4-AM Ca²⁺ görüntüleme yöntemleri ile fonksiyonları doğrulandı. MEA-entegre edilmiş mikroakışkan sistem üretildi ve hücre kültürü için optimize edildi. SensN ve CM'lerin mikroçip ayrı kuyucuklarında kokültürleri sonrasında yapılan Synaptophysin immünboyaması SensN aksonlarının mikrokanallar aracılığıyla CM'ler ile sinaptik etkileşim kurduğunu gösterdi. Mikroçipte SensN ve CM eşzamanlı elektriksel aktiviteleri MEA elektrotları kullanılarak kaydedildi. İnsan



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi

Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



uPKH'den farklılaştırılan CM'lerde spontan ve ritmik potansiyel değişimleri gözlemlenirken, SensN'lerde düşük genlikli spontan spikelar tespit edildi.

Tartışma: Bu çalışmada, literatürde ilk olarak insan duyu sinir sistemi kardiyak etkileşimi in vitro incelendi ve bu araştırmaya yönelik MEA ile entegre kompartimentalize bir mikroakışkan sistem üretildi. Bulgularımız, gelecekte yapılacak kalp ve duysal sinir sistemi etkileşimini incelemeye yönelik detaylı moleküler ve fonksiyonel çalışmalara ışık tutmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Duyu nöronları, Kardiyomiyositler, MEA, mikroakışkan çip, uPKH

Bilim Kurulu'na Not: Bu çalışma TÜBİTAK 1001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projeleri Destekleme Programı kapsamında Proje No:119S132 ile ve İstanbul Medipol Üniversitesi BAP Komisyonu tarafından Proje No: 2023/18 ile desteklenmektedir.

Böbrek Naklinde Daha İyi Donör Seçimi İçin Sanal Crossmatch ve Epitop Haritalaması

Sedat Tanju Karadeniz¹; Demet Akten Akdoğan¹; S. Rüştü Oğuz³; Çiğdem Kekik Çınar²; Hayriye Şentürk Çiftçi²; Fatma Oğuz²; Kemal Yelekçi¹

¹Biyoinformatik ve Genetik Bölümü, Kadir Has Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Tıbbi Biyoloji AD, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye

³Tıp Fakültesi, Demiroğlu Bilim Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Donörler ve alıcılar arasındaki İnsan Lökosit Antijeni (HLA) uyumsuzluğu, Donöre Özgü Antikor (DSA) oluşumunun ve transplantasyon sonrası greft reddinin başlıca nedenidir. Günümüzde 35.823 farklı HLA aleli tanımlanmıştır, bu da bu genlerin immün yanıtta birincil işlevleriyle ilişkili olarak oldukça polimorfik olduğunu göstermektedir. Alıcının anti-HLA antikorlarına bağlanan antijenlere sahip donörlerden yapılan nakiller antikor aracılı rejeksiyon ile sonuçlanıp böbrek kaybı yaşanmaktadır.

Çalışmamızda alıcının anti-HLA antikorlarına bağlanan antijenlerin epletlerini araştırarak DSA'yı tahmin etmeyi amaçladık.

İstanbul Tıp Fakültesi Doku Tipleme Laboratuvarı'nda halihazırda bulunan toplam 10 böbrek nakli alıcı-donör eşleştirilmiş verisini retrospektif bir çalışma ile veritabanı olarak dahil ettik.

Uyumsuz antijenleri bulmak için (1) HLA Tipleme sonuçlarını karşılaştırdık ve (2) alıcının nakil öncesi anti-HLA antikorları için ilgili epletleri Luminex-SAB ile aradık. Tüm epletler, eplet AA (aminoasit) dizileri ve epletlerle ilgili Luminex tabanlı anti-HLA antikorları HLA Eplet Registry'den (<https://www.epregistry.com.br>) alınmıştır (3). En yüksek paylaşım sayısını bulmak için donörün uyumsuz HLA antijenleri ile alıcının nakil öncesi anti-HLA antikorları arasında paylaşılan epletleri hesapladık, ardından en çok paylaşılan anti-HLA antikorlarını en olası DSA olarak listeledik (4). (5) olası epitopun peptid dizilerini, donörün HLA antijen AA dizisini kullanarak IEDB Bepipred-1.0 Antikor Epitop Tahmin yöntemiyle doğruladık.

Sonuç olarak, donör ve alıcının HLA antijenleri arasındaki eplet uyumsuzluklarının yanı sıra, uyumsuz donör HLA antijenleri ve alıcının nakil öncesi anti-HLA antikorları arasındaki ortak epletlerle birlikte epitoplara antikor bağlanma yeteneğinin de nakil sonrası DSA'ların gelişmesinde önemli bir rol oynadığını gözlemledik.

Anahtar kelimeler: Sanal Crossmatch, Anti-HLA Tayini, Epitop Haritalama, Donöre Özgü Antikor (DSA), Böbrek Transplantasyonu

In Vitro Alzheimer Modelinde Long Non-coding RNA Linc00968'in Apoptoz Üzerine Etkisi

Serap Kurt, Sefa Kızıldağ

Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Amaç: Çeşitli Uzun Kodlamayan RNA'ların (LncRNA'lar) farklı nörodejeneratif bozukluklarda yaygın olarak rol oynadığı kanıtlanmıştır. Bu çalışmada, Alzheimer hastalığının (AD) in vitro modelinde LncRNA linc00968'in apoptoz üzerindeki düzenleyici etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: AD nörotoksitesini taklit etmek için SH-SY5Y hücrelerinde Ab 25-35 fragmanı kullanıldı. Hücre canlılığı MTT analizi ile belirlendi ve Ab 25-35 inhibisyon konsantrasyonu (IC50) değeri 40 μ M olarak hesaplandı. 40 μ M Ab 25-35 ile muamele edilmiş ve edilmemiş (kontrol) hücrelerde linc00968'in ekspresyonu, kantitatif eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) ile incelendi. Daha sonra linc00968, apoptoz mekanizmasındaki hücrel rolünün belirlenmesi amacıyla Ab 25-35 uygulanmış ve uygulanmamış SH-SY5Y hücrelerine siRNA ile transfekte edildi ve ekspresyonu qRT-PCR ile doğrulandı. Apoptotik yollar üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla BCL-2, BAX, CYC-S ve internal kontrol GAPDH gen ifadeleri qRT-PCR ile analiz edildi. Transkripsiyon sonrası etkilerin değerlendirilmesi amacıyla Bcl-2, Bax, Cyc-s ve Beta aktin düzeyleri western blot yöntemiyle değerlendirildi.

Sonuçlar: Sonuçlarımız, LncRNA linc00968 dereglasyonunun, Ab 25-35 ile Alzheimer nörotoksitesi oluşturulmuş nöroblastoma hücrelerinde apoptotik süreçlerde rol aldığını göstermiştir. Linc00968 susturumu, anti-apoptotik Bcl-2 ekspresyonunu arttırırken, pro-apoptotik Bax ve Cyc-s ekspresyonlarını düşürmüştü ve SH-SY5Y hücrelerinde Ab 25-35 kaynaklı nörotoksiteyi tersine çevirmiştir.

