



DETAE Genç Araştırmacılar Toplantısı 2015

İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE), Asistan Platformu, Eylül 2014 tarihinde DETAE genç araştırmacılarıyla başlayan bir oluşumdur. Asistan Platformu, DETAE araştırmacıları arasındaki iletişimi güçlendirmek, olası işbirliklerini teşvik etmek ve araştırmacıların birbirinden haberdar olmasını sağlamanın yanında, araştırma görevlilerinin ve enstitü lisanüstü öğrencilerinin bilimsel ve sanatsal çalışma, eğitim-öğretim, özlük hakları, sosyal ve kültürel alanlardaki etkinlikleri gibi konularla ilgili sorunlarının, taleplerinin ve önerilerinin saptanması, bu sorunların çözümü, taleplerin ve önerilerin yerine getirilmesi için gerekli idari başvurularda bulunulmasının karara bağlanması, bu saptamaların ve alınan kararların enstitü yönetimine tek bir ses olarak iletilmesi hedefiyle kurulmuştur.

Asistan Platformu'nun çerçevesi dahilinde DETAE'ye katkıda bulunan herkesin katılabilmesi için üyelik tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır ve kadro şartı aranmamaktadır. DETAE bünyesinde yürütülmekte olan eğitim, öğretim, araştırma, rutin ya da işleyişle ilgili herhangi bir alanda görev alan tüm araştırmacılar platformun üyesi olabilir. Asistan Platformu'nda hedeflenen tüm üyelerin sözcülük hakkına sahip olabilmesidir, bu sebeple tüm üye asistanların en az bir kez platformu temsil edebileceği bir yapı sağlanmıştır.

Platform sözcüleri, Yönetimin de onayıyla Enstitü Yönetim Kurulu toplantılarına katılır ve periyodik olarak gerçekleştirilen platform toplantılarında alınan kararları ve talepleri yönetime iletir.

Henüz beşinci ayını doldurmakta olan Asistan Platformu ilk faaliyet olarak 19-20 Ocak 2015 tarihlerinde, DETAE Genç Araştırmacı Toplantısı'nı gerçekleştirmektedir. DETAE Genç Araştırmacı Toplantısı'nın amacı DETAE'de farklı anabilim dallarında ya da aynı anabilim dalında farklı konularda araştırmalar yürütmekte olan araştırmacıların çalışma konularını birbirleriyle paylaşmaları ve olası ortak çalışmaların önünün açılmasıdır.

Bu yıl ilkini gerçekleştirdiğimiz toplantımızın sürdürülebilir olmasını temenni ediyor, tüm araştırmacılar için faydalı bir toplantı olmasını diliyoruz.

İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Asistan Platformu

Program

20 Ocak 2015, Salı

- 08.45 – 09.00 **Açılış Konuşması:** Prof. Dr. Uğur Özbek
- 09.00 – 10.30 **Eğitim Oturumu, Moderatör:** Prof. Dr. Uğur Özbek
- 09.00 – 09.30 **Prof.Dr. Kemal Korkmaz:** Tübitak-ARDEB Araştırma Destek Programları
- 09.30 – 10.00 **Prof.Dr. Tuncay Demiryürek:** Tübitak Proje Yazımında Dikkat Edilmesi Gereken Noktalar
- 10.00 – 10.30 **Prof.Dr.Gül Akdoğan:** Doktora Eğitimi Nasıl Olmalıdır? Orpheus Doktora Standartları
- 10.30 – 11.00 Kahve Molası
- 11.00 – 12.30 **1. Oturum: Sözlü Bildiriler, Moderatör: Doç. Dr. Esin Çetin Aktaş**
- 11.00 – 11.15 **Yusuf Metin Gelmez:** Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) Hastalarda AID Protein Düzeyinin ve miRNA İlişkisinin Analizi
- 11.15 – 11.30 **Neslihan Çoban:** Seramid metabolizması ile ilişkili genlerin ateroskleroz patogenezindeki potansiyel rollerinin araştırılması
- 11.30 – 11.45 **Ece Erdağ -** İntraserebral Nöro-Behçet IgG ve serum enjeksiyonunun beyin parankim histolojisi üzerine etkileri
- 11.45 – 12.00 **Fatma Yeşim Kesim:** SNP- Array Yöntemi Kullanılarak Kopya Sayısı Değişikliklerinin (CNV) Tespiti
- 12.00 – 12.15 **Sevcan Mercan:** B-ALL hastalarında CRLF2,JAK2,IL7R,PAX5 gen mutasyonlarının amplikon derin dizileme ile tespiti
- 12.15 – 12.30 **Bilge Özsait Selçuk:** İnfertil bireylerde spermatozoal RNA'ların embriyo gelişim potansiyeli ile ilişkisinin araştırılması
- 12.30 – 12.45 **Sinem Şişko:** Primer Antikor Yetersizlik Hastalarında Moleküler Tanı
- 12.45 – 13.45 Öğle Yemeği
- 13.45 – 14.45 **Key Note Speaker : Doç. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY – Hacettepe Üniversitesi**
“Hastalıkların Evrimsel Temeli”
- 14.45 - 15.00 Kahve Molası
- 15.00 – 16.30 **2. Oturum: Sözlü Bildiriler, Moderatör: Doç. Dr. Sibel Uğur İşeri**
- 15.00 – 15.15 **Elif Uğurel:** Nöro-Behçet Hastalarında Complexin1 Gen Ekspresyonu ve Bu Gene Etki Eden mikro RNA'ların Araştırılması
- 15.15 – 15.30 **Sinem Fırtına:** Primer İmmün Yetersizliklerde Genetik Alt Yapının Yeni Nesil Dizileme Yöntemi ile Belirlenmesi
- 15.30 – 15.45 **Nihal Karakaş:** Terapötik Kök Hücrelerin Beyin Tümörleri Tedavisinde Kullanılması
- 15.45 – 16.00 **Hilal Eren:** Kavernom dokusunda Genom çaplı mRNA ekspresyon analizi
- 16.00 – 16.15 **Yemliha Yıldız:** Meme kanserli hastalarda abcg2 gen polimorfizmleri ve serum düzeyinin incelenmesi
- 16.15 - 16.30 **Burcu Çaykara:** Eroin bağımlısı kişilerde mikroRNA ekspresyonlarının bağımlılıkla ilişkisinin incelenmesi
- 9.00 – 10.30 **1. Oturum: Sözlü Bildiriler , Moderatör: Doç. Dr. Suzan Adın Çınar**
- 9.00 – 9.15 **Emrah Yücesan:** Ailevi Epilepsilerde Tüm Genom Analizleri
- 9.15 – 9.30 **Gül Öztürk:** Transgenik Embriyo Üretimi İçin Koç Spermatozoonlarının Farklı Yöntemlerle Transfekte Edilmesi
- 9.30 – 9.45 **Yücel Erbilgin:** Nüks akut lenfoblastik lösemi hastalarında tüm genom analizleri
- 9.45 – 10.00 **Elif Sinem Bireller:** Kolon kanseri; HT-29, HCT-116, RKO hücre hatlarının in-vitro koşullarda mezenkimal kök hücre ile tedavi seçeneğinin araştırılması
- 10.15 – 10.30 **Feyza Nur Tuncer:** Ailesel Geçiş Gösteren İdiyopatik Epilepsilerin Genetik Altyapısının Aydınlatılması
- 10.30 – 10.45 Kahve Molası
- 10.45 – 12.45 **2. Oturum: Sözlü Bildiriler, Moderatör: Doç. Dr. Umut Can Küçüksezer**
- 10.45 – 11.00 **Evrin Kömürcü Bayrak:** Aterosklerozda miRNA'lar potansiyel terapötik hedefler mi?
- 11.00 – 11.15 **Canan Uğur Yılmaz:** Temporal Lob Epilepsi Hayvan Modelinde Kan-Beyin Bariyeri
- 11.15 – 11.30 **Gamze Güven:** Geç ve erken başlangıçlı Alzheimer hastalığında rol oynayan miRNAların incelenmesi
- 11.30 – 11.45 **Özkan Özdemir:** Febril Nöbet Sonrası Epileptogenez Sürecinin Araştırılması
- 11.45 – 12.00 **Sema Bilgiç Gazioğlu:** Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Endometrial Sıvıda NK, Treg Hücrelerin Önemi ve İmmün Parametrelerdeki Değişim
- 12.00 - 13.00 Öğle Yemeği
- 13.00 – 14.00 **Poster Sunumu**
- 14.00 – 14.15 Kahve Molası
- 14.15 - 15.30 **3. Oturum: Sözlü Bildiriler, Moderatör: Doç. Dr. Neslihan Abacı**
- 14.15 – 14.30 **Zeliha Emrence:** Lenfödemle İlişkili Otoinflamatuar Sendromdan Sorumlu Mutasyonun Belirlenmesi
- 14.30 – 14.45 **Özden Hatırnaz Ng:** T-Hücreli Akut Lenfoblastik Lösemide Sinyal İletici Yolları
- 14.45 – 15.00 **Canan Cacma:** MAPK Sinyal Yolağının Kolorektal Kanser Risk ve Prognozu Üzerine Etkilerinin İncelenmesi
- 15.00 – 15.15 **Canan Ulusoy:** Deneysel Otoimmün Miyastenia Gravis Modelinde Fare Kemik İliği Kökenli Mezenkimal Kök Hücrenin İntravenöz Enjeksiyonunun Kas Gücü Kaybı Ve İmmünolojik Parametreler Üzerine Etkisinin Araştırılması
- 15.15 – 15.30 **Özlem Timirci Kahraman:** Kanserde Genomik ve Proteomik Biyomarker Çalışmalarının Önemi
- 15.45 **Teşekkür ve Kapanış**

SÖZLÜ BİLDİRİLER

1. Oturum, Moderatör: Doç. Dr. Suzan Adın Çınar

Ailevi Epilepsilerde Tüm Genom Analizleri

Emrah Yücesan, Sibel A. Uğur Iseri

Epilepsi tekrarlayıcı nitelikte, tetiklenmemiş nöbetlerle seyreden ve her yaştaki insanı etkileyebilen heterojen kronik bir hastalıktır. Epilepsi %0,5-1 prevalans ve 5-12/10.000 insidans ile başağrısından sonra en sık görülen nörolojik durum olarak kayda geçer. Nöbetlerin kaynağının beynin tüm veya belirli bölgesinde olması durumunda epileptik sendrom jeneralize veya parsiyel olarak nitelendirilir. Ailelerde, ikizlerde ve sporadik vakalarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar epilepside genetik faktörlerin önemini vurgulamaktadır. Ancak bu güne kadar çok az sayıda genetik etmen epilepsi ile ilişkili bulunmuştur. Birincisi epilepsinin temel ve izole bulgu olduğu primer epilepsi sendromları ikincisi de epilepsi ile ilişkili beyin gelişimini etkileyen hastalıkları olmak üzere epilepsi genetiği iki kapsamda ele alınabilir. Her iki durumda da bulunan genler beyin gelişimi ve epileptogenez mekanizmalarını ortaya çıkarmakta önemli rol oynarlar. Tek genli kalıtım modelinin açık olarak gözlemlendiği geniş epilepsili aileler bu mekanizmalarla ilişkili genlerin tanımlanabilmesi için çok değerlidirler. Sunumda epilepsi tanısı almış fertlerin olduğu bir ailede tüm genom uygulamaları ile yeni epilepsi genlerinin bulunması hedeflenmektedir. Genomdaki tüm genlerin ekzonlarını inceleyebilen ekzom dizilemesi yöntemi kullanılacaktır. Bulunan farklılıklar konvansiyonel tarama veya dizileme yöntemleriyle teyit edilecek, ailelerde segregasyon analizleri yapıldıktan sonra uygun kontrol gruplarında frekanslarının tespiti açısından taranacaklardır. Ekzom analizi nispeten küçük ailelerde tüm aday bölgelerdeki genleri yüksek çözümlü olarak taramaya olanak sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Epilepsi, Aday Gen İncelemesi, Ekzom Dizileme, Otozomal Resesif Kalıtım Modeli, SNP Genotiplleme

Transgenik Embriyo Üretimi İçin Koç Spermatozoonlarının Farklı Yöntemlerle Transfekte Edilmesi

Öztürk G., Pabuccuoğlu S., Birler S., Gök K., Pabuccuoğlu SK, Turan K., Evecen M., Demir K., Can A., Ertürk E., Karaçam H., Çınar EM.

Transgenik çiftlik hayvanlarının üretim amaçları kısaca genetik kodların yorumlanması, fizyolojik sistemlerin genetik kontrol çalışmaları, insan hastalık modellerinin oluşturulması, ksenotransplantasyon çalışmaları, hayvanlardan rekombinant proteinlerin eldesi, hayvan üretim özelliklerinin iyileştirilmesi, yeni hayvansal ürünlerin eldesi ve hastalıklara karşı dirençli hayvanların üretilmesi olarak sayılmaktadır.

Çalışmanın amacı, koyunlarda spermatozoa aracılığı ile transgenik hayvan üretimi için tercih edilen yöntemlerden en

uygununu belirlemek ve bu yöntemle transgenik embriyo elde etmektir. Bu amaçla çalışmada elektroporasyon, soğutma, Triton X-100 ile membran hasarı, Lipofectamin™ kullanımı ve bu yöntemlerin dışında koç spermatozoası ile transgenik hayvan üretiminde kullanımına literatür taramalarında rastlanılmamış olan bazı maddeler transfeksiyon amacıyla kullanılmış ve belirli bir ölçüde transfeksiyon sağlanmıştır. Turbofect™, LDH ve Poli-β-aminoesterler gibi taşıt maddeler ile yapılan ön denemelere göre bazı modifikasyonlar yapıp DNA yüklenmiş spermatozoa kullanılarak ICSI yöntemi ile oositlerin fertilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Embriyolardaki transgenik kontroller, marker gen olan GFP geni kullanılmasıyla dolaylı floresan ataçmanlı invert mikroskopta yeşil ışımaya gösterme durumlarına göre gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada elde edilen embriyoların transgeniklik ve transgenik etkinlik açısından gruplar arasında bulunan farklar incelendiğinde 2 numaralı elektroporasyon grubunun diğer gruplardan istatistiksel açıdan önemli ($p < 0,05$) derecede daha iyi, 8 numaralı soğutma grubundan ise istatistiksel açıdan önemli olamamasına ($p > 0,05$) rağmen bölünen embriyolar üzerinden yüzde orana bakıldığında daha yüksek bulunduğu, transgenik etkinlik açısından 8. grup hariç diğer gruplardan anlamlı bir fark ($p < 0,05$) ile çok daha üstün bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: SMGT, Koyun, GFP, ICSI, Transgenезis

Nüks akut lenfoblastik lösemi hastalarında tüm genom analizleri

Yücel Erbilgin¹, Özden Hatırmaz Ng¹, Sinem Fırtına¹, Tülin Tiraje Celkan², Saniye Sema Anak³, Zeynep Karakaş³, Aykan Güven³, Nazan Sarper⁴, Emine Zengin⁴, Emine Türkkan⁵, Didem Yalçın Atay⁵, Yuk Yin Ng⁶, Ömer Doğru⁷, Türkan Tansel⁸, Enver Dayıoğlu⁸, Müge Sayitoğlu¹, Uğur Özbek¹

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Ana bilim Dalı, İstanbul, ²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, İstanbul, ³İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, İstanbul, ⁴Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, Kocaeli, ⁵Okmeydanı Eğitim Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul, ⁶İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Ana bilim Dalı, İstanbul; Bilgi Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İstanbul, ⁷Göztepe Medical Park, Kemik İliği Nakil Merkezi, İstanbul; Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, İstanbul, ⁸İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Kalp Damar Cerrahisi, İstanbul

Genetik ve epigenetik mekanizmaların kanser oluşumunda iki farklı mekanizma olmaksızın, kanserleşme sürecinde birbirlerine avantaj sunan içiçe geçmiş bir kompleks olduğu gösterilmiştir. Çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemi (ALL) hastalarında tedavi sonrası nüks önemli bir sorundur. ALL hastalarının tanı ve nüks örnekleri incelendiğinde, baskın olan klonun çoğunlukla ortak atadan köken aldığı, buna karşın yeni kromozomal varyasyonların, gen mutasyonlarının varlığı gibi biyolojik ve klinik değişimlerin meydana geldiği gözlemlenmiştir. Ancak hangi moleküler mekanizmaların nüks yol açtığı tam anlamı ile açıklanamamış değildir. Çalışmamızda, hastaların tanı ve nüks zamanlarına ait örneklerini tüm genom metilasyon yaklaşımını kullanarak ALL’de metilasyon profilini tanımlamayı ve tedavi direncine yol açan olası yolları belirlemeyi hedefledik. ALL tanısı almış 16 hastanın tanı ve erken nüks örnekleri Infinium HumanMethylation450K BeadChip kullanılarak incelendi. Çıkan veriler Gene Expression Omnibus (GEO) veri tabanında GSE39141 kodu ile bulunan ikinci bir veri seti ile harmonize edildi. Kontrol dokusu olarak sağlıklı kemik iliği B-hücre alt tipleri ve Timus dokusundan izole edilen CD4+CD8+ hücre alt grubu kullanıldı. Nüks örneklerinde tanı örneklerine nazaran artmış metilasyon tespit edildi. Yaptığımız karşılaştırma analizleri sonucunda tanı ve nüks örnekleri arasında anlamlı farklılık bulunmazken kontrol grupları ile yapılan analizlerde, hücre döngüsünü düzenleyen genlerde ve DNA tamir mekanizmalarında rol oynayan genlerde anlamlı düzeyde metilasyon farklılığı tespit edildi.

Erken dönem nüks örnekleri genellikle kendi tanı örneklerine benzer bir profil göstermektedir. Bu bulgular tanı anında var olan klonun baskın hale geçerek nüks yol açtığını desteklemektedir. Kromozom paketlenmesinde rol oynayan Histon genlerinde ve glikozillenme gibi kanser metabolizmasında önemli role sahip yollarda artmış metilasyon varlığı epigenetik mekanizmaların ilaç direnci ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler:, ALL, Metilasyon, Nüks

Kolon kanseri; HT-29, HCT-116, RKO hücre hatlarının in-vitro koşullarda mezenkimal kök hücre ile tedavi seçeneğinin araştırılması

Bedia Çakmakoglu, Yusuf Baran, Elif Sinem Bireller, Melis Kartal Yandım, Can Engin

Kolon kanseri dünyada en sık karşılaşılan üçüncü kanser çeşidi olmasının yanı sıra, kanserden meydana gelen ölümlerin baş sıralarında yer almaktadır. Kolon kanserine kullanılan tedavi seçenekleri cerrahi, kemoterapötik ajanlar ve radyoterapidir. Hastalık riski aile öyküsü, hayat tarzı, kişisel öykü, etnik öykü ile ilişkilidir. Hayat tarzı ve beslenme alışkanlıklarının da kolon kanseri gelişimine etki ettiği görülmektedir.

Mezenkimal kök hücreler (MKH) multipotent farklılaşma özelliğine sahip erişkin kök hücrelerdir. Mezenkimal kök hücreleri köken olarak osteoblastlar, kondritinler, adipoz hücreleri ve kas hücrelerinden erişmek mümkündür. Son yıllarda bu hücrelerin kanser prognosyonu üzerine etkinliği ile ilgili çalışmalar yapılmakta ve yeni tedavi seçenekleri için ışık tutmaktadır.

Önerilen projede mezenkimal kök hücre ile ticari olarak

ATCC’den alınacak olan Kolon kanseri; HT-29, HCT-116, RKO hücre hatları üzerinde aynı anda kök hücre tedavisinin karşılaştırılması literatürde ilk kez kullanılacaktır. Çalışmalarda kontrol olarak MRC5 (normal epitelium fibroblast hücre hattı) hücre hattı kullanılacaktır. İleriye yönelik düşünüldüğünde in-vivo denemeler ışık tutacağı, immünoşüpresyona gerek kalmadan bireyin kendi adipoz dokusundan izole edilen kendi kök hücresi ile tedavi edilmesi yaklaşımı için oluşturulacak yeni projelere alt yapı oluşturacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kolon kanseri, mezenkimal kök hücre, apoptoz.

Ailesel Geçiş Gösteren İdiyopatik Epilepsilerin Genetik Altyapısının Aydınlatılması

Feyza N. Tuncer

İdiyopatik jeneralize epilepsiler (İJE), belirlenebilir beyin lezyonu ya da metabolik anormalliklerden yoksun, tüm epilepsilerin %40’ını oluşturan, genetik temelli bir epilepsi grubudur. Kalıtımında birden fazla genin rol oynaması ile epigenetik faktörler ve çevre koşullarının etkisi, İJE ile ilişkili genlerin aydınlatılmasını güçleştirmiştir. Bu nedenle, bu çalışmanın temelinde akraba evliliği yapmış ve birden fazla idiyopatik epilepsi hastalı dört geniş ailede SNP genotipleme ile tüm genom ekzom dizileme teknikleri birleştirilerek İJE için yeni aday genetik varyasyonlar tespit edilmiştir. Bu doğrultuda SNP/haplotip, homozigot haritalama ve bağlantı analizleri gerçekleştirilmiş, aday bölgelerde ve bu bölgelerin dışında bulunan varyasyonlar ekzom dizilemesi ile tespit edilmiştir. Ailesel segregasyon gösteren varyantların Türk toplumunda taranması HRM ile gerçekleştirilmiş, in silico araçlar ile amino asit değişimlerinin protein fonksiyonuna etkisi yordanmış ve türler arası korunma durumları tespit edilmiştir. Bu çalışmaların sonucunda her aileye özgü kalmakla beraber, literatürde kesin fonksiyon tanımlanmamış genler İJE ile ilişkilendirilmiş, nörolojik başka hastalıklarla ilişkili genlerin İJE ile ilgisi ortaya çıkartılmış ya da bilinen klinik bir gende novel varyant tespit edilmiştir. Bu şekilde çalışma, literatürde benzer çalışmalar için aday genetik varyasyonlar tanımlamıştır.

Anahtar Kelimeler: İdiyopatik Jeneralize Epilepsi, SNP Genotipleme, Bağlantı Analizi, Homozigot Haritalama, Ekzom Dizileme

2. Oturum, Moderatör: Doç. Dr. Umut Can Küçüksezer

Aterosklerozda miRNA’lar potansiyel terapötik hedefler mi?

Evrım KOMURCU-BAYRAK¹, Filiz GÜÇLÜ-GEYİK¹, Neslihan ÇOBAN¹, Mehmet CAVLAK², Hüsrev DEMİREL², Turgay ERGİNEL³, Nihan ERGİNEL-ÜNALTUNA⁴

¹İ.Ü. DETAE Genetik Anabilim Dalı; ²T.C. Adalet Bakanlığı, Adli Tıp Kurumu; ³İstanbul Eğitim Araştırma Hastanesi ⁴.Cerrahi Kliniği

Ateroskleroz, çevresel ve genetik faktörlerin etki ettiği multifaktöriyel bir hastalık olup, damar duvarının kalınlaşması ve esnekliğinin kaybolması ile karakterize edilmektedir. Ateroskleroz, dünya genelinde, en önde gelen ölüm

nedenlerindedir ve birden fazla hastalığa neden olan patofizyolojik bir süreçtir. Ateroskleroz gelişiminde, plak oluşumu ve aktivasyonunda, çeşitli metabolik, enflamatuvar, enfeksiyöz veya hemodinamik faktörler yer almaktadır. Etyolojik, patofizyolojik, klinik ve epidemiyolojik karmaşıklığına rağmen, ateroskleroz önlenebilir bir durum olduğundan, oluşum mekanizmalarının anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Son dönemde özellikle dolaşımdaki miRNA'ların aterosklerozun neden olduğu hastalıklarda, gerek tanısal gerekse terapötik uygulamalar için yeni ve potansiyel biobelirteçler olabileceği üzerinde durulmaktadır. Sınırlı vakaların olduğu az sayıdaki çalışmada, aterom plaklarda ekspresyonu artan miRNA'lar tespit edilmiştir. Halen devam etmekte olan bu projede ise, ateroskleroz ile ilişkili olduğu düşünülen miRNA'lar ve hedef genlerinin, aterosklerozun moleküler patogenezindeki rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, T.C. Adalet Bakanlığı Adli Tıp Kurumu'na ani kardiyak ölüm şüphesi ile gelen ve kalp damar hastalığı ile raporlandırılan vakaların koroner arterlerindeki aterosklerotik plaklar ile normal koroner arter örnekleri ile kontrol olarak travmatik ölüm olan vakalardan alınan normal koroner arterler çalışmaya dahil edilmektedir. Ateroskleroz ve miyokard enfarktüsü ile ilgili yapılan çalışmalara göre seçilen 5 farklı miRNA ve hedef genlerinin (toplam 10 tane) ekspresyon düzeyleri, ateromlu ve normal arterlerde kantitatif gerçek-zamanlı PCR yöntemi ile kıyaslanmaya devam edilmektedir. Böylece, post-mortem aterom plaklarında aday miRNA ve hedef genlerin düzeyleri belirlenerek ani ölüme sebep olan kalp damar hastalığı ile ilişkisi araştırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kardiyogenetik, ateroskleroz, miRNA, post-mortem, koroner arter

Temporal lob epilepsi hayvan modelinde kan-beyin bariyeri

Canan Uğur Yılmaz, Nurcan Orhan, Bülent Ahışalı, Nadir Arıcan, İmdat Elmas, Mutlu Küçük, Candan Gürses, Mehmet Kaya