Tartışma: LncRNA linc00968, in vitro AD modelinde nöroblastoma hücrelerinin hücrel fonksiyonlarına ve biyolojik süreçlerine dahil olmaktadır ve çalışmamızda Linc00989'in tanısal değeri ve terapötik potansiyeli vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: amiloid beta, uzun kodlamayan RNA, apoptoz

Organometalik Karakterli Yeni Bir Protoporfin IX'un Akciğer Kanseri Hücrelerine Karşı Fotodinamik Terapi Etkinliğinin Araştırılması

Figen Celep Eyüpoğlu¹, Fatimatüzzehra Şipşak¹, İdris Er¹, İsmail Değirmencioğlu²

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Trabzon, Türkiye

²Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya ABD, Trabzon, Türkiye

Amaç: Akciğer kanserinin dünya genelinde görülme sıklığı Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre %11.4, ölüm oranı ise %18'dir. Akciğer kanseri tedavisinde birçok yöntem kullanılmasına rağmen halen alternatif yöntemler de araştırılmaktadır. Bu alternatif ve umut verici yöntemlerden biri de fotodinamik terapidir (PDT). PDT, ışık, fotoduyarlaştırıcı ve moleküler oksijen arasındaki etkileşimlerle reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturarak hücrenin moleküler sistematiğini değiştirir. PDT, minimal invazif bir yöntemdir, diğer klinik tedavilerle veya yalnız başına kullanılabilir. Organik bir bileşik olan Protoporfin IX (PpIX), fizyolojik pH'da agregatlar oluşturmasına rağmen ışığa duyarlı özelliği onu PDT araştırmaları için çekici kılmaktadır. PpIX ve ona eklediğimiz Schiff bazlı bor elementinin tümörlü alanı hedefleyebilmesi, düşük karanlık toksisite göstermesi, ROS üretimine katkıda bulunması ve lokalize olduğu dokuda kolaylıkla tespit edilebilmesi, bu molekülü en çok araştırılan PDT ajanları konumuna ulaştırmıştır. Bu çalışmanın amacı ekibimiz tarafından yeni sentezlenen organometalik özelliklere sahip Schiff bazlı bor elementli PpIX'in akciğer kanseri hücre hattında PDT etkinliğini araştırmaktır.

Metod: Bu çalışmada, sentezlenen organometalik özelliklere sahip PpIX molekülü A549 akciğer kanser hücreleriyle farklı konsantrasyonlarda muamele edilerek beyaz LED ışık ile uyarıldı. Yapılan PDT analiz sonucunda, molekülün ışık ile uyarılması sonucunda hücre canlılığına olan etkisi MTT analizi ile incelendi. Gözlenen etkiler, akridin oranj/etidyum bromür boyama yöntemi ile de floresan mikroskopta doğrulandı. Bu etkiler, aynı molekül ile muamele edilerek karanlık ortamda tutulmuş hücrelerde gözlenen canlılık ile de karşılaştırıldı.

Sonuç: Molekülün PDT uygulaması sonucunda akciğer kanser hücreleri üzerinde anti proliferatif etkiye sahip olduğu ve ışıksız ortamda bu etkinin gözlenmediği gösterildi.

Tartışma: Elde edilen sonuçlar, fotoduyarlaştırıcı olarak sentezlenen organometalik özelliklere sahip yeni Protoporphin IX molekülünün akciğer kanser hücrelerinde kullanılabilir antiproliferatif etki gösterebilen bir PDT ajanı olabileceği ve bu doğrultuda ileri analizlerin yapılması önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Akciğer kanseri, fotodinamik terapi, protoporphyrin IX.

Bilim Kuruluna Not: Bu çalışma, TÜBİTAK 1001 projesi tarafından (Proje no: 222Z041) desteklenmiştir. Proje yürütücüsü; Prof. Dr. İsmail Değirmencioğlu

Kanser Hücre Hatlarında Mumionun Anti-Kanser Etkilerinin Araştırılması

Zeynep Betül Sarı^{1,2}; Muhammed Emin Sarı³; Gülsüm Türkoğlu¹; Ercan Kurar³

¹Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD, Konya, Türkiye

²Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Konya, Türkiye

³Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Bölümü, Konya, Türkiye

Amaç: Mumio veya Shilajit yıllardır kullanılan geleneksel bir ilaçtır. Büyük İskender'in de kullandığı rivayet edilmektedir. Son zamanlarda "yaşam iksiri" olarak pazarlanmaktadır. Mumio nevralsi, radikülit, Alzheimer hastalığı, diyabet, tüberküloz ve astım gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Kanser de en sık görülen hastalıklardan biridir. Şu ana kadar mumionun kanser üzerindeki etkilerine dair çok az çalışma mevcuttur. Bundan dolayı mumionun kanser hücreleri üzerindeki anti-kanser yeteneğini değerlendirmeyi amaçladık.

Yöntemler: Mumio solüsyonu, ticari olarak temin edilebilen tabletlerden hazırlandı. Tabletler kültür medyumunda çözüldü ve santrifüj edildi. Süpernatant filtre edildi ve stok solüsyonu (100 mg/ml), konsantrasyonları (0,5; 1; 2; 5;10; 20 ve 40 mg/ml) elde etmek için seyreltildi. HEK (epitel) ve HUVEC (endotel); HEp2 (larenks kanseri) ve Saos2 (osteosarkom) mumio ile 48 saat boyunca muamele edildikten sonra, mumionun sitotoksitesi XTT deneyi ile analiz edildi. Hücrelerin morfolojik analizleri de ışık mikroskobu ile yapıldı.

Bulgular: Sonuçlara göre, hücre canlılığı, doza bağlı olarak kontrol hücreleriyle karşılaştırıldığında mumio tarafından önemli ölçüde değiştirildi. 0,5, 1 ve 2 mg/ml konsantrasyonlarda 48 saat sonra hücrelerin canlılığı açısından önemli bir fark yoktu; ancak 20 mg/ml'de tüm hücre hatlarında anlamlı ve dramatik azalma görüldü ($p < 0.05$). Bununla beraber 10 mg/ml'de kanser hücrelerinin canlılığı ortalama %43'e düşerken sağlıklı hücrelerin canlılığı %93'e düştü ($p < 0.01$).

Sonuç: Veriler mumio'nun kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu açıkça göstermektedir ancak aynı konsantrasyonda (10mg/ml) normal hücrelere çok az zarar vermiştir. Bu nedenle mumionun kanser alanında araştırmalara daha fazla ilgi gösterilmesi gerektiğini öneriyoruz.

Anahtar Kelimeler: Kanser, mumio, shilajit, sitotoksitesite.

Akut Lenfoblastik Lösemide ARID1A ve EZH2 Arasında Sentetik Letal İnteraksiyon İlişkisinin Araştırılması

Akınca Koluman¹; Mehtap Kılıç Eren¹; Hatice Pilevneli²; Ayfer Karlıtepe²; Ceylan Ak¹

¹Adnan menderes üniversitesi tıbbi biyoloji, aydın, Türkiye

²Adnan menderes üniversitesi bilim teknoloji uygulama merkezi, Aydın, Türkiye

²Ankara yıldırım Beyazıt üniversitesi rejeneratif tıp, Ankara, Türkiye

Amaç: SWI/SNF kromatin yeniden modelleme kompleksi proteinlerini kodlayan genler yaygın insan kanserlerinde sıklıkla mutasyona uğramaktadırlar. Bu kompleksin önemli bir alt birimi olan ARID1A DNA'ya bağlanarak ve SWI/SNF komplekslerinin yeniden modellenmesi gereken kromatin konumuna hedeflenmesini sağlamaktadır. Genom çapında yapılan dizileme çalışmaları, çeşitli kanser türlerinde ARID1A mutasyonlarını ortaya çıkarmıştır. Ayrıca ARID1Amt kanserlerde yapılan çalışmalar güvenlik açığı niteliğini taşıyan bazı genlerin tanımlanmasını da sağlamıştır. ARID1Amt kanserlerde güvenlik açığı yaratan bu genlerin hedeflenmesi tipik olarak sentetik letaliteye yol açabilmektedir. Histon metilasyonunun ve transkripsiyonunun baskılanmasını sağlayan EZH2, Polycomb Baskılayıcı Kompleks 2'nin (PRC2) katalitik alt birimidir. mtARID1A aracılığıyla SWI/SNF işlevindeki defektler, kromatin üzerindeki Polycomb aktivitesini kolaylaştırır, böylece hücreleri EZH2 inhibisyonuna karşı duyarlı hale getirebilir. Bu çalışmada ARID1A'da çerçeve kayması mutasyonu barındıran Jurkat hücre dizisi kullanılarak EZH2'nin inhibe edilmesi sonucu olası sentetik letalite etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Metot: Jurkat hücre hattında EZH2 inhibisyonu GSK2816126 ile sağlandı. Hücre canlılığını ölçmek için WST-1 ve apoptoz ve nekroz ölçümü için Annexin V/7AAD analizleri yapıldı. ARID1A, EZH2, H3k27me3, total H3 ve GAPDH protein seviyeleri WB analizi ile gösterildi.