Temporal lob epilepsisi (TLE) insanlarda en yaygın görülen dirençli epilepsi tipidir. Beyin damar endotel hücrelerinin oluşturduğu kan-beyin bariyeri (KBB) normal koşullar altında beyni periferik kaynaklı etkilere karşı korurken, TLE sürecine verdiği yanıt tam anlamıyla bilinmemektedir. Bu çalışmada, deneysel olarak oluşturulan TLE'nin KBB bütünlüğü üzerine etkilerini araştırmak amacıyla 96 adet erişkin dişi Wistar albino sıçan kullanıldı. Deneyler; 1) akut sham, 2) kronik sham, 3) akut kainik asit (KA) ve 4) kronik KA gruplarından oluşturuldu. Sıçanlarda TLE modeli oluşturmak için KA kullanıldı. KA uygulanmasını takiben, akut ve kronik dönemde (1 ay) EEG-Video monitorizasyon kaydı alındı. KBB geçirgenliğindeki değişiklikleri elektron mikroskopide göstermek için horseradish peroksidaz (HRP) traseri kullanıldı. KBB ile ilişkili olarak astrosit aktivitesindeki değişiklikleri göstermek için immünohistokimyasal yolla glial fibrillar asidik protein (GFAP) varlığı ve şiddeti araştırıldı. KA enjekte edildikten sonra hayvanların akut ve kronik dönemde hem davranışsal değişiklikler hem de EEG kayıtlarında nöbet paternleri gösterdiği tespit edildi. Akut ve kronik KA ile kronik sham gruplarındaki hayvanların beyin kesitlerindeki hipokampus bölgesinde GFAP immün boyanma şiddetinde artış gözlemlendi. Akut ve kronik sham gruplarındaki hayvanların amigdala ve hipokampus bölgelerinde

herhangi bir HRP traser varlığı gösterilemezken, bu gruplardaki hayvanların beyin kapiller endotel sıkı bağlantılarının da kapalı olduğu tespit edildi. Akut ve kronik KA gruplarındaki hayvanların hem amigdala hem de hipokampus bölgelerindeki kapiller endotel sitoplazmalarında bol miktarda HRP-reaksiyon oluşumları gözlemlendi ve bu oluşumların kaveolar veziküller şeklinde olduğu tespit edildi. Bu gruplardaki hayvanların incelenen beyin bölgelerindeki kapiller endotel hücre sıkı bağlantılarının kapalı olduğu gösterildi. Sonuç olarak bu çalışmada, TLE hayvan modelinde KBB'nin parasellüler yoldan ziyade transellüler geçişteki bir artış sonucu bozuk olduğu kanıtlandı.

Anahtar Kelimeler: Kan-Beyin Bariyeri, Temporal Lob Epilepsisi, Kainik Asit, GFAP, HRP.

Geç ve erken başlangıçlı Alzheimer hastalığında rol oynayan miRNAların incelenmesi

Z.Gamze Güven, Dr. Ebba Lohmann, Haşmet Hanağası, Nihan Ünaltuna

Alzheimer hastalığı (AH), demansın en yaygın formu olup tüm demans vakalarının %50-70'ini oluşturmaktadır. Hastalığın temel patolojik özelliği hücre dışı β -amiloid plak ($A\beta$) protein birikimleri ve hücre içi nörofibriller yumaklardır. Hastalık başlangıç yaşına göre erken başlangıçlı (<65 yaş) ve geç başlangıçlı (>65 yaş) olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır.

AH patogenizi oldukça karmaşık ve birçok faktörün rol oynadığı kompleks bir süreçtir. İnflamasyon, AH patogenezinde büyük önemi olan olayların başında gelmektedir. Nükleer faktör- κ B (NF- κ B) inflamatuvar süreçte görev alan ana faktörlerden biridir. NF- κ B nükleer transkripsiyon faktörü olup immünite ve inflamasyon ile ilişkili çok sayıda genin transkripsiyonunun kontrol edilmesinde kritik rol oynamaktadır. mikro RNA (miRNA) adı verilen yaklaşık 21-23 nükleotit uzunluğundaki düzenleyici RNA molekülleri hedef genlerine bağlanarak gen ekspresyonunu baskırlar. İnflamasyon sürecinde görev alan miRNAların ekspresyonlarının NF- κ B nin kontrolü altında olduğu bilinmektedir. AH da NF- κ B ve buna bağlı miRNAların ekspresyonlarında artış olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamız kapsamında erken ve geç başlangıçlı Alzheimer hastalarının periferik kanlarından izole edilen monositlerde NF- κ B yolağında yer alan miRNAlar ve bunların hedef genlerinin ekspresyon düzeylerinin incelenmesi ve hastalık üzerindeki olası etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer hastalığı, inflamasyon, miRNA, ekspresyon, NF-kb

Febril Nöbet Sonrası Epileptogenez Sürecinin Araştırılması

Özkan Özdemir, Emrah Yücesan, Yeşim Kesim, Önder Hüseyinbaş, Ece Erdağ, Özlem Akman, Sibel A. Uğur İşeri, Hüseyin Şeker, Uğur Özbek

Epileptogenez normal bir beyinde genelde primer bir etkiye bağlı olarak başlayan ve zamana yayılan bir transformasyon sonucu, spontan nöbetlerle karakterize epilepsinin ortaya çıkması sürecidir. MTL (Mezyl Temporal Lob Epilepsisi) epileptogenez süreci sonunda en sık görülen patolojilerdendir.

Son yıllarda ilaca dirençli MTLE hastalarından cerrahi tedavi yöntemleri ile hipokampus materyalleri elde edilmekte ve bu materyallerin kullanıldığı temel araştırmalar epileptogenezin anlaşılabilmesine katkı sağlamaktadır. Ancak bu çalışmalar MTLE ortaya çıktıktan sonra gerçekleştirildiği için epileptogenez sürecinin son derece önemli bir ayağı olan latent dönem incelenememektedir. Bu nedenle latent döneme ilişkin araştırmalar ancak zamana bağlı örneklemeye yapılabilecek hayvan modelleri ile yapılabilmektedir.

Epileptik hayvan modeli oluşturmada sıklıkla tercih edilen ve kimyasal madde tatbikini içeren yöntemler insanlardakine benzer, primer etkiyi modellemede yetersiz kalmaktadır. MTLE epileptogenez sürecinin araştırılması için insanlarda MTLE'nin en sık primer nedeni olan febril nöbetin (FN) kullanılması en doğru yaklaşım olarak görünmektedir.

İstanbul, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onaylı bu çalışmada in-bred sıçanlarda kazanılmış FN modeli ile hastalık etyopatogenezine özgü ve zamana bağlı transkriptom analizleri yapılacaktır. Bu kapsamda sıcak hava akımı kullanılarak erken postnatal dönemde FN modeli oluşturulacak, elektrofizyolojik ölçümleri yapılan ve nöbet takibi açısından sürekli video kaydı alınan sıçanlar yaklaşık 4 ay boyunca değişik zamanlarda disekte edilerek hipokampus ve beyin omurilik sıvısı (BOS) materyalleri toplanacaktır. Farklı sıçan gruplarına ait hipokampuslardan izole edilen örneklerle ait RNA'larda tüm genom ekspresyon çalışması gerçekleştirilecektir. Elde edilen veriler çoklu biyoinformatik yöntemlerle zamana bağlı olarak analiz edilecek, istatistiksel olarak anlamlı seviyede değişim gösteren genler ve ortak yolaklar araştırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Febril Nöbet, Epileptogenez, Ekspresyon Mikroarray, Transkriptom, Biyoinformatik

Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Endometrial Sıvıda NK, Treg Hücrelerin Önemi ve İmmün Parametrelerdeki Değişim

Sema Bilgiç Gazioglu, Esin Aktaş, Melike Batukan, Teksen Çamlıbel, Günnur Deniz

Gebeliklerin ardışık olarak 3 kez ya da daha fazlasının 20. haftadan önce kaybedilmesi Tekrarlayan Gebelik Kaybı (TGK) olarak tanımlanmaktadır (1). İleri anne yaşı ve gebelik kayıplarının sayısı abort riskini belirleyen en önemli noktalar (2). Maternal regülatör T-hücreler (Treg), katabolizan enzimler ve immunoregülatuar sitokinlerin TGK da etkili olduğu gösterildi (3). Trofoblastlarda HLA-G ekspresyonu gebelik reddini önleyen faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. NK hücrelerinin sitotoksik etkilerini azalttığı, sitotoksik T hücreleri ve kan mononükleer hücrelerinde sitokin üretimini düzenlediği, sitotoksik T lenfosit proliferasyonunu önleyip T helper hücrelerini uyardığı dolayısıyla trofoblastlarda immunolojik modülasyonda önemli işlevlere sahip olduğu düşünülmektedir.

TGK olan kadınlarda NK hücrelerinin artmasının inflamasyona neden olacağı ve gebelik kaybına yol açacağı öngörülmüştür. Periferik kan NK hücreleri ile uterin NK hücrelerinin yapı ve fonksiyonel olarak farklı olduğu, bu nedenle periferik kandaki ölçümün endometrium ve desidüadaki NK

hücreleri hakkında bilgi veremeyeceği bildirilmiştir (4-5). Bu nedenle çalışmamızda TGK'lı hastaların immün hücrelerindeki değişim uterus sıvısında ve uterus biopsi materyalinde incelenecektir. NK hücreler plasentasyon ve implantasyon üzerine olumsuz etkileri olan TNF, IFN gibi tip 1 sitokinleri de üretirler. TNF-alfa trofoblastların apoptozisini ve dolayısı ile ölümünü uyarır ve IFN-gama da bu etkiyi artırır. Dolayısı ile desidual NK Hücreler gebelikte immünmodülatör etkilere sahiptir. Th2 sitokinler genel anlamda trofoblast proliferasyonunu, farklılaşmayı ve invazyonunu uyarır. Dolayısı ile gebelikte kabul gören, periferik ve desidual Th2/Th1 dengesinin Th2 lehine değiştiğidir. TGK'lı hastalarda TNF-alfa/LIF farkını ve immün hücrelerdeki (CD4, CD8, NK, Treg) değişikliği periferik kanda yapılan çalışmaların tam olarak yansıtmadığını düşünerek çalışmamızda bu parametrelere flow sitometrik yöntemle uterus sıvısında ve uterus biopsisinde değerlendirmeyi hedefledik.

Anahtar Kelimeler: Tekrarlayan gebelik kaybı (TGK), NK hücreleri, Treg hücreleri, HLA-G, tip 1 sitokinler

3. Oturum, Moderatör: Doç. Dr. Neslihan Abacı

Lenfödemle İlişkili Otoinflamatuvar Sendromdan Sorumlu Mutasyonun Belirlenmesi

Huri Ozdogan³, Duran Ustek², Zeliha Emrence², Gulen Hatemi³, Aris Cakiris², Neslihan Abaci², Sema Sırma Ekmekçi², Fulya Coşan² Nil Arisoy, Ozgur Kasapcopur³, Ahmet Gul¹

¹Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey, ²Istanbul University, Istanbul, Turkey, ³Rheumatology, Istanbul, Turkey

İkinci derece kuzen olan iki hastada, yaşamlarının ilk yılından itibaren 3-10 gün süren ve tekrarlayan inflamatuvar ataklar meydana gelmektedir. Bu ataklar, yüzde, tüm vücutta ödem ve döküntü, perikard ve plevra efüzyonu, öksürük ile karakterizedir. Bu çalışmada, otozomal resesif kalıtım paterni, üç kuşak aile bilgisinin mevcut olması sebebiyle, homozigot haritalama yaklaşımı kullanarak sorumlu geni tespit etmeyi amaçladık. 2 index vakanında var olduğu 18 aile bireyinden genomik DNA izole edildi ve 370CNV SNP Illumina chip kullanılarak genotiplendi. SNP Variation Suite v7 of the Golden Helix programı kullanılarak aday genomik bölgeler belirlendi. İkisi index vaka olmak üzere 4 aile bireyinde Targeted 385K Capture Array kullanılarak, hastalıktan sorumlu olduğu düşünülen bölgedeki genlerin kodlayan bölgeleri seçildi ve GS-FLX 454 Titanium sistemi ile derin dizileme yapıldı. Belirlenen varyasyonu konfirme etmek için 200 adet sağlıklı kontrol Sanger dizileme metodu ile tarandı. Homozigot haritalama sonucu 2 bölge saptandı. Bu bölgelerden biri 7.kromozomda 7.8 Mb uzunluğunda bir bölge, diğeri ise 14. Kromozomda 5Mb uzunluğunda bir bölge olarak belirlendi. Chr7q31.1 bölgesinde bulunan ve bilinen 24 genin ekzonları GS-FLX 454 sistemi kullanılarak dizilendi. MDFIC geninin 3.ekzonunda insersiyon mutasyonu bulundu. Bu insersiyon 240 ve 241 pozisyonadaki aminoasitler arasında meydana gelmektedir ve ardından oluşan çerçeve kayması mutasyonu sonucu 242. pozisyonunda bir stop kodon meydana gelmektedir (p.Met240AsnfsX2). Erken oluşan stop kodon sonucu C-terminal ucundaki sisteinden zengin bölge kodlanamamaktadır. Belirlenen varyasyon tüm aile bireylerinde

ve 200 adet sağlıklı kontrolde Sanger dizileme ile konfirme edildi.