Bulgular: Jurkat hücrelerinde GSK2816126 muamelesi ile EZH2 inhibisyonu H3K27me3'ün protein seviyesinde görülen azalma ile tespit edilmiştir. Jurkat hücrelerinde EZH2 inhibisyonu zamana ve doza bağlı olarak hücre canlılığını azaltmakta ve apoptozu indüklemektedir. 10 µM GSK2816126 muamelesi 120 saat sonunda hücre canlılığını ortalama % 60 oranında azalttığı ve apoptozu indüklediği tespit edilmiştir.

Sonuç: ARID1Amt Jurkat hücrelerinde EZH2'nin GSK2816126 ile inhibe edilmesi apoptoz aracılığıyla sentetik letal etkiye yol açmıştır. Bu sonuçlar ARID1A defektif akut lenfoblastik lösemide EZH2'nin terapötik bir hedef olabileceğine işaret etmektedir

Anahtar kelimeler: ARID1A, EZH2, Sentetik Letalite, Jurkat



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Anti-ASCT2 Monoklonal Antikorundan Kimerik Rekombinant Antikor Üretiminin Pilot Çalışması

İlayda Engin¹; Ayşe Gökçe Erman Kılınç¹; Erkan Yılmaz¹

¹Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, Türkiye

Antikorlar kullanılarak geliştirilmiş biyolojik tedaviler günümüzün en yenilikçi ilaçlarıdır. Özellikle kanser tedavilerinde ve inflamatuvar hastalıklarda kullanımı yaygındır. Kanser biyolojisinde ortaya çıkan yeniliklerin ışığında farklı mekanizmalar üzerinden kanser hücrelerinin hedeflemesi süregelen bir araştırma konusudur. Kanser hücresinin metabolik olarak durdurulması da üzerinde yoğun olarak çalışılan bir alan olup yeni tedavi yaklaşımlarına katkı vermektedir. Glutamin metabolizması, kanserin hayatta kalımı ve enerji üretimi için önemli yollardandır. ASCT2 (Alanin-serin-sistein taşıyıcısı 2) glutaminin hücre içerisine taşınmasından sorumludur ve kanser hücrelerinde yüksek ifadelenmektedir. Hücre içi glutamin metabolizması iyi çalışılmış bir konu olsa da antikorlar ile modifiye edilmesi bilinen bir konu değildir.

Bu çalışmada anti-ASCT2 monoklonal antikorunun kimerik olarak insansılaştırılmış rekombinant antikor üretilmesi hedeflenmiştir. Bunun için ilk aşamada hibridoma gerçekleştirilerek monoklonal antikorlar üretilmiştir. Elde edilen antikorların özellikleri antijen-antikor bağlanma temelli ELISA ve western blotlama ile belirlenmiş ve Protein G ile saflaştırılmıştır. Anti-proliferatif etkisi kolon (HT29) ve meme (MCF7) kanseri hücre hatlarında gösterilmiştir. Anti-ASCT2 monoklonal antikorunun hem ağır zincir hem de hafif zincirinin değişken bölgeleri izole edilerek kısa bölgelerin homolojisine bağlı olan bir sistem ile insan immüoglobulin sabit bölgelerinin sekansını içeren vektöre klonlanmıştır. Son aşamada elde ettiğimiz kimerik anti-ASCT2 antikoru üretecek plasmid embriyonik böbrek (HEK293T) hücre hatlarına transfeksiyonu yapılarak üretimi yapılmıştır.

İleriye dönük en önemli hedefimiz, hastalıkların tedavilerinde kullanılabilecek monoklonal antikorların hümanizasyonunun yapılması ve insan kullanımı için pilot üretiminin gerçekleştirilmesidir. Başarılı bir şekilde geliştirdiğimiz rekombinant antikor ile benzer sistemlerin Türkiye'de oluşturulması ve bu konuda dışa bağımlılığı azaltan, ulusal alanda yenilikçi uluslararası alanda rekabetçi ürünlerin geliştirilmesi hususunda bir adım atılması ve ASCT2'ye karşı insansılaştırılmış rekombinant antikor ilaç olarak piyasada rekabet edebilen bir molekülün oluşturulması sağlanacaktır.

Bu çalışma TÜSEB tarafından 4466 numaralı proje ile desteklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: ASCT2, Glutamin metabolizması, Rekombinant antikor, Kanser.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Obez Hayvan Modelinde Egzersiz, Metformin, Pioglitazon ve Eksenatid Tedavilerinin İnsülin Reseptör Substrat-2 Gen Ekspresyonu Üzerine Etkileri

Sibel Oğuzkan Balcı¹; Murat Korkmaz²; İbrahim Yılmaz¹; Can Demirel¹; Ersin Akarsu¹

¹Gaziantep Üniversitesi, Gaziantep, Türkiye

²Gaziantep İslam Bilim Ve Teknoloji Üniversitesi, Gaziantep, Türkiye

Amaç: Bu çalışmanın amacı; obezitede insülin direncine neden olabilen, aynı zamanda insülin benzeri büyüme faktörü 1 ve diğer sitokinlerin etkilerine aracılık eden bir sitoplazmik sinyal molekülü olan insülin reseptör substrat-2 (Irs-2) molekülünün yıkımını ve bu yıkımı azaltıcı etkisini incelemektir. Bu amaçla diyabet ve obezite tedavisinde klinik kullanımda olan; metformin, eksenatid, pioglitazon ve egzersiz tedavilerinin karaciğer dokusunda Irs-2 ubiquitinasyonu üzerine etkileri obez hayvan modelinde araştırıldı.

Yöntem: Bu çalışmada obez sıçan modeli kullanıldı. Bu model obezite, diyabet ve insülin direnci ile karakterizedir. Obez sıçanlarda, metformin, pioglitazon, eksenatid ve egzersiz tedavileri uygulanarak karaciğer dokusunda Irs-2 gen ekspresyonu analiz edildi. Irs-2 gen ifadesinin analizi için Fluidigm BioMark HD cihazıyla Real Time PCR yöntemi kullanıldı.

Bulgular: Gen ekspresyon analizi sonuçları değerlendirildiğinde, pioglitazon uygulanan sıçanların karaciğer dokusunda Irs-2 genindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P>0.05$).

Sonuç: Bulgularımız obezite ve diyabet tedavisinde kullanılan bazı ilaçların Irs-2 proteininin proteazomal yıkımını değiştirebileceğini karaciğer dokusu üzerinde gösterdi. Ancak ubiquitinasyonun Irs-2'nin yıkımına katkısını ve bu mekanizma üzerinde hangi ilaçların etkili olduğunu göstermek için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Hayvan modeli, insülin reseptör substrat 2, obezite.

Bu çalışmanın bir kısmı TÜBİTAK (SBAG- 217S089) tarafından desteklenmiştir.



Yüksek doz fruktoz/düşük doz STZ ile oluşturulan Tip2 diyabetik sıçanlarda vitamin-D'nin karaciğer rejenerasyonuna etkisi

Sakina Rzayeva¹; Nargiz Bayramova¹; Tuğçe Özbilenler¹; Ayşe Seda Akdemir²; Merve Anapalı Aykaç³; Fatma Kaya Dağıstanlı¹; Turgut Ulutin¹; Ömer Uysal⁴; Melek Öztürk¹

¹İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Karabük Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Karabük, Türkiye

³Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

⁴İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Bu çalışmada, modifiye-deneysel diyabet modelinde karaciğer hasarına karşı Vitamin-D (VitD)'nin rejenerasyon mekanizması üzerine etkileri araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Sprague-Dawley sıçanlarda uzun süreli yüksek doz fruktoz (%10 luk) ve düşük/tek doz STZ (40mg/kg) uygulanması ile modifiye Tip2 diyabet modeli oluşturuldu. Deney 4 grupta toplandı. 1) Diyabetik grup (D). 2) VitD (170 IU/hafta) uygulanan diyabetik grup (D+VitD). 3) VitD grubu (VitD), 4) Kontrol grubu (K). 9.hafta sonunda deney hayvanları sakrifiye edildi, karaciğer dokuları histolojik incelenme için hazırlandı. Vücut ağırlığı, kan glikoz (KG) seviyeleri ve kalori alımı ölçüldü. Doku kesitlerine H+E, Van Gieson ve PAS boyamaları ayrıca TGF- β 1, α -SMA, Ki-67, SIRT-1, YAP/TAZ ve OV-6 antikoları ile immünohistokimyasal (İHK) boyama yapıldı. Bulgular istatistiksel analizler ile değerlendirildi.