MDFIC geni, lenfoid organlarda, prostatta, ince bağırsaklarda ifade edilmektedir ve son zamanlarda yapılan çalışmalar, wnt/beta- kateninin yolağının düzenlenmesinde rol oynadığı göstermiştir. MDFIC geninde fonksiyon kaybına sebep olan bu mutasyonun, wnt/beta-kateninin yolağını etkileyip düzensiz inflamutar cevaba sebep olarak, lenfödem gelişiminden sorumlu olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Gündük protein, çerçeve kayması mutasyonu, prematür stop kodon, genom analizi , otoinflamuar sendrom

T-Hücreli Akut Lenfoblastik Lösemide Sinyal İletim Yolakları

Özden Hatırmaz Ng, Yücel Erbilgin, Müge Sayitoğlu, Uğur Özbek

T hücreli akut lenfoblastik lösemi (T-ALL) hastalığı timustan kökenlenen ve T- hücrelerinin malin transformasyonu sonucu ortaya çıkan, ağır seyirli bir lösemi türüdür. Çocukluk çağı lösemilerinin %10-15'ini oluşturan T-ALL, yüksek risk grubu protokolleri ile tedavi edilmektedir. Yapılan çalışmalar T-ALL hastalığı gelişiminde, B-hücreli lösemide (B-ALL) sıkça gözlenen translokasyonlardan ayrı olarak özellikle, T-hücre reseptörü gelişimi ile ilgili genler başta olmak üzere, çok sayıda sinyalizasyon mekanizmasının rol oynadığını göstermektedir. Bu çalışmada T-Hücreli Akutlenfoblastik Lösemi'de ki etkileri çok net bilinmeyen sinyal iletim yollarından WNT sinyal yolağı ve bununla ilişkili diğer farklı yollar incelenmiştir. Yapılan analizlerde bir grup T-ALL hastasında aktif WNT sinyal iletim yolağı olduğu tespit edilmiştir. Bu hastalarda aynı zamanda yüksek Beta-catenin anlatımı ve Wnt yolağının doğrudan hedefi olan AXIN2 geninin de artmış anlatımı tespit edilmiştir. Bu çalışmayla paralel yürütülen 31 T-ALL hastasında tüm genom analizleri çalışması sonucunda elde edilen veriler çerçevesinde, TGF- β sinyal iletim yolağı üyesi *SnoN/SKIL* geni anlatımının T-ALL hastalarında kontrol timositlerine oranla azaldığı gözlenmiştir. Bu azalma daha geniş bir hasta grubunda eş zamanlı kantitatif PZR ve protein analizleri ile de onaylanmıştır. Bu azalmanın temelinde yatabilecek olası nedenlerden biri miRNA baskılanması olabileceği düşüncesiyle ilişkili miRNA analizleri gerçekleştirilmiş ve *SnoN/SKIL* genini hedefleyen mir223 genin anlatımının hasta örneklerinde çok yüksek olduğu tespit edilmiştir. *SnoN/SKIL*-mir223 geni arasındaki ilişkinin doğrulanması çalışmaları devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: T-ALL, sinyal iletim yolağı, WNT, TGF-beta, *SnoN/SKIL*

MAPK Sinyal Yolağının Kolorektal Kanser Risk ve Prognozu Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

Canan Cacına¹, Esra Kaytan Sağlam², Soykan Arıkan⁴, Ş.Ümit Zeybek¹, Arzu Ergen¹, Filiz Akyüz³, Saime Turan¹, İlhan Yaylım¹

¹İ. Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp AD; ²İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Radyasyon Onkolojisi AD; ³İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji Bilim Dalı; ⁴İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastahanesi Genel Cerrahi Kliniği

Kolorektal kanser en yaygın kanser türlerinden biri olup gelişmiş ülkelerde, gelişmekte olan ülkelere nazaran daha sık oranda gözlenmektedir. Kolorektal kanserlerin çoğu sporadik olarak gelişmekte olup, genetik ve çevresel faktörler büyük önem taşımaktadır. Yapılan araştırmalarda olguların yaklaşık %20'sinin ailesel risk faktörlerine sahip olduğu bildirilmektedir. Bunun yanında sporadik kolorektal kanserler %88-94 oranında görülmekte olup, çeşitli hormonal ve çevresel faktörler (kırmızı et ve yağdan zengin, folat ve kalsiyumdan yoksun diyet vb.), obezite, diyabet, ileri yaş, sigara, yüksek alkol alımı, kolorektal polip hikayesi gibi pek çok faktör hastalık riskinde önem taşımaktadır.

Endojen, ekzojen karsinogenik etkenler ve yanlış beslenme alışkanlıkları kolon mukoza epitel hücrelerinde rejenerasyon yeteneğinin ve mukus kalitesinin bozulmasına sebep olmaktadır. Tüm bu faktörler intraluminal mikrofloranın ve içeriğinin değişmesine epitel hücre membranlarında yağ asit oranlarının yükselmesine, lipid peroksidasyon radikallerinin artmasına sebep olmaktadır. Ayrıca bu süreçte sitokinler, interlökinler, prostaglandinler ve tümör nekroz faktör alfa (TNF α), nitrik oksit gibi mediatörlerin mukoza epitel harabiyetinin kalıcı hale gelmesine sebep olduğu ve genetik, somatik mutasyonların da etkisiyle karsinogenezin başladığı bilinmektedir.

İnsanlarda karsinogenezin, kontrol edilemeyen hücre çoğalması ve farklılaşmasında rol oynayan molekülleri kodlayan genlerdeki hasarlar özellikle de hücre döngüsü düzenleyici protein ailelerindeki defektler sonucu oluştuğu düşünülmektedir. MAPK'lar (Mitogen-activated protein kinase) hücrelerin çeşitli ekstraselüler sinyal iletilerine cevap vermelerini sağlayan, hücre proliferasyonunu aktive eden, son derece iyi korunmuş çeşitli yollarda rol oynayan önemli bir grup ailedir. MAPK'lar hormonlar ve tirozin veya serin/treonin kinazlar yoluyla uyarılan büyüme faktörleri enflamatuar sitokinler, G-protein-bağlı reseptörler aracılığıyla hareket eden peptidler yanı sıra, bu gibi iyonize edici radyasyon ya da ozmotik stres, çevresel stresler gibi farklı uyaranlar tarafından aktive edilir. MAPK'lar yaygın olarak enflamatuar hastalıklarda örneğin enflamatuar sitokinler ve büyüme faktörlerinin etkisiyle ayrıca patojenik bileşenler, reaktif oksijen türleri, vb sinyal yollarıyla yakından ilgili enflamatuar bağırsak hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar, kanser gibi pek çok hastalıkta önemli rol oynamaktadır.

Çalışmamızda 100 kolorektal kanser tanısı konulmuş hasta ve 100 sağlıklı bireyden elde edilen örneklerde MAPK sinyal yolağına ait bazı genlerde dizileme analizi yapılacaktır. Elde edeceğimiz bulguların kolorektal kanser risk ve patogenezi aydınlatmaya yönelik araştırmalara katkı sağlayabileceği düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Kolorektal kanser, mitoz, büyüme faktörleri

Deneysel Otoimmün Miyastenia Gravis Modelinde Fare Kemik İliği Kökenli Mezenkimal Kök Hücrenin İntravenöz Enjeksiyonunun Kas Gücü Kaybı Ve İmmünojenik Parametreler Üzerine Etkisinin Araştırılması

Canan Aysel Ulusoy, Melike Küçüklerden, Erdem Tüzün

MG kas asetilkolin reseptörü (AChR) otoantikorlarıyla ilişkili, T hücresine bağımlı ve antikor aracılı otoimmün bir hastalıktır. Hastaların %80'inde anti-AChR antikorları, %5 inde anti-MuSK (muscle specific kinase) antikorları bulunurken %10'unda AChR ve MuSK antikorlarına rastlanmamıştır. Bu hastalığın patogenezi ile ilgili çalışmalarda deney hayvanları kullanımının önemi büyüktür. Bu çalışmalarla patogenezi hakkında oldukça önemli bilgiler elde etmemiş olmamıza rağmen özellikle tedavi stratejilerinde hala sınırlamalar mevcuttur. Birçok hastalığın tedavisinde kök hücre uygulama çalışmaları yapılmaktadır. MG ile ilgili yapılan kök hücre çalışmaları kısıtlı sayıda olmakla birlikte özellikle son yıllarda insan göbek kordon hücreleri veya kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücrelerinin DOMG modeline uygulanarak DOMG modelinde klinik iyileşme ve AChR spesifik lenfosit sayısının azaldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

Bu projemizde rekombinan insan MuSK proteini ile yapılacak aktif immünizasyon deneyleri ile DOMG modeli oluşturduk. Fare kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücre uygulaması ikinci immünizasyondan dört gün sonra yapıldı. Farelere kuyruk bölgelerinden intravenöz mezenkimal kök hücre verildi. İkinci immünizasyondan 30 gün sonra farelerin lenf ganglion hücreleri izole edildi, kan örnekleri toplandı ve ön bacadan kas örnekleri alındı. Bu örneklerin kullanıldığı ELISA deneyleri ile serum anti-MuSK antikor ve kompleman faktör C3 düzeyleri belirlendi, kültür ortamında MuSK varlığında çoğaltılan lenf ganglionu hücrelerinin süpernatantlarında ve fare serumlarında Th1, Th2, Th17 ve proinflatuar sitokinlerin düzeyleri incelendi.

Bu projedeki amacımız kök hücre tedavisini MuSK ilişkili DOMG hayvan modelinde ilk defa uygulayıp bu tedavi yönteminin miyastenik hastalara uygulanabilirliğini araştırmak ve kök hücre temelli tedavi yöntemlerinin bağışıklık sistemi üzerine hangi immünojenik mekanizmalar üzerinden MG tedavisini gerçekleştirdiğini ortaya koymaktır.

Anahtar Kelimeler: miyastenia gravis, kök hücre, tedavi, deneysel miyastenia gravis hayvan modeli, T hücre

Kanserde Genomik ve Proteomik Biyomarker Çalışmalarının Önemi

Özlem TİMİRCİ KAHRAMAN

Biyomarkerlar, hücrenin normal ve patolojik durumunu değerlendirebilen, vücut sıvılarında, dokularda ve bütün organlarda ölçülebilir miktarda bulunan, aynı zamanda tedaviye yanıt olarak miktarında değişiklik gösterebilen moleküler belirteçlerdir. Tümör biyomarkerları özellikle kanserin davranışı veya varlığı ile ilgili bilgi sağlayan moleküllerdir. Bu biyomarkerlar, tümörlü dokuyu normal dokudan veya bir maligniteyi diğerinden ayırmada, bir tümör tipi içerisindeki farklı davranış paternleri gibi çeşitli özellikleri belirlemede

yada kanser teşhis ve tedavi yöntemlerinin değerlendirilmesinde biyokimyasal parametre olarak kullanılabilirler. Tümör biyomarkerlarının temel kullanım amacı; sağlıklı bir popülasyonu veya kanser için yüksek risk faktörleri taşıyan bir popülasyonu taramak, kanser veya kanserin spesifik bir türünün tanısını koymak, hastanın prognozunu tayin etmek ve terapötik etkinliği öngörmek yada cerrahi, radyoterapi veya kemoterapi gibi tedavilerin ardından hastanın seyrini takip etmektir. Son yıllarda özellikle, kanserin teşhisi ve prognozu için tek markerdan ziyade biyomarker panellerinin analizlerinin yeterli duyarlılık ve özgüllüğü karşılayacağına dair beklentiler vardır. Her kansere spesifik biyomarker paneli ihtiyacı yıllardır yapılan onkoloji araştırmalarından elde edilen deneyimlere dayanmaktadır. Tümör biyomarkerları DNA, RNA, protein, hücre veya doku düzeyinde tayin edilebilir. Bu biyomarkerların keşfedilmesinde ve validasyonunda kullanılan genomik ve proteomik alanındaki yeni analitik yöntemlerin gelişimi, hastalık ile ilişkili genlerin ve proteinlerin daha kolay tanımlanmasına olanak sağlamaktadır. Bu aday moleküller ile ilgili bilgilerin genişlemesi, kanser tedavisi için yeni hedefler oluşturacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kanser, Biyomarker, Genomik, Proteomik

1. Oturum, Moderatör: Doç. Dr. Esin Çetin Aktaş

Kronik Lenfositik Lösemili (KLL) Hastalarda AID Protein Düzeyinin ve miRNA İlişkisinin Analizi

Metin Yusuf GELMEZ, Melih AKTAN

Aktivasyonla indüklenen sitidin deaminaz (AID) enzimi DNA yapısındaki sitozini urasile çevirmektedir. Sadece aktive B lenfositlerinde eksprese edilen AID, B hücresinde hem somatik hipermutasyon (SHM), hem de izotip dönüşümü (CSR) mekanizmasında rol oynamaktadır. *AID*'in çeşitli lenfoproliferatif hastalıklarda translokasyonlara neden olabileceğini ortaya koyan çalışmalar mevcuttur. Kronik lenfositik lösemi (KLL), monoklonal B hücrelerinin kemik iliği ve periferik kanda birikimiyle karakterizedir. Klinik seyri çok değişken ve önceden tahmin edilmesi zordur. KLL'li hastaların %30-50'sinde kromozomal anomaliler tespit edilmiştir. Translokasyonlar için kırılma bölgeleri oluşturduğu düşünülen *AID*'in, KLL'li hastalarda klinik seyirle ilişkili 17p13, 11q22.3 ve 13q14 DNA bölgelerinde kırılma noktaları oluşturabileceği ve KLL'li hastalarda görülen bu delesyonlardan AID geninin sorumlu olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda delesyonu olan ve olmayan KLL'li hastalarda AID gen ekspresyonları ve AID düzenlenmesinde rol alan mir-93 ve mir-155 ekspresyon düzeyleri ve miRNA aktifleşmesinde rol alan *DICER* ve *DROSHA* ekspresyon düzeyleri incelenmiştir. Prognozun daha kötü olduğu 17p13 ve 11q22.3 delesyonu olan hastalarda *AID* mRNA ekspresyon ve protein düzeyleri hem kontrollere, hem de delesyonu olmayan hastalara göre daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte KLL'li hastalarda mir-93 ve mir-155 düzeylerinin kontrollere göre yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca *DICER* ekspresyon seviyeleri delesyonlu hastalarda daha düşük gözlenirken *DROSHA* seviyeleri ise yüksek olarak gözlenmiştir. Çalışmamız *AID*'in KLL B hücrelerinde meydana gelen delesyonlardan sorumlu olabileceğini düşündürmekle birlikte prognozda önemli yer tutan bu delesyonlarda AID gen ifadesinin, delesyonu olmayan hastalardan daha yüksek bulunması nedeniyle hastalığın prognozunun takibinde klinik bir parametre olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Aktivasyonla İndüklenen Sitidin Deaminaz, AID, KLL, miRNA, DICER

Seramid metabolizması ile ilişkili genlerin ateroskleroz patogenezindeki potansiyel rollerinin araştırılması

Neslihan Çoban, Filiz Geyik, Bilge Özsait, Özlem Yıldırım

Ateroskleroz, çevresel ve genetik faktörlerin etki ettiği multifaktöriyel bir hastalık olup, damar duvarının kalınlaşması ve esnekliğinin kaybolması ile karakterize edilmektedir. Ateroskleroz ve buna bağlı gelişen kalp-damar hastalıkları, dünya genelinde, en önde gelen ölüm nedenlerinden biri olan patofizyolojik bir süreçtir. Etiyolojik, patofizyolojik, klinik ve epidemiyolojik karmaşıklığına rağmen, ateroskleroz önlenilebilir bir hastalık olduğundan, oluşum mekanizmalarının anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, ateroskleroz ile ilişkili olduğu düşünülen yeni aday genlerin, ateroskleroz moleküler patogenezindeki rollerinin araştırılması amaçlanmıştır. AMPK geninin, regüle ettiği genler üzerinden ateroskleroz ve hipertansiyon gibi hastalıklarda koruyucu rol oynadığı daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. De novo seramid sentezinde rol alan LASS5 geninin de, AMPK genini dolaylı olarak etkilediği belirlenmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak, LASS5 geninde yapılacak olan fonksiyonel çalışmalar ile seramid sentezinden sorumlu bir genin kardiyovasküler hastalıkların moleküler mekanizmasında nasıl bir etkiye sahip olduğunun araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışmanın, ateroskleroz gelişiminde kilit rol oynuyor olabilecek hücrelerin başında gelen endotel hücrelerinde yapılması planlanmıştır. İlk olarak, LASS5 genine özgü siRNA aracılığı ile gen sessizleştirilmesi yapılacaktır. Gen sessizleştirilmesinin ardından kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili olan AMPK geninin düzenlediği genlerin hücre gen ekspresyon seviyelerindeki değişimler araştırılacaktır. Daha sonra, bu genlerdeki ekspresyon değişikliğinin AMPK aktivitesindeki değişime bağlı olup olmadığını anlamak için, kültür ortamına AMPK inhibitörü/aktivatörü eklenecektir. Son olarak çalışılan her koşul için LASS5, AMPK ve AMPK ile ilişkili genlerin protein düzeyindeki etkilerinin (Western Blot yöntemi) analiz edilmesi planlanmıştır. LASS5 geni yeni keşfedilmiş ve fonksiyonu tam olarak bilinmeyen bir protein kodlamaktadır. Kalp dokusunda ekspresse olduğu bilinmekle beraber hangi mekanizmalarda yer aldığı henüz araştırılmamıştır. LASS5 geninin endotel hücrelerinde sessizleştirilmesi sonrasında hücre mekanizmalarda meydana gelen değişimler ilk olarak bu çalışma ile ortaya çıkarılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Ateroskleroz, seramid sentaz, hücre kültürü, siRNA

İntraserebral Nöro-Behçet IgG ve serum enjeksiyonunun beyin parankim histolojisi üzerine etkileri

Ece ERDAĞ¹, Ceren Şahin², Cem İsmail Küçükali¹, Feyza ARICIOĞLU², Mehmet Kaya¹, Erdem TÜZÜN¹

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı; ²Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı

Behçet hastalığı (BH) etiyoloji ve patogenezini tam olarak bilinmeyen, tekrarlayan aft, genital ülserler ve üveitle karakterize, yineleyici, multisistemik ve inflamatuvar bir hastalıktır. Nöro-

Behçet hastalığı (NBH) ise Behçet hastalarının %5-15'inde görülen en sık olarak parenkimal tipi ile bilinen nörolojik bir sendromdur. Bu çalışmada bilinen bir hayvan modeli olmayan NBH için bir hayvan modelinin geliştirilmesi hedeflenmektedir.

Antikor düzeyi en yüksek olan 5 olgunun ve 5 sağlıklı olgunun serum örnekleri ile oluşturulan serum havuzlarından IgG'ler izole edilmiştir. 20 adet Sprague Dawley ırkı sıçan gruplandırılarak; 2 günde bir olmak üzere 8 defa izole antikor, serum fizyolojik, Freund adjuvanı (CFA) intraserebral yolla beyin parankim dokularına enjekte edilmiştir. Deneylerin başında, ortasında ve enjeksiyonların sonlanması ardından açık alan testi, lokomotor aktivite, yükseltilmiş artı labirent ve pasif sakınma testleri uygulanmış ve beyin dokuları immünohistokimyasal yollarla incelenmiştir. Açık alan testinde genel olarak tüm grupların zaman içerisinde merkezde geçirdikleri sürelerde azalma gözlenmişken, NBH grubundaki hayvanların deney sonunda merkezde geçirdikleri süre diğer gruplara göre daha kısa olarak saptanmıştır. NBH grubunda, açık alan testine paralel olarak, lokomotor aktivitede ve yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollarda geçirilen zamandaki azalma anksiyete artışını destekler niteliktedir. Pasif sakınma testi, NBH grubundaki bir hayvanda bellek fonksiyonunun normal olmadığını göstermiştir. Yapılan immünohistokimyasal boyamalar da CD11b, 8a, GFAP gibi antikorların nöronlarda enjeksiyonla değişimini göstermiştir. NBH ve sağlıklı kontrol olgularının örnekleri ile enjekte edilen beyin dokuları arasında karşılaştırılması sonucunda, NBH serum ve/veya IgG örneklerinin beyin dokusu üzerinde proinflamatuvar ve nöronlara hasar verici bir etkisi olduğu saptanmıştır. Ancak bu sonuçların doğrulanabilmesi için daha fazla sayıda hayvanla ve genişletilmiş gruplarla çalışmanın yapılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Nöro-Behçet Hastalığı, Antikor, Hayvan Modeli, İmmünohistokimya, İnflamasyon

SNP- Array Yöntemi Kullanılarak Kopya Sayısı Değişikliklerinin (CNV) Tespiti

F.Yesim Kesim¹, Emrah Yücesan¹, Beyhan Tüysüz², Sibel Uğur İşeri¹

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik AD, İstanbul, Türkiye; ²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Kopya sayısı değişiklikleri (CNVs), insan genomunda kayıp ve kazançlarla ifade edilen genomik yeniden düzenlenmelerdir. CNV' ler insan hastalıklarının altında yatan ana genetik faktörlerden biri olarak tanımlanmaktadır ve çok çeşitli klinik fenotiplerden sorumludur. Tüm genom array sistemlerinin kullanılmaya başlanması ile insan genomundaki değişiklikler daha yüksek çözünürlükte tespit edilmeye başlanmıştır. CNV tespiti yüksek yoğunlukta genotipleme teknolojisi ile duyarlı bir yöntem olan SNP-Array ile etkin ve doğru bir şekilde yapılabilmektedir. SNP-Arrayler CNV bölgelerinin incelenmesinin yanında ailesel ve bireysel olgularda bağlantı ve ilişkilendirme analizleri amaçlı kullanılabilir. Yeni nesil SNP-Arraylerde genom boyunca yayılmış SNP'lerin yanı sıra çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiş CNV bölgelerine özel problemler yer alır. Bu yöntem sinyal yoğunluğu ve allelik bileşimdeki değişimlerin belirlenmesine olanak sağlayarak hem CNV hem de LOH (Loss of Heterozygosity, Heterozigotluk kaybı) bölgelerinin belirlenmesini mümkün hale getirmektedir. SNP'ler B-allel frekansı (BAF) hesaplanarak karakterize edilir. BAF, A ve B olarak adlandırılan 2 alleli SNP'ler için B allelinden gelen rölatif sinyal miktarının toplam sinyal miktarına katkısını gösterir. SNP'ler 2 alleli oldukları için 0.5 değeri heterozigotluğu, 0 veya 1 değeri ise sırasıyla A veya B alleli için LOH bölgelerini gösterir. SNP arraylerde CNV olmaksızın kaydedilen LOH durumu homozigot bölgeleri ve uniparental dizomiyi işaret edebilir. Artmış homozigotluk hastalığın kaynağı olarak çekinik geçiş gösteren bir gen bölgesini işaret edebilir. Array çalışmalarında unutulmaması gereken önemli bir nokta da hastalıkla ilişkili bir CNV tespit edilemediği durumlarda hastalığın kaynağının tek noktada oluşan mutasyonlar, küçük indeller, instabil tekrarlar veya CNV analizi için kullanılan eşik değerinden daha küçük boyutta CNV' ler de olabileceğidir.

Anahtar Kelimeler: SNP-Array, Kopya Sayısı Değişiklikleri, Biyoinformatik Analiz, B Allel Frekansı, Heterozigotluk Kaybı

B-ALL hastalarında CRLF2,JAK2,IL7R,PAX5 gen mutasyonlarının amplikon derin dizileme ile tespiti

Sevcan Mercan¹, Orçun Taşar¹, Sinem Şişko¹, Yücel Erbilgin¹, Özden Hatırmaz Ng¹, Fulya Tozan¹, Deniz Çakmak¹, Ömer Devocioğlu², Ayşegül Ünüvar², Tülin Tiraje Celkan³, Emine Zengin⁴, Didem Yalçın Atay⁵, Yıldız Yıldırım⁶, Çetin Timur⁷, Zafer Şalcioğlu⁸, Uğur Özbek¹, Müge Sayitoğlu¹

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul; ²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji/Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul; ³İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji/Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul; ⁴Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji/Onkoloji Bilim Dalı, Kocaeli; ⁵Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul; ⁶Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul; ⁷Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji/Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul; ⁸İstanbul Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul

Yeni nesil dizileme yöntemleri ile yapılan amplikon temelli çalışmalar pek çok hastalığın etiyolojisi ve prognozunda spesifik öneme sahip yeni genleri ortaya çıkarmıştır. Klasik dizi analiz yöntemleri ile tespiti mümkün olmayan düşük düzeydeki mutasyonların saptanması mümkün hale gelmiştir. B hücrelerinden kökenlenen akut lenfoblastik lösemi (B-ALL) çocuklarda akut lösemnin yaygın bir alt tipidir ve son yıllarda bazı genlerin (*CRLF2*, *PAX5*, *IL7R*, *JAK2* vb.) sıcak bölgelerinde meydana gelen mutasyonların B-ALL hastalarının kötü prognozu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma kapsamında tümör yükleri %90'ın üzerinde olan; 63 pediatrik B-ALL hastası ve 9 tanı-nüks eşlenik kan/kemik iliği örneklerinde *CRLF2*, *JAK2*, *IL7R* ve *PAX5* genlerinin sıcak bölgelerindeki varyasyonları amplikon derin dizileme yöntemi ile incelenerek tespit edilen varyantların prognostik etkilerini araştırmayı amaçladık. Yeni nesil dizileme (454 FLX GS Junior)) tekniği kullanılarak, *CRLF2* ve *IL7R* genlerinin ekzon 6, *JAK2* geninin ekzon 12-13-14-15-16 ve *PAX5* geninin ise ekzon 2 bölgeleri taranmıştır. Çalışmamızda her amplikon ortalama 700 kere dizilenmiş, 1340 ortalama okuma derinliğinde ve minimum %2 ve üzerinde saptanan değişiklikler analiz edilmiştir. Hastalarda saptanan ve önceden tanımlanmış *JAK2* gen mutasyonları (p.R683G, p.R683S, p.T514T) sıklığı %5,5 olarak bulundu. Yetmiş iki B-ALL örneğinin %8,3'ünde önceden tanımlanmamış yeni

varyasyonlar saptandı. *PAX5* geni mutasyonları (p.L23P,p.V26fs*49) analiz edilen örneklerin %2,8 inde saptandı. *IL7R* geninde hastaların %5,5'inde p.T244I ve p.V262A mutasyonları saptanırken, *CRLF2* geninde daha önce tanımlanmış SNP (rs151218732, rs142083864, rs139812396) tespit edilmiştir. COSMIC kanser mutasyon data bankasında bildirilen mutasyonların haricinde hastalıkla ilişkileri valide edilmesi gereken toplam 45 yeni varyasyon bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Yeni Nesil dizileme, B-ALL hastalığı, *CRLF2*, *JAK2*, *IL7R*, *PAX5* genleri