Sonuçlar: Diyabetik grupta KG düzeyleri diğer gruplara göre anlamlı yüksekti ($p < 0.001$). D-grubunda, kolajen ve glikojen birikimi ayrıca hepatositlerde vakuolizasyon gözlemlendi. D+VitD'de, KG'de düşüş, dejenerasyon belirtilerinde azalma, ayrıca diyabetiklerde artan α -SMA ve TGF- β 1'in ekspresyon düzeyinin VitD uygulamasıyla azaldığı gözlemlendi ($p < 0.001$). Ki-67 immünopozitif hücre sayısında VitD ile tedavi edilen diyabetik grupta K ve D gruplarına göre daha yüksek bulundu ($p < 0.001$). Diyabetik gruba kıyasla, D+VitD'de periportal alanda, safra kanalı epitel hücrelerinde ve safra kanallarının periferindeki hücrelerde YAP/TAZ ve SIRT-1 immünopozitif hücrelerde artış saptandı ($p < 0.001$). D+VitD grubunda, portal-alanda lokalize OV-6 pozitif-oval hücrelerin sayısı artmıştı. Safra kanallarındaki OV-6-pozitif hücre sayısı D+VitD grubunda D grubuna göre anlamlı yüksekti ($p < 0.01$).

Tartışma: Kullanılan diyabet modelinde, rejenerasyon mekanizmalarını da uyararak diyabetik karaciğer hasarının önlenmesinde önemli bir etkiye sahip olduğu saptanan VitD'nin tedavide yararlı bir seçenek olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Fruktoz, Karaciğer, Rejenerasyon, Streptozotosin, Vitamin D.

Kuercetin ve RXR agonisti olan CD3254'ün meme ve kolon kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin araştırılması

Nurgül Abbasova¹; Eda Becer²; Ayşe Çırakoğlu¹

¹İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Doğu Akdeniz Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 99628, Gazi Mağusa, KKTC, Türkiye

Amaç: Kuercetin kanser hücrelerinin büyümesini inhibe etme özelliği olduğu bilinen flavonoid'tir. Yapılan çalışmalarda kuercetin'nin antioksidan, antikanserojen, antienflamatuar, anti-diyabetik ve antimikrobiyal aktiviteler dahil olmak üzere çeşitli biyolojik etkiler gösterdiği bildirilmiştir. RXR-Retinol veya A vitamininin başlıca biyoaktif metaboliti olan retinoik asit (RA), hücre büyümesinde, farklılaşmasında ve embriyonik gelişimde rol oynar. RXR modülatörleri kanser tedavisi için terapötik potansiyele sahiptir. CD3254, 30-metil grubunun bir pentoksi grubuna dönüştürülmesiyle elde edilen sentetik bir RXR agonistidir. Çalışmada, kuercetin ve CD3254'ün insan meme kanseri (MCF-7) ve insan kolorektal kanser (HCT-116) hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntemler: Bu çalışmada, kuercetin ve CD3254, MCF-7 ve HCT-116 hücrelerine uygulandı. Hem MCF-7 hem de HCT-116 hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkinin belirlenmesi için CCK8 yöntemi kullanıldı. GraphPad 6 programı kullanılarak %50'sini inhibe eden (IC50) değerler belirlendi.

Sonuçlar: Kuercetin, MCF-7 hücre hattında 24 saatlik IC50 değeri 68.3, 48 saatlik 97.74 olarak saptandı. Fakat, HCT116 hücrelerinde kuercetin herhangi bir sitotoksik etkisi gözlenmedi. CD3254'ün de her iki hücre hattında sitotoksik etkisi görülmedi.

Tartışma: Çalışmamızda, kuercetin MCF-7 hücrelerinde sitotoksik etki gösterdiği halde HCT116 hücrelerinde göstermediği tespit edildi. Elde edilen bulgular, kuercetin metastatik olmayan meme kanserinde kullanılabileceğini göstermektedir. Kuercetin meme kanseri tedavisinde yardımcı ajan olarak kullanılabilmesi için ileri çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: CD3254, HCT-116, kuercetin, MCF-7, sitotoksikite

Bu çalışma İÜC BAP Birimi tarafından Proje ID numarası 37223 ile desteklenmiştir



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Adipositlere Farklılaştırılmış 3t3-L1 Hücre Hatlarında Obezite ve Meme Kanseri İle İlişkili Markörlerin İn Vitro Şartlarda Transkripsiyon ve Translasyon Düzeyinde Analizi

Dilek AKBAŞ¹; Ceren BİLGİ¹; Tuba EDGÜNLÜ²; Reşat ÜNAL³

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Muğla, Türkiye

²Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Muğla, Türkiye

³Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Moleküler Hücre Biyolojisi Anabilim Dalı, Muğla, Türkiye

Obezite; kronik düşük dereceli bir enflamasyon ile karakterize olan epidemik bir hastalık olup, dünya genelinde en önemli sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Obezite durumunda adipositokinlerin artan seviyeleri, meme kanserinin ayırt edici özelliği olan sürekli proliferatif sinyalizasyon, enflamasyon, invazyon ve metastaz ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan çalışmalarda obezite ve meme kanseri arasındaki ilişkinin, enflamatuar sitokinleri içeren adipoz doku etrafındaki mikroçevreye bağlı olduğu gösterilmiştir fakat bu ilişki tam olarak anlaşılamamıştır. Bu çalışmada, seçilen markörlerin, adiposit hücrelerindeki özelleşmiş farklılaşmasına bağlı ekspresyon seviyelerindeki değişimi analiz etmek amacıyla, 3T3-L1 preadiposit hücreleri kullanılmıştır. Non-diferansiye ve diferansiye hücrelerde; obezite ile ilişkili LPL, FAS ve PPAR- γ ; meme kanseri ile ilişkili BRCA1, BRCA2 ve HER2 (erbB-2) markörlerinin transkripsiyonel ve translasyonel düzeyde ekspresyon seviyeleri analiz edilmiştir. Bu markörlerin ekspresyonlarının, kontrollere kıyasla farklılaşmış adiposit hücrelerinde arttığı görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Obezite, meme kanseri, Lpl, Fas, Ppar- γ , Brca1, Brca2, erbB-2



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Spontan Abortus Ön Tanılı Hastalarda Sitogenetik Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Mert İpekçi¹; Mahmut Balkan¹; Gülbahar Güzel Erdal¹; Mahir Binici¹; İlyas Yücel¹; Diclehan Oral¹; Selahattin Tekeş¹

¹Dicle Üniversitesi, Diyarbakır, Türkiye

Amaç: Spontan düşükler (SA) gebeliğin 20. haftasından önce fetal kayıp olarak tanımlanır. Klinik olarak gebeliklerin %10 ile %15'i SA ile sonuçlanır ve toplam gebelik kaybının tüm gebeliklerin %30 ile %50' si olduğu tahmin edilmektedir. SA' un en sık nedeni fetal kromozom anomalileridir. SA 'da kromozom dengesizliğinin sıklığı ilk trimesterde en az %50, ikinci trimesterde ise %20' dir. Bu çalışmanın temel amacı, SA' lu çiftlerde görülen düşüklerin sitogenetik anomali açısından değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışma grubunu 2023 yılında Dicle Üniversitesi Tıbbi Biyoloji- Genetik Anabilim dalı Genetik Tanı Laboratuvarına başvurmuş olan en az 2 düşük yapmış 100 çift oluşturmaktadır. Çalışma grubundaki hastalardan alınan venöz kan örnekleri periferik lenfosit kültürü sonrası elde edilen kromozomlara GTG (Tripsin-Giemsa) bantlama uygulanarak karyotip analizleri yapıldı.

Sonuç: Sitogenetik inceleme yapılan erkek hasta grubunun %80' inde normal kromozom yapısı gözlenirken, %13' ünde heterokromatin artışı, %3' ünde inversiyon, %2' sinde satellit artışı ve %2' sinde translokasyon gözlenmiştir. Bayan hasta grubunun %76' sında normal kromozom yapısı gözlenirken, %18' inde heterokromatin artışı, %3' ünde satellit artışı, %2' sinde mozaik aneuploidi ve %1' inde ise delesyon gözlenmiştir. Çiftlerin %5' inde her iki eşte de kromozom anomalisi tespit edilmiştir.