İnfertil bireylerde spermatozoal RNA'ların embriyo gelişim potansiyeli ile ilişkisinin araştırılması

Bilge Özsait Selçuk, Neslihan Çoban, Sibel Bulgurcuoğlu Kuran, Orhan Alak

Primer infertilite, üreme çağındaki bireylerin yaklaşık %15'ini etkileyen bir sorundur. Yardımla üreme teknikleri, normal şartlarda gebeliğin oluşamayacağı durumlarda, bireylere kendi genetik özelliklerini taşıyan bir çocuk sahibi olma şansını tanımaktadır. Öte yandan, implantasyon potansiyeline sahip bir embriyonun gelişiminde, oosit ve spermatozoon kaynaklı etkenler de dahil olmak üzere çok çeşitli nedenler rol oynamaktadır. Fertilizasyon kapasitesine sahip fonksiyonel bir erkek gametin transkripsiyonel olarak aktif olmadığı bilinmektedir. Ancak, son yıllarda yapılan RNA profillemeye çalışmalarında, spermatozoada yaklaşık 3000 adet transkript olduğu tespit edilmiştir. Bu profil içerisinde, sinyal transdüksiyonu, hücre proliferasyonu ve spermatogenezin erken safhalarına özgü yollara ait transkriptlerin yanısıra fertilizasyon ve hata erken embriyo gelişimine özgü transkriptler de bulunmaktadır. Dahası, aynı bireye ait hareketli ve hareketsiz spermatozoa alt grupları arasında da bazı genlerin ekspresyon seviyelerinde farklılık olduğu gösterilmiştir. Bu projede amacımız, spermatozoa gen ekspresyon seviyeleri ile başta sperm hareketliliği ve morfolojisi olmak üzere, fertilizasyon, erken embriyo gelişim kalitesi ve implantasyon gibi yardımla üreme tekniklerinin başarı ölçütleri arasındaki olası ilişkinin araştırılmasıdır.

Bu proje çerçevesinde, infertilite nedeni ile yardımla üreme tedavisi gören çiftlerde erkek bireyden elde edilen ve yardımla üreme tekniklerinde kullanıldıktan sonra artan sperm örneklerinden total RNA izolasyonu yapılacaktır. Gen ekspresyon analizi, gerçek zamanlı RT-PCR ile kantitatif olarak yapılacaktır. Ardından, seçilen genlerin ekspresyon seviyeleri ile araştırılan parametreler arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirilecektir.

Spermatozoal RNA'ların, sperm parametreleri ve erken embriyo gelişimi üzerine bir katkısının tespit edilmesi, bu süreç içerisinde daha önce tanımlanmamış olan hücre içi yolların aydınlatılmasında önemli bir katkı sağlayacaktır. Diğer yandan, infertilite tedavisinde yeni yaklaşımların geliştirilmesinde yol gösterici olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Gen ekspresyonu, Spermatozoa, Preimplantasyon dönem embriyo, Yardımla Üreme Teknikleri, qRT-PCR

Primer Antikor Yetersizlik Hastalarında Moleküler Tanı

Sinem Şişko¹, Özden Hatırnaz Ng, Suzan Çınar², Safa Barış³, Işıl Barlan³, Şule Haskoloğlu⁴, Yıldız Camcıoğlu⁵, Aslı Derya Kardelen⁶, Şebnem Kılıç⁷, Öner Özdemir⁸, Günnur Deniz², Müge Sayitoğlu, Uğur Özbek¹, Yuk Yin Ng¹

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul; ²İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul; ³Marmara Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul; ⁴Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk İmmünoloji Alerji Anabilim dalı; ⁵İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul; ⁶İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul; ⁷Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa; ⁸Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Sakarya Primer antikor yetersizliği (Primer Antibody Deficiency-PAD) insanlarda en sık görülen kalıtsal immün yetersizliğin bir alt grubudur. PAD'lar B hücre gelişiminde görev alan ve işlev kazanmasında etkili olan moleküllerin hasar görmesiyle ortaya çıkarlar. Enstitümüzde B hücre farklılaşmasının bloke olması ile ortaya çıkan X'e bağlı Agammaglobulinemi (XLA) hastalığının %85'inden sorumlu olan BTK geni, Otozomal Resesif Agammaglobulinemi hastalığının ortaya çıkmasından sorumlu tutulan IGHM, aktif B hücresinin plazma hücresine dönüşerek immüoglobulin salgılanmasını bloke eden Yaygın değişken immünyetersizlik (Common Variable Immun Deficiency-CVID) hastalığına %10-15 sebep olduğu gösterilmiş TACI, CD19, ICOS genleri ve T hücre gelişiminden sorumlu olan X'e bağlı Ağır Kombine İmmün yetersizliğine (X'linked SCID) sebep olan IL2RG geni ile Otozomal Ağır Kombine İmmün Yetersizliğine (Autosomal Recessive SCID) sebep olan JAK3, ADA, RAG1, RAG2, ARTEMİS gen mutasyonları moleküler yöntemlerle tanıları yapılmaktadır. Çalışmamızda klinik olarak XLA, Otozomal Agammaglobulinemi, CVID ve SCID tanısı almış toplam 79

hasta BTK (n=27), IGHM (n=1) ICOS, TACI ve CD19 (n=8), RAG1, RAG2, IL2RG, JAK3, ARTEMİS (n=43) genleri mutasyonlar açısından taranmıştır. Öncelikle elde edilen kan örnekleri, Akan Hücre Ölçer (Flow Sitometri) ile B-hücre sayıları ve BTK, CD19 protein varlıklarının araştırılmış, ardından DNA izolasyonu ve genlerin tamamını kapsayacak şekilde çift yönlü özgün primerler ile tüm gen PZR analizleri ve tüm bölgeler doğrudan dizileme yöntemi ile incelenmiştir. Bu analizlere göre XLA hastalarında çok sayıda homozigot delesyon (c.441delT, c.713delG, c.1614delT, c.1464_1465delGA, c.1558delC), insersiyon (c.1519insT) ve tek baz değişimi (c.491G>A, c.763C>T, c.1731A>C, c.1780G>A,) mutasyonları, SCID hastalarında heterozigot tek baz değişimi mutasyonu (c.G1682A), homozigot ve heterozigot tek nükleotid polimorfizimleri (rs3740955, rs121918568, rs2227973, rs10836573, rs104894289 vs.), CVID hastalarında patojenik allel olarak da belirtilen homozigot ve heterozigot tek nükleotid polimorfizimleri (rs8072293, rs34557412, rs2274892, rs11078355, rs56153623, rs11652811, rs34562254) saptamıştır. XLA, SCID ve CVID hastalıklarından şüphe edilen hastaların kan ve kemik iliği örneklerinde gerçekleştirilecek detaylı akan hücre ölçer ve mutasyon analizi çalışmaları hastalığın tanı ve tedavisi için hayati önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Primer İmmün Yetersizlik, Primer Antikor Yetersizliği, Ağır Kombine İmmün Yetersizlik, Yaygın Değişken İmmün Yetersizlik, X'e bağlı Agammaglobulinemi

2. Oturum, Moderatör: Doç. Dr. Sibel Uğur İşeri

Nöro-Behçet Hastalarında Complexin1 Gen Ekspresyonu ve Bu Gene Etki Eden mikroRNA'ların Araştırılması

Elif Uğurel, Erdem Tüzün, Uğur Özbek, Burçak Vural

Behçet Hastalığı'ndaki (BH) nörolojik tutulum olan Nöro-Behçet hastalığı (NBH), Behçet hastalarının %5,3'ünde görülür ve tahrip edici komplikasyonlara sebep olur. Remmers ve arkadaşlarının BH ve sağlıklı kontrollerde yaptıkları GWAS çalışmasında, IL10 geninde ve IL23R-IL12RB2 intergenik bölgesinde assosiasyonlar tespit etmişlerdir. Ayrıca anlamlılığa yakın bulunan SNP'in (rs936551), CPLX1 (Complexin 1) geninin promotör bölgesinde yer aldığını tespit etmişlerdir. Complexin'lerin nörolojik gelişimde önemli rollerinin olduğu ve nörodejeneratif hastalıklarda ekspresyonlarının değişikliğe uğradığı bilinmektedir. Bu çalışmada CPLX1'in NBH örneklerindeki ekspresyon değişikliklerinin, nörolojik tutulumu olmayan BH ve sağlıklı kontroller ile karşılaştırılarak araştırılması, bu genin mRNA'sını hedefleyebilecek mikroRNA'ların belirlenip ekspresyonlarının bakılması ve rs936551'in tüm örneklerde genotiplendirilerek gen ekspresyonu üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

NBH (n=28), nörolojik tutulumu olmayan BH (n=28) ve sağlıklı kontroller (n=31) çalışmaya dahil edildi. CPLX1 mRNA'sına etki edebileceği öngörülen mikroRNA'lar internetteki veritabanları kullanılarak belirlendi ve iki tanesi (miR-135 ve miR-185) çalışma için seçildi. CPLX1 ve miRNA'ların ekspresyonları SYBR Green yöntemi kullanılarak RT-PCR ile araştırıldı. Ayrıca DNA örnekleri rs936551 için RT-PCR'da end-point yöntemi ile genotiplendirildi.

CPLX1 ekspresyonu NBH, BH ve sağlıklı grupları arasında değerlendirildiğinde istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bulundu ($p < 0.0001$). miRNA ekspresyonları bu üç grupta değerlendirildiğinde miR-135 anlamlı ($p = 0.006$), miR-185 ise ileri derecede anlamlı ($p = 0.0008$) bulundu. CPLX1 ve miRNA'lar arasında bir korelasyon olup olmadığına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmadı. rs936551 SNP'i NBH, BH ve sağlıklı gruplarında genotiplendirildiğinde sırasıyla A allelinin frekansı 0,6, 0,68, 0,8 ve G allelinin frekansı 0,38, 0,32, 0,2 şeklindedir. Genotiplerin görülme sıklığının CPLX1 ekspresyonu üzerine etkisi bulunmamaktadır. CPLX1'in BH'ndaki öneminin ortaya konması için daha ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Nöro-Behçet hastalığı, CPLX1, mikroRNA, RT-PCR, SNP

Primer İmmün Yetersizliklerde Genetik Alt Yapının Yeni Nesil Dizileme Yöntemi ile Belirlenmesi

Sinem Fırtına, Özden Hatırnaz Ng, Sinem Şişko, Yuk Yin Ng, Suzan Çınar, Günnur Deniz Uğur Özbek, Müge Sayitoğlu

Primer İmmün Yetersizlik (PIY), 100'ün üzerinde hastalığı kapsayan, başta immün sistem olmak üzere gelişim ve fonksiyonel bozuklukları da etkileyen hastalıklar grubudur (Notarangelo, 2010). Akraba evliliğinin sık görüldüğü ülkemizde tam insidansı bilinmemekle birlikte, özellikle otozomal resesif

geçiş gösteren kalıtım şeklinin daha sık görüldüğü bilinmektedir. (Dr. Tuba Turul & Dr. İlhan Tezcan, 2003). Uluslararası İmmünoloji Dernekleri Birliği (IUIS) Nisan 2013'te PIYlerin sınıflandırılmasını güncellemiş ve hastalıklar için en sık mutasyonu görülen genleri belirlemiştir (Tang et al, 2014). Ancak bu genler, hastalığın sadece bir kısmını tanımlayabilmektedir ve hastalıkların büyük bir kısmında halen genetik alt yapı bilinmemektedir. Tüm genom dizileme, ekzom dizileme veya hedefe yönelik dizileme yöntemleri (targeted) ile hastalıklarla ilgili yeni genlerin tanımlanması hızla gelişmektedir. Son zamanlarda PIY'lerde tanımlanan genler tek bir aileye veya kişiye özel olarak belirlenmektedir. Hedefe yönelik yeni nesil dizileme ile aynı anda birden fazla hastanın tüm PIY-ilişkili genleri yüksek hassasiyette taranmaktadır. Bu çalışmada daha önce tanımlanan ve hastalıklarla ilişkili olduğu bilinen genler 4 ana panelde toplanmış ve şiddetli birleşik immün yetmezlik (SCID) için 17, birleşik immün yetmezlik (CID) için 31, primer antikör yetersizlik (PAD) ve yaygın değişken immün yetersizlik (CVID) için 22 ve Hiper IgE sendromu (HIES), Kronik gramülatöz hastalığı (CGD) ve Heparin kofaktör II eksikliği (HCII) için 31 gen belirlenmiştir. Bu çalışmada öncelikle daha önce klinik ve immünolojik tanısı konulan 50 hastanın hastalığına uygun paneller seçilerek hedefe yönelik yeni nesil dizileme yöntemi ile ön tarama yapılması hedeflenmektedir. Herhangi bir mutasyon saptanmamış hastalar ise ekzom dizileme yöntemi ile dizilenecek ve yeni aday genler tespit edilecektir. Her iki yöntemde bulunan mutasyonlar Sanger dizileme yöntemi ile valide edilecektir.