Tartışma: Çalışmamız, Spontan düşük yapan çiftlerde kromozom anomalisi sıklığının saptanması açısından önemlidir. Sitogenetik incelemenin yapılması sonraki gebelikler için dikkatli olunmasını açısından SA hastaların tanısı ve genetik danışmanlığı için faydalı bilgiler sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Abortus, kromozom anomalisi, sitogenetik.

Akciğer Kanseriinde Monogliserid Lipaz (MGLL) Geni ve İlişkili Mirna'ların Moleküler ve İn Silico Analizi

Çilem Özdemir¹; Özgür İlhan Çelik²; Arife Zeybek³; Tuğba Süzek⁴; Tuba Edgünlü⁵

¹Mugla Sitki Kocman University, Health Sciences Institution, Department of Medical Biology, Muğla, Türkiye

²Mugla Sitki Kocman University, Faculty of Medicine, Department of Medical Pathology, Muğla, Türkiye

³Mugla Sitki Kocman University, Faculty of Medicine, Department of Chest Surgery, Muğla, Türkiye

⁴Mugla Sitki Kocman University, Faculty of Engineering, Department of Computer Engineering, Muğla, Türkiye

⁵Mugla Sitki Kocman University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Muğla, Türkiye

Amaç: Akciğer kanseri, kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenlerinden biridir. Kanser hücrelerinde değişen lipid metabolizması dikkat çeken hücresel süreçler arasında yer almaktadır. Monogliserit lipaz (MGLL), monoasilgliseritleri yağ asitlerine ve gliserole dönüştüren lipolitik bir enzimdir. Hücrelerde meydana gelen biyolojik olayların arkasında genlerin ifadesindeki değişiklikler yatmaktadır. Hücrelerdeki gen ifadesinin önemli epigenetik düzenleyicilerinden biri olan mikroRNA'lar (miRNA), akciğer kanserinin tanı, tedavi ve prognozunda potansiyel biyobelirteçler olarak kabul edilmektedir. Çalışmada MGLL geni ve hedef genlerinden birisi de MGLL olan miR-302b-5p, miR-190a-3p ve miR-450a-2-3p miRNA'larının ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi ve in silico analizlerinin yapılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Real-time PCR ile genlerin ekspresyon seviyeleri belirlendi ve MGLL geni ile etkileşime giren genlerin ve hedef genlerinden biri MGLL olan miRNA'ların gen ontolojisi (GO) ve yol analizleri in silico olarak analiz edildi.

Sonuçlar: Akciğer kanseri dokularında MGLL geni ve miR-302b-5p, miR-190a-3p ve miR-450a-2-3p miRNA'ların ekspresyon düzeylerinin anlamlı düzeyde azaldığını belirledik ($p < 0,05$). MGLL geninin etkileşime girdiği 37 gen belirlendi. Akciğer kanseri için hedef alınabilecek genler arasında metionin sülfoksit redüktaz B3 (MSRB3), Fc epsilon reseptör immünoglobulin (FCER1G), 5-hidroksitriptamin reseptör 4 (HTR4) ve lökotrien B4 reseptör 2 (LTB4R2) genleri yer almaktadır. Ekspresyon düzeyleri araştırılan miRNA'lar, kanser patogeneğinde rol oynadığı bilinen çeşitli biyolojik süreçlerde ve sinyal yollarında yer almasına rağmen, öne çıkan sinyal yolunun transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β) sinyal yolu olduğu görülmüştür.

Tartışma: MGLL geni ve miR-302b-5p, miR-190a-3p ve miR-450a-2-3p miRNA'ları akciğer kanserinde tümör baskılayıcı aktiviteye sahipti. MSRB3, FCER1G ve LTB4R2 genleri, özellikle de HTR4 geni, akciğer kanseri için potansiyel hedef genler olabilir.

Anahtar kelimeler: Akciğer kanseri, gen ekspresyonu, in silico, MGLL, miRNA



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Uzun Kodlanmayan RNA NEAT1, miR-139-5p, miR-129-5p, TGF- β 1 ve Kollajen Tip I'in Pelvik Organ Prolapsusu ile İlişkinin Araştırılması

Ayşegül Demirtaş Bilgiç¹; Ahmet Akın Sivaslıoğlu²; Burcu Kasap²; Burak Sezgin²; Melike Nur Akın²; Eren Akbaba²; Çilem Özdemir¹; Tuba Edgünlü³

¹Mugla Sıtkı Koçman University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Biology, Mugla, Türkiye

²Mugla Sıtkı Koçman University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Mugla, Türkiye

³Mugla Sıtkı Koçman University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Mugla, Türkiye

Amaç: Pelvik Organ Prolapsusu (POP), pelvik destek dokusundaki zayıflamadan kaynaklı olarak pelvik organların aşağı doğru hareket ettiği jinekolojik benign bir hastalık olarak bilinmekle birlikte moleküler mekanizması tam olarak aydınlatılmamıştır. Literatürde yer alan POP ile ilgili daha önceki çalışmalar özellikle dönüştürücü büyüme faktörü beta 1 (Transforming growth factor- beta 1; TGF- β 1) ve kollajen tip I seviyelerinin POP'da değişiklik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Günümüzde gen ekspresyonunun regülasyonunda önemli yer alan mikro RNA'lar (microRNA; miRNA/miR) ve uzun kodlanmayan RNA'lar (long non-coding RNA; lncRNA) hastalıkların tanısında, önlenmesinde, tedavisinde ve prognozunda önemli faydalar sağlamaktadır. Çalışmamızın amacı, POP hastalığı ile ilişkisi daha önce bildirilmiş olan TGF- β 1 ve kollajen tip I'in regülasyonunda etkili olduğu bilinen nuclear-enriched abundant transcript 1 (NEAT1), miR-139-5p ve miR-129-5p ekspresyon düzeylerinin POP hastalığı üzerindeki etkisinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmamıza POP tanısı almış 34 hasta ve sağlıklı 30 kontrol birey dahil edilmiştir. Örneklem grubu fasya dokularından elde edilen RNA ile NEAT1, miR-139-5p ve miR-129-5p ekspresyon düzeyleri gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. TGF- β 1 ve kollajen tip I protein seviyeleri ise enzime bağlı immünosorbent yöntemi (ELISA) ile değerlendirilmiştir.

Sonuçlar: Sonuç olarak POP hastaları ve kontrol grupları karşılaştırıldığında miR-129-5p ekspresyon seviyesi POP grubunda anlamlı ölçüde yüksek tespit edilmiştir (p=0.011). Ayrıca TGF- β 1 protein seviyesi POP grubunda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek sonuç vermiştir (p=0.000).

Tartışma: Elde edilen veriler ile POP mekanizmasında özellikle miR-129-5p'nin etkili olabileceği gösterilmiştir. İleri çalışmalarda miR-129-5p'yi düzenleyen lncRNA'lar ve miR-129-5p'nin düzenlediği diğer genler tespit edilerek POP ile ilişkileri araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Pelvik Organ Prolapsusu, lncRNA, miRNA, TGF- β 1, Kollajen

Gestasyonel Diyabetli Olguların Plasenta Dokusunda miR-139-5p, TGFB1 ve COL1A1 Değişiklikleri

Melike Nur Akın¹; Burcu Kasap¹; Fatih Piriñci¹; Burak Sezgin¹; Çilem Özdemir²; Ayşegül Demirtaş Bilgiç²; Younes Aftabi³; Tuba Edgünlü⁴

¹Muğla Sıtkı Kocman University, Faculty of Medicine, Department of Gynaecology and Obstetrics, Muğla, Türkiye

²Muğla Sıtkı Koçman University, Health Sciences Institution, Department of Medical Biology, Muğla, Türkiye

³Tabriz University of Medical Sciences, Tuberculosis and Lung Diseases Research Center, Tebriz, Iran

⁴Muğla Sıtkı Kocman University, Faculty of Medicine, Department of Medical Pathology, Muğla, Türkiye

Amaç: Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM) olgularının plasentasında yapısal değişiklikler bulunmaktadır. TGF- β ve kollajen yolakları, doku yeniden şekillenmesinde önemli rollere sahiptir ve sırasıyla TGF- β 1 ve COL1A1, bu sinyalleşmede önemli genlerdir. Ayrıca lncRNA NEAT1 ve miRNA hsa-miR-139-5p ve hsa-miR-129-5p'nin TGF- β 1 ve COL1A1 üzerinde düzenleyici etkileri vardır. Burada GDM vakalarının plasenta dokusundaki ekspresyonlarını değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 30 GDM'li hasta ve 30 sağlıklı hamile kadın katıldı. Normal veya sezaryen doğum sırasında alınan plasenta dokuları kullanıldı ve dokulardan total RNA izole edildi. mRNA seviyeleri qPCR ile, protein seviyeleri ise ELISA yöntemleriyle belirlendi. TGF- β 1 ve COL1A1 gen ağlarının GDM ile olası ilişkisini aydınlatmak için in silico analizi yapıldı.

Sonuçlar: NEAT1 ve miR-129-5p ekspresyon düzeylerinin GDM ve sağlıklı kontrol grupları arasında farklılık göstermediğini belirledik (sırasıyla $p=0,697$ ve $0,412$). Ancak miR-139-5p mRNA düzeyi, TGFB1 ve COL1A1 protein düzeyleri GDM ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık göstermektedir (sırasıyla $p=0,000$, $p=0,000$ ve $p=0,001$). In silico analizi, TGFB1 ve COL1A1 gen ağının üye çeşitliliği ile GDM'de önemli bir role sahip olabileceğini ve NEAT1, hsa-miR-139-5p ve hsa-miR-129-5p düzenleyici moleküllerinin işlevlerini kontrol edebildiğini ortaya çıkardı.

Tartışma: TGFB1, COL1A1 ve miR-139-5p'nin ekspresyonu, GDM vakalarının plasenta dokusunda değişmektedir ve TGFB1 ve COL1A1'in etkileşimli ağlarındaki birçok gen, GDM'nin patojenitesine katkıda bulunabilir.

Anahtar kelimeler: COL1A1, Gestasyonel diyabet mellitus, in silico, TGF- β

HEREDİTER SPASTİK PARAPLEJİ-4'ÜN Patofizyolojisinde TAU'nun Rolünün Araştırılması

Şeyma Akarsu¹, Emanuela Piermarini², Peter Baas², Arzu Karabay-Korkmaz¹

¹*İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye*

²*Drexel Üniversitesi, Nörobiyoloji ve Anatomi Bölümü, Philadelphia, ABD*

Amaç: Hereditör Spastik Parapleji (HSP) kortikospinal yolda dejenerasyon ile karakterize, genetik ve klinik olarak heterojen bir nörodejeneratif hastalıktır. HSP'nin en sık görülen tipi HSP-SPG4'e, mikrotubul kesici protein Spastini kodlayan SPG4 geninde meydana gelen mutasyonlar neden olmaktadır. 2 izoforma sahip Spastinin M1 izoformu hastalıkla ilişkilendirilmektedir. İnsan mutant Spastininin eksprese eden farelerde M1-Spastinin birikimi nedeniyle hücrede toksik etkiye sebep olabilecek yeni fonksiyon kazanımının HSP-SPG4 patofizyolojisine neden olduğu ileri sürülmüştür. Daha önce yapmış olduğumuz çalışmamızda Spastinin bir aleli knock-out olan ve mikrotubul kesim aktivitesi olmayan C448Y-Spastin mutasyonunu taşıyan farelerde asetillenmiş tubulin seviyesindeki azalmaya bağlı olarak hızlı aksonal transport (FAT) defektinin olduğu ve asetillenmiş tubulin seviyesindeki azalmadan Histon Deasetilaz 6 (HDAC6) aktivitesindeki artışın sorumlu olduğunu gösterdik. Bu çalışmamızda ise, mutant Spastinin toksik etkisi ile aksonal transportun diğer regülatörü ve HDAC6'nın substratı olan Tau arasındaki ilişkiyi inceledik. Tau patolojisinin neden olduğu hastalıklarda Tau'nun fosforilasyonu ve deasetilasyonu sonucu Tau mikrotubullerden ayrılarak mikrotubullerin destabilizasyonuna neden olmaktadır. Bunun sonucunda bir yandan Tau oligomerleri oluşurken, diğer yandan stabilize mikrotubuller FAT'a neden olmaktadır. Destabil mikrotubullerin olduğu HSP-SPG4 hastalarında Tau lezyonları gözlenmesine rağmen Tau'nun HSP-SPG4'teki rolü araştırılmamıştır. Çalışmamızda mutant Spastinin toksik etkisi ve Tau patolojisi arasındaki ilişkinin aydınlatılması hedeflenmektedir.

Yöntem: HSP-SPG4 patolojisinde Tau'nun rolünü anlamak için, yabancıl tip (wt), Spastinin bir alelinin olmadığı (KO-het), insan C448Y mutasyonunu taşıyan hSPAST-C448Y (Het), KO-het ve Het farelerin çiftleştirilmesi ile elde edilen hSPAST-C448Y+/-;Spast+/- (dHet) genotiplerine sahip farelerin servikal, lomber ve motor kortekslerinden protein izole edildikten sonra total Tau seviyesini inceledik.

Sonuçlar: Het ve dHet farelerdeki 50 ve 70 kDa Tau izoformlarının seviyesinde, wt ve KO-Het fareler ile kıyaslandığında artış olduğunu ortaya koyduk. İlave olarak, rolü tam olarak aydınlatılmamış olan yüksek moleküler ağırlıklı Big Tau'nun, sadece Het ve dHet farelerin servikal ve lumbarda eksprese olduğunu gösterdik.

Tartışma: Elde ettiğimiz bulgular, mutant Spastinin toksik etkisi ve Tau patolojisi arasında ilişki olduğunu ortaya koymakta ve HSP-SPG4'ün patofizyolojisinin anlaşılmasına yeni bir bakış açısı sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: HSP-SPG4, Mikrotubul, Spastin, Tau.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Sodyum Hipoklorite Maruz Kalan Üreme Çağındaki Kadınların Periferik Kan Lenfosit Kültürlerinde Kromozom Aberasyonları

Gülbahar Güzel Erdal, Mahmut Balkan, Mert İpekçi, Mahir Binici, Diclehan Oral, İlyas Yücel, Selahattin Tekeş

Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji-Genetik AD., Diyarbakır, Türkiye

Amaç: COVID-19'un yayılmasıyla birlikte dezenfektan olarak sodyum hipoklorit (NaOCl) kullanımının artması, gelecekte insan sağlığına ve ekosistemlere ciddi zararlar verebilir. Son zamanlarda yapılan birçok çalışma, sodyum hipokloritin insanlarda göz tahrişine, astıma, oksidatif hasara, merkezi sinir sistemi fonksiyon bozukluğuna ve üreme bozukluklarına neden olabileceğini düşündürmektedir. NaOCl'nin sitotoksik ve genotoksik etkisi nedeniyle üreme bozuklukları gibi birçok hastalıkta önemli bir risk faktörü olduğu düşünülebilir. Vaka kontrollü bu çalışmanın amacı, NaOCl'in kadınlarda üreme başarısızlığına neden olan kromozomal hasarlar üzerinde etkisinin olup olmadığını belirlemek, yapısal ve sayısal kromozomal anormallikleri tespit etmektir.

Gereç ve Yöntem: Sitogenetik tanı için periferik kandan rutin karyotip analizi ile elde edilen karyotipler 3 gruba ayrıldı; grup I, sodyum hipoklorite maruz kalan 104 kadını (≥ 10 yıl boyunca ≥ 5 litre çamaşır suyu/ağırlık) içeriyordu, grup II ise sodyum hipoklorite maruz kalmayan 51 kadını içeriyordu. Grup III, grup I'den seçilen ve NaOCl kullanımı durdurulduktan üç ay sonra tekrarlanan kromozom analizine tabi tutulan 15 kadından oluşuyordu. 156 hastanın periferik lenfosit doku kültürü tekniği ile elde edilen 6800 metafazı G-bantlama metoduyla boyanarak incelendi.