Bu çalışma, özellikle akraba evliliklerinin sık görüldüğü ülkemizde PIYlerin sıklığı ve genetik profili açısından önemli bir veri sağlayacaktır. Hedefe yönelik yeni nesil dizileme yöntemi ile mutasyonu en sık görülen hastalıkla ilişkili genlerin aynı anda dizilenmesiyle hastalığın karakterizasyonu çok daha hızlı ortaya çıkacak bu sayede tanısı net olmayan hastalara tanı koyma imkanı sağlanacaktır. Ayrıca yeni aday genlerin bulunması PIYlerin patogenezinin aydınlatılmasına yardımcı olacaktır. Bu çalışmaların amacı, hastalıkların tanımlanmasını kolaylaştırmak, farkındalığı artırmak ve PIY olan hastalar için en uygun tedavi şeklini belirlemektir.

Anahtar Kelimeler: Primer İmmün Yetersizlikler, Ekzom sekanslama, Amplikon sekanslama, SCID,

Terapötik Kök Hücrelerin Beyin Tümörleri Tedavisinde Kullanılması

Nihal Karakaş, Selma Yılmaz, Khalid Shah

Glioblastoma multiforme (GBM) yetişkinlerde görülen, en yaygın, agresif ve malign olan beyin tümürüdür. Glioma tedavisindeki bugünkü uygulamalar cerrahi rezeksiyon ve bunu takip eden radyoterapi ile kemoterapi yöntemleridir. Ancak tümör dokusunun yeniden oluşması, sağlıklı beyin dokusunda meydana gelen sitotoksosite, ve kan beyin bariyerinin karakteristik yapısı nedeniyle bu tedavi yöntemleri yetersiz kalmaktadır. Beyin tümörü taşıyan fare modellerinde yapılan çalışmalar, kök hücrelerin primer tümör alanlarına ve mikro seviyedeki invazif tümör odaklarına göç ettiğini göstermiştir. Böylece terapötik özellik kazandırılan kök hücrelerin beyin tümörlerinin tedavisinde kullanılması yaklaşımı gelişmiştir. Bu kapsamda, apoptoz sinyallerini tetikleyen sitokinlerden tümör

nekroz faktör bağımlı apoptoz indükleyici ligand (TRAIL) ile yapılan çalışmalarda kısa sürede ve büyük oranda tümör hücrelerinin yok edilebildiği ve tümör hacminde küçülmenin sağlandığı gösterilmiştir. Kanser hücrelerini hedef alan tedavi modellerinde öne çıkan bir diğer yaklaşım ise hedefli toksinlerin kullanılmasıdır. Bu çalışmada, mevcut terapötik ajanlara farklı cevap veren GBM tümör hücrelerini tedavi etmek üzere, bakteri toksinlerinden Pseudomonas egzotoksinini içeren ve kanser hücrelerini seçici özellikte hedefli toksinler geliştirilmiş ve hedefli toksinler salmak üzere lentiviral vektörler ile oluşturulan terapötik kök hücrelerin, GBM üzerinde tedavi edici etkisi, hem kültür ortamında hem de klinik olarak uyarlanabilir GBM tümörlü fare modelinde araştırılmıştır. Sonuç olarak, hedefli toksinler salan kök hücrelerin, GBM hücreleri üzerinde anlamlı derecede terapötik etki oluşturduğu ve GBM tümörlü farelerde rezeksiyon sonrası tümör oluşumunu geriletmediği biyoluminesan görüntüleme yöntemi ile gösterilmiştir. Böylece, kanser hücrelerini hedefleyen toksin üreten terapötik kök hücreler kullanılarak ilerdeki klinik çalışmalara uyarlanabilecek bir GBM tedavi yöntemi geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Glioblastoma multiforme, Pseudomonas Egzotoksin, kök hücre, hedefli tedavi, biyoluminesan görüntüleme

Kavernom dokusunda Genom çaplı mRNA ekspresyon analizi

Hilal Eren, Sadrettin Peñçe, Fatma Özlen, Dila Zafer, Feyzi Şahin, Ozan Tiryakioğlu

Serebral Kavernoöz Malformasyonlar, ince-duvarlı vasküler sinüzoidlerin etrafını saran endotel hücrelerinde elastin ve düz kas eksikliği ile hemosiderin birikmesi sonucu, böğürtlen benzeri şekil kazandıkları bir damar bozukluğudur. Serebral Kavernomlar, beyinde meydana gelen vasküler bozuklukların en başında gelmektedir. Prevalansı 0.5-0.6/100.000 olmakla birlikte familial insidansı %20'lere kadar çıkabilmektedir. Kavernomlar; hemoraji, epileptik nöbetler, fokal nörolojik bozukluklar veya baş ağrılarına yol açabilmektedir.

Azalmış apoptozis, sinyal yolları bozuklukları, kontrol edilemeyen proliferasyon, artmış motilite ve özellikle anjiogenez gibi birçok hücre patolojide gen düzeyinde değişimler olmaktadır. Bu patofizyolojik süreçlere neden olan değişimlerin gen düzeyinde incelenebilmesi için genom çaplı analizler yapılmaktadır. Bu analizlerde özellikle mRNA (DNA'daki bilgiyi ribozoma taşıyarak protein sentezine olanak sağlayan RNA molekülleri) düzeylerindeki değişimlere bakılarak, hücre patolojisi ve anjiogenez süreçlerinin daha iyi anlaşılması sağlanarak, tanı ve tedaviye yönelik yeni yöntemler geliştirilmesine ön ayak olacaktır. Literatürde kavernomlu dokularda mRNA üzerine hiçbir çalışma bulunmamaktadır.

Anahtar Kelimeler: mRNA, Kavernom, biyomarkır, vasküler bozukluk, serebral lezyon

Meme Kanserli Hastalarda ABCG2 Gen Polimorfizmleri ve Serum Düzeyinin İncelenmesi

Yemliha Yıldız¹, Soykan Arıkan², Arzu Ergen¹

¹İ.Ü. DETAE Moleküler Tıp AD; ²İstanbul Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Polikliniği

ABCG2 olarak bilinen Meme Kanseri Direnç Proteini (Breast Cancer Resistance Protein, BCRP), bir ATP bağlanma domeni ve bir transmembran domenden oluşan ATP transporterıdır. Enerji bağımlı bir akış pompası ve transporter olarak, toksik bileşikler ve antikanser ilaçların da olduğu, geniş aralıktaki yapısal olarak birbirinden farklı substratların intraselüler kompartmandan, ekstraselüler kompartmana transportunu gerçekleştirir. Bundan dolayı BCRP, ksenobiyotikler ve onların metabolitlerinden koruyucu rol oynar ve

Antikanser ilaçların intraselüler konsantrasyonunu etkiler. Normal dokulardaki BCRP dağılımının araştırıldığında, en yüksek oranda BCRP'nin plasentada, daha düşük olarak kolon ve ince bağırsak epitelinde, karaciğer kanalikör membranında, memenin kanal ve lobüllerinde ve normal dokuların ven ile kapiler endotelinde olduğu ortaya çıkarılmıştır. BCRP homodimer olarak fonksiyon görür ve SN-38, topotecan, ile MXR gibi antikanser ilaçlara direnç tavrı gösterir. ABCG2 geninde doğal olarak oluşmuş seksen üzerinde dizi varyasyonu rapor edilmiştir. Çeşitli etnik gruplarda doğal olarak oluşan BCRP SNPLeri tanımlanmıştır. Bir çok etnik popülasyonda yüksek oranda görülen BCRP G34A (Val12Met) ve C421A (Gln141Lys) polimorfizmlerinin BCRP proteininin ekspresyonu ve aktivitesi ile alakalı olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda, Türk toplumundaki meme kanserli vakalarda ve sağlıklı kontrollerde, BCRP protein seviyesinin ve bu gene yer alan kritik gen polimorfizmlerinden G34A (Val12Met) ve C421A (Gln141Lys) polimorfizmleri incelenerek, genotip ve allel frekanslarının saptanması amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kanser, ABCG2, serum, polimorfizm, risk

Eroin bağımlısı kişilerde mikroRNA ekspresyonlarının bağımlılıkla ilişkisinin incelenmesi

Burcu Çaykara, Sadrettin PEÑÇE, L. İlhan YARGIÇ, Yalçın BÜYÜK

Eroin bağımlılığı genetik, epigenetik kompleks bir hastalıktır. Opiat ailesinden Eroin (diasetilmorfin) alınır alınmaz hızlıca beyne geçer ve yüksek konsantrasyonlara ulaşır. İntravenöz enjeksiyondan yaklaşık 4 dakika sonra eroin 6-acetylmorphine (6AM)'e dönüşür. 6AM'nin yarı ömrü yaklaşık 22 dakikadır ve insan carboxylesterase 1-2 (hCE1, hCE2) ile AChE tarafından morfine hidrolize edilir. İnsanda morfinin yarı ömrü yaklaşık 176 dakikadır ve sonrasında nonpsychoactive morphine-3-glucuronide (M3G) ve psychoactive morphine-6-glucuronide (M6G)'e metabolize edilir. Bunların yarı ömrü sırasıyla 276 ve 267 dakikadır (Stowe, 2011). Bu bileşikler m-opioid

Reseptörlerine bağlanır (substantia nigra ve ventral tegmental alan) ve dopaminerjik nöronların GABAerjik inhibisyonunu azaltır. Böylece dopamin projeksiyon alanlarının içine salınır,

dopamin pre ve postsinaptik dopaminerjik reseptörler ile etkileşime geçer. M-opioid reseptör (MOR) agonistlerinin önemli bir kısmı, ödül etkisi ve bağımlılık potansiyeli bu şekilde dopaminerjik alan aktivasyonu yolağı ile ilişkili olabilmektedir (Kreek, 2012). Opiat tedavisine yanıtın altında yatan moleküler mekanizmaları çözmek için MOR'un regülasyonu önem taşımaktadır. miRNA23b, MOR'u düzenlediğı tanımlanmış ilk miRNA'dır.

miRNA'lar hedef mRNA'ların translasyonunu kontrol ederek nöroplastisite ve sinaps konsolidasyonun düzenlenmesinde kritik rollere sahiptirler. Son çalışmalarda birçok miRNA (miR-212, miR-133b, miR-132, miR-181a, miR-140, miR-190) dentritik spinlerdeki morfogenez ve bağımlılık gelişiminden sorumlu bulunmuştur. (Huang, 2009; Hollander, 2010; Schaefer, 2010; Sanchez-Simon, 2010; Impey, 2010; Wayman, 2008; Chandrasekar, 2009). Bütün mRNA transkripsiyon ağının mikroRNA'lar ile kontrol edilip regülasyonlarının

Değiştirilmesi, bağımlı kişilerde bu adaptasyonun gelişiminde etkili olduğu bu çalışmalarla desteklenmektedir. Bu bilgilerden yola çıkarak eroin bağımlısı tanısıyla ölmüş kişilerin postmortem beyin dokularında başlıca miRNA ekspresyon analizleri bakılacaktır.

Anahtar Kelimeler: mikroRNA, eroin, bağımlılık, miRNA23b, M-opioid reseptör

POSTER SUNULARI

Nöronal Kök Hücre Aktivasyonu, Proliferasyonu ve Migrasyonunda Rollerini Olan Büyüme Faktörlerinin Karşılıklı Etkileşimlerinin In Vitro Araştırılması

B. Sarya Tunç

Bugüne dek yetişkin nörogenez ve nöral kök hücre biyolojisi alanlarında çok sayıda çalışma yapılmasına ve pek çok bilgi elde edilmesine rağmen, nöral kök hücreleri quiescent halde tutan, aktif hale geçiren; aktif kök hücreleri proliferasyon, migrasyon ve diferensiyasyona uğratan mekanizmalar ve bu mekanizmalarda rol oynayan etken ve uyarılar henüz yeterince açığa çıkarılmamıştır (Liu et al, 2009).

Bu mekanizmalarda, değişik sinyal yolları ve büyüme faktörlerinin etkisinin olduğu bilinmektedir (Niu et al, 2011). Bunların içinden büyüme faktörleri tek başlarına ve birlikte verildiklerinde değişik etkiler ortaya çıkmakta, etkileri farklı kombinasyonlarda artıp azalmaktadır (Choi et al, 2008; Frederick et al, 2004; Kalluri et al, 2008).