Sonuç: 6800 metafazların 943'ünde (%13,86, $p=0,002$) kromozomal anormallik kaydedilmiştir. Kromozom anormallikleri grup I'de %34,4 ($p=0,001$), grup II'de %0,66 ($p=0,000$) ve grup III'te %5,77 ($p=0,001$) olarak tespit edildi).

Tartışma: NaOCl'ye uzun süreli ve sürekli maruz kalmanın kromozomları olumsuz etkileyerek kromozom anormalliklerini tetiklediğini ve üreme sistemi üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceğini düşünmekteyiz.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Güneydoğu Anadolu Bölgesindeki Ankilozan Spondilit Tanılı Hastaların Hla-B27 Prevelansı

Mahmut Balkan, Gülbahar Güzel Erdal, Mahir Binici, Mert İpekçi, Diclehan Oral, İlyas Yücel, Selahattin Tekeş

Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji-Genetik AD., Diyarbakır, Türkiye

Amaç: İmmün repertuar çalışmalarının önemli bir etki yaratabileceği patolojilerden biri olan Ankilozan spondilit (AS), omurganın periferik eklemlerin ve eklem çevresindeki dokuların enflamasyonu ile karakterize edilen bir hastalıktır. İnsan lökosit antijeni (HLA B27), AS 'nin genetik belirteçidir. Bu nedenle AS 'ye HLA B27 ile ilişkili hastalık da denilmektedir. Çalışmamız 2022-2023 yılları arasında Diyarbakır'da AS tanısı konulan hastalarda HLA B27'nin yerel toplumdaki yaygınlığının ve etkisinin anlaşılmasına katkıda bulunmaktadır.

Gereç ve Yöntem: 2022 2023 yılları arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizik Tedavi Kliniğine AS semptomlarıyla başvuran 280 (143 erkek, 137 kadın) hasta, Dicle Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'na yönlendirildi. Kontrol grubu olarak laboratuvarımıza kemik iliği bağışçısı olmak için başvuran akraba dışı kişilerden 50 kişi (25 erkek, 25 kadın) seçildi. Her iki grupta da periferik kandan tuz çökteltme yöntemi kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. PCR analizi için Rotar Gene Q cihazı kullanıldı. Değişkenlerin prevalansları analiz edildi. İstatistiksel analiz için Mann-Whitney U testi yöntem olarak ise Spearman rho korelasyon istatistikleri kullanıldı.

Sonuç: AS şüphesi olan 280 vakanın radyolojik muayene ve laboratuvar testleri yapıldı. Kesin AS tanısı konulanların prevalansı 22,5 (%95 GA: 0,75 0,9325) olarak hesaplandı. Radyolojik incelemeler ve laboratuvar testleri sonucunda AS tanısı alan 70 hastanın 63'ünde HLA B27 prevalansı %90 olarak hesaplandı.

Tartışma: Çalışmamızın Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde AS hastalarında HLA B27 pozitifliğinin değerlendirilmesinde literatüre katkı sağlayacağını düşünüyoruz. Bölgemizde HLA B27 prevalansı Türkiye prevalansından yüksek bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Ankilozan spondilit, insan lökosit antijeni B27, prevalans

Shwachman-Diamond Sendromunda MAP7D1 Gen Mutasyonunun Fonksiyonel Karakterizasyonu

Seren Küçükvardar¹, Arda Çetinkaya², Ayşe Nurten Akarsu², Arzu Karabay¹

¹*İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji-Genetik ve Biyoteknoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

²*Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye*

Amaç: Shwachman-Diamond Sendromu (SDS) kemik iliği yetmezliği, pankreas yetersizliği ve iskelet bozuklukları ile karakterize olan otozomal resesif bir hastalıktır. SDS, ribozom biyogenezinde görevli genler ile ilişkilendirilmekle birlikte, bu genlerden biri olan SBDS'de gözlenen mutasyonların mitotik iğ instabilitesine bağlı kemik iliği yetmezliğine yol açtığı bilinmektedir. SDS kohortu ile yapılan genetik bir çalışmada hasta bir bireyde SDS-ilişkili genlerde mutasyon gözlenmezken; MAP7D1 proteinini kodlayan gende MAP7D1:c.601C>T,p.Arg201Trp varyantı ön plana çıkmıştır. Mikrotubul-ilişkili protein aile üyelerinden olan ve mikrotubul ve kinezin bağlanma bölgeleri ile mikrotubullere ve kinezinlere bağlanarak organel/veziküllerin taşınımında ve mikrotubul yeniden organizasyonunda rol oynayan MAP7D1 proteinindeki mutasyon in silico analizlerle incelendiğinde, mutasyonun MAP7D1'in mikrotubul bağlanma bölgesine isabet ederek 3 boyutlu yapıyı değiştirdiği gözlenmiştir. Mutasyonun isabet ettiği bölge ve mitotik iğ stabilitesinin SDS etiyolojisindeki önemi göz önüne alınarak, MAP7D1:p.Arg201Trp mutasyonunun mikrotubul-MAP7D1 ilişkisini bozarak SDS'den sorumlu olabileme ihtimalinin fonksiyonel çalışmalar ile incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: MAP7D1:p.Arg201Trp mutasyonuna bağlı olarak mikrotubul-MAP7D1 etkileşiminde gözlenebilecek değişiklikler hem pull-down deneyi ile HEK293T hücrelerinde hem de immunositokimya deneyi ile kontrol/hasta primer fibroblast hücrelerinde ve T98G hücrelerinde incelenmiştir. Ardından, kontrol/hasta fibroblast hücrelerindeki mitotik iğ yapıları immunositokimya yöntemi ile incelenerek MAP7D1:p.Arg201Trp'in mitotik iğ stabilitesine etkisi araştırılmıştır.

Sonuçlar: MAP7D1:p.Arg201Trp mutasyonunun mikrotubul-MAP7D1 etkileşimini büyük ölçüde bozduğu; normalde mikrotubuller ile ko-lokalize bulunup filament mikrotubul yapısının oluşmasını sağlayan MAP7D1 proteinlerinin p.Arg201Trp mutasyonu durumunda mikrotubuller ile ko-lokalizasyonunun azaldığı ve böylelikle mikrotubullerin demetsi filamentler halindeki stabil yapısını kaybettiği gözlenmiştir. İlaveten, kontrol fibroblast hücrelerinin iki sentrozom arasında düzgün bir mitotik iğ yapısına sahip olduğu ve kromozomların mitotik iğde hizalandığı gözlenirken, hasta fibroblast hücrelerinin ikiden fazla sentrozom arasında instabil mitotik iğ oluşturdukları ve kromozomların hizalanamayıp dağınık kaldığı bulunmuştur.

Tartışma: Bu çalışma, daha önce sınırlı sayıda araştırmacının gözlemlediği mitotik iğ iplikleri değişikliklerinin aslında SDS etiyolojisinde önemli bir rolü olduğuna işaret eden ön verilere sahip olup, SDS ile ilişkili yeni bir nedensel gen olma ihtimalini ortaya çıkarabilecek olması bakımında da elzemdir.

Anahtar Kelimeler: MAP7D1, Mikrotubul, Mitotik iğ.

Bu çalışma, 121Z610 numaralı TÜBİTAK-COST projesi tarafından desteklenmektedir.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Azospermi Ön Tanılı Hastada Moleküler Ve Sitogenetik Vaka Sunumu

Cihan Durmuş¹; Davut Coşkun¹; Diclehan Oral¹; Selahattin Tekeş¹; Mahir Binici¹; İlyas Yücel¹; Mahmut Balkan¹

¹Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji-Genetik AD, Diyarbakır, Türkiye

Amaç: Azospemili veya oligozoospemili erkeklerde, Y kromozomunun AZFa, AZFb, AZFc bölgelerinin delesyonlarını saptamak amacıyla tetkik edilmeleri, tanısal amaçlı testis biyopsisi, cryo-TESE ve TESE/ICSI uygulamaları arasında seçim yapmamız bakımından son derece faydalıdır. Y-delesyonlarının teşhis edilmesi sadece spermatogenezdeki bozukluğun etiolojisini tanımlamakla kalmaz, aynı zamanda infertil erkeğin ve doğacak erkek çocuğun uygun klinik takibi için de değerli bilgiler verir. Sayısal ve yapısal kromozom anomalileri azospermi olgularında ve infertilitede etkili olan sebeplerden biridir. İnfertilite ön tanısı ile gelen hastalarda moleküler genetik tetkiklere ek olarak sitogenetik ve gerekli durumlarda moleküler sitogenetik incelemelerin yapılması tanı ve tedavinin sağlıklı yürütülmesi açısından önemlidir.

Gereç ve Yöntem: Periferik kandan tuz çökeltilme yöntemi kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır. Y kromozomundaki AZF-a AZF-b AZF-c bölgesindeki mikrolelesyonları incelemek amacıyla RT-PCR'a uygun paneller hazırlanmıştır. Kontrol olarak SRY ve ZFY kullanılmıştır. Sonuçlar Qiagen rotor gene Q ile analiz edilmiştir. Sitogenetik analizler için periferik kandan tam kan hücre kültür yöntemi kullanılarak kromozom eldesi yapılmış ve elde edilen metafazlar karyotiplendirilerek rapor oluşturulmuştur.

Sonuç: Y kromozomundaki AZF-a AZF-b AZF-c bölgesinde yapılan moleküler analiz sonucunda AZF-b(sY127-sY134) AZF-c (sY254-sY255) bölgelerinde mikrolelesyon tespit edilmiştir. Yapılan kromozom analiz sonucunda hastada 46,XY,inv(9)(p13;q13) kromozom kuruluşu tespit edilmiştir

Tartışma: İncelenen bölgelerde mikrolelesyon tespit edilmesi hastanın azospermi öyküsü ile uyumlu bir sonuç olup Hastaya ait bu sonucun klinik ve laboratuvar bulguları ile beraber değerlendirilmesi önerilmektedir. Klinik ve laboratuvar bulguları pozitif olan vakada olası diğer mutasyonlar için dizi analizi yapılması ve Genetik danışmanlık verilmesi önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Azospermi, Y mikrolelesyonu, Karyotip.



18. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi Holiday Inn Otel, Ankara | 26-29 Ekim 2023



Meklofenamik Asidin Lncap Hücrelerinin Proteomu Üzerindeki Etkisinin Araştırılması, Alternatif Poliadenilasyon ve Birleştirme Makinelerindeki Değişiklikleri Ortaya Koymaktadır

Büşra Şahinöz Sağlam¹; Aylin Kanlı¹; Sevinç Yanar¹; Murat Kasap¹; Gürler Akpınar¹

¹Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmit-Kocaeli, Türkiye

Prostat kanseri erkekler arasında en sık görülen kanser türüdür ve hala kesin olarak etkili bir ilaç tedavisi yoktur. Bu nedenle etkili tedavi için kullanılabilecek yeni ilaç ajanlarının arayışı devam etmektedir. Çeşitli kanser türlerinde anti-tümör etkileri olan, steroid olmayan bir anti-inflamatuar ilaç olan meklofenamik asit (MA), bir prostat kanseri hücre dizisi olan LNCaP hücreleri üzerindeki proteom düzeyindeki etkilerini araştırmak için kullanıldı. Hücreler 24 saat boyunca 80 uM MA ile muamele edildi ve muamele edilmemiş kontrol hücreleriyle karşılaştırmalı bir proteomik analiz yapıldı. Proteinler hücrelerden ekstrakte edildi ve daha sonra iki boyutlu jel elektroforezine tabi tutuldu. Düzenleme oranlarında iki kattan fazla değişiklik gösteren protein noktaları jellerden çıkarıldı ve MALDI-TOF/TOF kütle spektrometresi ile tanımlandı. Tanımladığımız diferansiyel olarak düzenlenmiş proteinlerin biyoinformatik analizi, bunların hepsinin ilgili yollarla ilişkili olduğunu ve bu yollarda yer aldığını gösterdi. Glikolitik yol, hücre iskeleti oluşumu, taşıma aktivitesi, protein metabolizması ve en önemlisi mRNA işleme yolu MA tedavisinden etkilenmiştir. MA tedavisi sonrasında hücrelerin içinde neler olduğuna ilişkin ayrıntılı bilgi sunmanın yanı sıra, MA tedavisinden etkilenen proteinler, daha fazla in vivo deney yapılması koşuluyla prostat kanseri tedavisi için yeni hedefler olma potansiyeline sahiptir.

Anahtar Kelimeler: LNCaP hücreleri; MALDI-TOF/TOF; Meklofenamik asit; Prostat kanseri; Proteomik.

Dolaşımdaki Mir-146a-5p Rölatif Ekspresyon Seviyesinin Ve MIR146A Rs2910164 G>C Genetik Polimorfizminin Yineleyen-Düzelen Multipl Sklerozla İlişkisinin İncelenmesi

Ata Ayhan Yılmaz¹; Semra Mungan²; Birsen Can Demirdöğen¹

¹TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

²Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Şehir Hastanesi, Nöroloji Kliniği, Ankara, Türkiye

Amaç: Multipl Skleroz (MS), enflamatuar, otoimmün, nörodejeneratif bir merkezi sinir sistemi hastalığıdır. Yineleyen-düzelen MS (Relapsing-Remitting MS – RRMS), atak dönemlerinden sonra tam veya tama yakın iyileşme dönemleriyle seyrederek mikroyRNA'lar (miRNA), transkripsiyon sonrası gen ekspresyonu düzenlemesinde yer alan, kodlamayan bir RNA sınıfıdır. miR-146a-5p'nin bağışıklık yanıtlarının ve enflamasyonun düzenlenmesinde rolü vardır. miRNA genlerinde birçok tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism – SNP) vardır. rs2910164 G>C SNP'si MIR146A geninin intronik bir varyantıdır ve genin ekspresyonunu değiştirebilir. Multipl Skleroz Şiddet Skoru (Multiple Sclerosis Severity Score – MSSS), hastalığın zaman içindeki ilerleme hızının göstergesidir. MSSS'de >5 değeri hastalığın hızlı ilerleme durumunun göstergesidir. Bu çalışmada dolaşımdaki miR-146a-5p rölatif ekspresyon seviyesinin ve rs2910164 SNP'sinin MS riski ve progresyonu ile ilişkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Ankara Şehir Hastanesi Nöroloji Kliniği tarafından 364 RRMS hastası ve 364 sağlıklı kontrolden kan örnekleri toplanmıştır. Tam kan örneklerinden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve TaqMan genotipleme yöntemi kullanılarak rs2910164 G>C genotipleri belirlenmiştir. Çalışma grubundaki 27 naif RRMS hastası, 26 fingolimod tedavisi gören hasta ve 28 kontrolün miR-146a-5p plazma ekspresyon seviyeleri qRT-PCR yöntemiyle belirlenerek rölatif ekspresyon seviyeleri 2 $\Delta\Delta C_t$ yöntemiyle hesaplanmıştır.

Sonuçlar: Dolaşımdaki miR-146a-5p'nin rölatif ekspresyon seviyesi bakımından gruplar arasında anlamlı fark yoktur ($P=0.750$). Polimorfik C alelinin frekansı RRMS hastalarında 0.268, kontrol grubunda 0.228 olarak hesaplanmıştır ($OR=1.24$, $P=0.08$). Genotip dağılımı baskın (dominant) modelde (CC+GC vs. GG) hastalar ve kontroller arasında anlamlı derecede farklıydı ($OR=1.35$, $CI=1.01-1.82$, $P=0.045$). MSSS>5 olan hastaların sıklığı, hem eş baskın modelde ($P=0.03$) hem de baskın modelde ($P=0.01$) genotipler arasında anlamlı derecede farklılık göstermiştir.

Tartışma: Bu çalışmada elde edilen bulgulara göre MIR146A rs2910164 G>C SNP'si MS riski ile ilişkilidir; ayrıca dominant modelde bu SNP ile hastalığın ilerlemesi arasında da bir ilişki olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Gen ekspresyonu, mikroRNA, multipl skleroz, tek nükleotid polimorfizmi.