Bu nedenle projemizde hipokampal kökenli Nöral Kök hücrelerin suskunluk (quiescence), aktivasyon, proliferasyon ve migrasyon mekanizmalarında rollerini olan bu büyüme faktörlerinden, IGF-I, MGF, EGF, FGF2, BDNF, NGF ve EPO'nun tek başlarına ve birlikte olan etkileri araştırılacaktır. Bu bağlamda, in vitro - hücre kültürü koşullarında, bu büyüme ve nörotrofik faktör genlerinin kodladığı peptidler, ayrı ayrı tek başlarına ve farklı kombinasyonlar halinde gruplar oluşturularak birlikte verilecek ve büyüme faktörlerinin belirtilen mekanizmalar üzerindeki etkileri gözlenecektir. Projemizde hücre kültürü, BrdU tekniği ve Gerçek Zamanlı RT-PCR gibi yöntemler kullanılacaktır. Bu çalışma hedefe ulaştığında yetişkin nörogenezinin mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına; nörogenez ve nörorejenerasyon bilgisine katkılar yapma potansiyeli taşımaktadır. Bunun sonucunda nörogenez-rejenerasyon gerektiren beyin dokusu patolojilerine köklü ve kalıcı tedavilerin geliştirilmesi yönünde kapıların açılması ya da bu doğrultuda yeni düşüncelerin ortaya çıkması olasıdır.

Anahtar Kelimeler: Nöral kök hücre, Nörogenez, Kök hücre aktivasyonu, Nörotrofik faktörler, MGF

Koroner Kalp Hastalarında Kalsiyum-Duyarlı Reseptör (CASR) Gen Lokusunda CASR-Fonksiyonunu Değiştiren Gen Varyasyonlarının İncelenmesi

Ezgi Irmak Aslan¹, Zehra Buğra², Oğuz Öztürk¹, Hülya Yılmaz Aydoğan¹

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp AD, İstanbul; ²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fak., Kardiyoloji AD, İstanbul

Koroner kalp hastalığı (KKH), dünyada olduğu gibi Türk toplumunda da prevalansı ve ölüm oranı yüksek olan kronik bir hastalıktır. KKH etyopatogenezi yer alan hipertansiyon gelişiminde genetik risk varyasyonlarının belirlenmesi, toplumumuzda hipertansiyon ve ilişkili hastalıkların genetik altyapısının belirlenmesi ve ileride bireysel tedavinin geliştirilmesi açısından önem taşımaktadır. Son yıllarda kalsiyum duyarlı reseptör (calcium-sensing receptor, CaSR) aktivasyonunun "renin" salınımını azaltabileceğini ve bu şekilde renin-angiotensin-aldosteron sistemi (RAS) aracılığıyla kan basıncının kontrolünde rol oynayabileceği önerilmiştir. CaSR genindeki varyasyonların koroner kalp hastalığı risk faktörleri ve hastalığın komplikasyonları ile ilişkilerini belirlemek amacıyla tez projemizde, CaSR reseptöründe fonksiyon artışına yol açan rs104893706 ve CaSR fonksiyon kaybıyla sonuçlanan rs1042636 varyasyonları sırasıyla PZR-RFUP ve real-time PZR yöntemiyle incelenmiştir.

CASR rs1042636 ve CASR rs104893706 genotip ve allel dağılımları açısından hasta ve kontrol gruplarında farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). KKH hasta grubunda CASR rs1042636 G alleli (AG+GG genotipi) taşıyan kadınlarda erkeklere göre vücut kitle indeksi (VKİ) değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek gözlenmiştir ($p=0,010$). Rs1042636 AA genotipi taşıyan kadın ve erkekler karşılaştırıldığında ise kadınlarda erkeklere göre sistolik kan basıncı değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek ($p=0,008$) ve diastolik kan basıncı değerleri de istatistiksel anlamlılığa yakın yüksek gözlenmiştir ($p=0,058$). Kontrol grubunda rs1042636 AA genotipi taşıyan kadınlarda erkeklere göre serum HDL-K değeri yüksek ($p=0,000$) iken serum LDL-K düşük gözlenmiştir ($p=0,031$). Rs1042636 AA genotipi taşıyan kadınlarda rs1042636 G alleli taşıyan kadınlara göre serum total kolesterol değeri istatistiksel olarak anlamlı yüksek gözlenmiştir ($p=0,008$).

Gruplararası karşılaştırma yapıldığında; rs1042636 AA genotipi taşıyan KKH grubuna ait kadınlarda rs1042636 AA genotipi taşıyan sağlıklı kontrol grubundaki kadınlara kıyasla, serum total kolesterol ($p=0,066$), trigiserid ($p=0,032$), LDL-kolesterol ($p=0,000$), VLDL-

Kolesterol ($p=0,026$) düzeyleri ile sistolik ve diastolik kan basıncı değerleri ($p=0,000$) yüksek gözlenirken, serum HDL-kolesterol düzeyleri düşük gözlenmiştir ($p=0,000$) (Tablo 4-7).

Propolis İçeriğindeki Çeşitli Flavonoid ve Fenolik Etken Maddelerinin MCF-7 Meme Kanseri ve MCF-10A Normal Epitel Hücre Soyları Üzerine Etkileri

Fatih Seyhan¹, Oğuz Öztürkv, Hülya Yılmaz-Aydoğan¹, Zerrin Calay², Sema Bilgiç³

¹İstanbul Üniversitesi, DETAE, Moleküler Tıp AD.;

²İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Patoloji AD.;

³İstanbul Üniversitesi, DETAE, İmmünoloji Anabilim Dalı

Meme kanseri, özellikle Batı ülkelerinde kadınlarda en sık görülen kanserdir. Meme kanserinin hormon ve çevresel etkenlerle genetik yapının etkileşiminin bir sonucu olarak oluştuğu düşünülmektedir. Meme kanseri İngiltere’de, 12 kadından birinde, ABD’de ise 8 kadından birinde görülmektedir. Türkiye’de kadınlar arasında en sık görülen 10 kanser tipi içerisinde meme kanseri birinci sırada yer almaktadır Ülkemizde kadınlarda meme kanseri T.C. Sağlık Bakanlığı 1997 Sağlık istatistiklerine göre 1995’te %23,5 olarak ilk sırada yer almaktadır.

Çok eski yıllardan beri propolis halk hekimleri tarafından en çok antiseptik, antibakteriyel, antiinflamatuvar ve rejeneratif amaçlarla çeşitli hastalıkların tedavisinde doğal bir ilaç olarak kullanılmıştır.

Propolisin önemli bir biyolojik etkilerinden birinin de kanseri durdurucu etkisi olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Propolisin antikarsinojenik etkisinden sorumlu en önemli etken maddesinin kafeik asit feniletal ester (CAPE) olduğu düşünülmektedir CAPE’in tümoral transforme hücrelere karşı sitotoksik olduğu, fakat normal hücreler üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Bununla birlikte chrysin, naringenin, baccharin, quercetin gibi propolis etken maddelerinin antikarsinojenik ajan olarak kullanılabilmesi çeşitli çalışmalar sonucunda gösterilmiştir.

Biz de bu nedenle çalışmamızda, propolis içinde bulunan flavanoid ve fenolik bileşiklerin MCF-7 meme kanseri ve MCF-10A normal epitel hücre soylarında tüm genom üzerindeki etkisine bakılmasını, böylelikle ileride olacak çalışmalarımızda antikarsinojenik bir ilaç geliştirilmesini amaçlamaktayız.

Epikardiyal yağ dokusunda aterosklerotik miRNA profiline belirlenmesi

Filiz Geyik, A. Evrim Bayrak, Neslihan Çoban, Hüsrev Demirel, Turgay Erginel, Nihan Erginel Ünaltuna

Epikardiyal yağ dokusu (EYD), kalbin etrafında biriken ve subepikardiyal koroner arterlerin çevresinde önemli miktarlarda bulunan viseral yağ dokusunun özel bir şeklidir. EYD ve ona komşu koroner arterler arasında serbest yağ asitleri ve adipositokinlerin yayılmasını engelleyen fibröz tabaka yoktur. Bu yakın anatomik ilişki sayesinde EYD’nin doğrudan endokrin ve parakrin etkiler yoluyla aterosklerotik koroner arter hastalığı (KAH) patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. EYD’nin miktarı tarafından belirlenen interatrial kalınlık ile KAH’nin varlığı ve şiddeti arasında korelasyon olduğu da bilinmektedir. Epikardiyal yağ depolarının KAH gelişiminde potansiyel rolünü gösteren birtakım çalışmalar olmasına rağmen kesin mekanizmaların aydınlatılabilmesi için daha fazla araştırmaya

Bulgularımıza göre grup içi ve gruplararası CASR gen rs1042636’nın etkisini ayırt etmek için incelediğimizde, KKH hasta grubunda AA genotipi kadınlarda erkeklere göre yüksek kan basıncı ile ilişkili iken, kontrol grubunda kadınlarda erkeklere göre iyi serum lipid profili ile ilişkili gözlenmiştir (Yüksek HDL-kolesterol, düşük LDL-kolesterol). Bu farklılıklar rs1042636’nın etkisi olmaksızın da mevcuttur. Gruplararası karşılaştırmalarda ise kadınlar arasında rs1042636’nın serum HDL-kolesterol düzeylerinde normalde olmayan etkisi dikkatimizi çekmiştir. KKH grubuna ait kadınlarda AA genotipinin kontrol grubuna ait kadınlara kıyasla serum HDL-kolesterol düzeyleri üzerinde azaltıcı etkisi gözlenmiştir. Çalışmamızda ayrıca kadınlarda bu varyasyonun etkisi daha belirgin bulunmuştur.

Tip 2 Diabette TIMP-1 ve TIMP-2 Genetik Varyasyonlarının Etkisi ve Serum Düzeylerinin İncelenmesi

Faruk Çelik, Ümit Yılmaz, Muhammed Oğuz Gökçe, Arzu Ergen, Ümit Zeybek

Dünyada sık görülen kompleks hastalıklardan biri olan Diabetes mellitus, insülinin yokluğu ve eksikliğine bağlı olarak gelişen, açlık glikozunun artışı ve buna eşlik eden lipid ve protein metabolizmasındaki bozukluklar ile karakterizedir. Genetik ve çevresel faktörler diyabet oluşumunda oldukça önem taşır.

Tip 2 diyabet, erişkin toplumda en yaygın görülen metabolizma hastalığı olmakla birlikte, lipid, protein ve karbonhidrat metabolizma bozuklukları gibi geniş bir komplikasyon yelpazesine sahiptir. Tip 2 diyabette insülin etkisi veya sekresyonu azalırken, insülin etkisindeki bozukluk nedeniyle insülin direnci gelişmektedir. Hastalıktan bir dizi aday genin sorumlu olduğu bildirilmektedir.

Diyabet oluşumu ve gelişmesinde sorumlu olan faktörlerin bazılarının ortaya çıkmasında etkin rolleri olan, multigenik bir peptidaz özelliğine sahip ekstraselüler matriks tarafından sentez, parçalanma ve yeniden hücre regülasyonu, dönüşümünde aracı olarak kullanılan moleküller MMP’lerdir . Bunun yanında MMP’leri inhibe eden bazı faktörler tanımlanmıştır. Bunlardan biri spesifik MMP doku inhibitörleridir (TIMP). TIMP’ler MMP’lerin aktivitesini hem proenzim aktivasyonu aşamasında hem de substrat parçalanması sırasında regüle eder. Etkin bir mekanizmaya sahip olan TIMP’lerde gerçekleştirilecek mutasyonların sonuçları yapılan bazı çalışmalarla bilim dünyasına sunulmuştur.

TIMP 1 ve TIMP 2 gen polimorfizmlerinin ve serum düzeylerinin tespit edilmesi ve TIP 2 diyabet hastalığına olan etkilerinin belirlenmesinin amaçlandığı çalışmamızın sonucunda, TIMP-1 T372C doğal tip TT genotipi taşımanın diyabet için risk faktörü olabileceği ayrıca C alleli taşımanın ise tip 2 diyabete karşı koruyucu rol oynayabileceği izlenimi elde edilmiştir. TIMP-2 G303A mutant AA genotipi ve A alleli taşımanın tip 2 diyabet için risk faktörü olabileceği izlenimi elde edilmiştir. Her üç polimorfizmin de serum TIMP-1 ve TIMP-2 düzeylerine etkisi gözlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Diabetes Mellitus, TIMP-1, TIMP-2, Polimorfizm, ELİSA

gereksinim vardır. Etiyolojik, patofizyolojik, klinik ve epidemiyolojik karmaşıklığına rağmen, ateroskleroz önlenilebilir bir hastalık olduğundan, oluşum mekanizmalarının anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Bu doğrultuda planlanan bu çalışmada, aterosklerozun moleküler patogenezinde rol oynadığı düşünülen miRNA genlerin epikardiyal yağ dokusunda araştırılarak hastalık ile ilişkilendirilmesi amaçlanmaktadır. Bu amaçla, post-mortem vakaların aterosklerotik EYD örnekleri (n=50) ile normal kontrollere ait EYD örnekleri (n=50) T.C. Adalet Bakanlığı, Adli Tıp Kurumu'ndan sağlanacaktır. Elde edilen miRNA bankasından en iyi kalitede olan 8 örnek için (4 hasta, 4 kontrol) miRNA ekspresyon profili hassas ve doğru bir miRNA mikrodizi deneyi olan Agilent teknolojisine ait olan miRNA profilleme sistemi kullanılarak belirlenecektir.

Bu çalışma sonucunda, epikardiyal yağ dokusunda gen regülasyonunun düzenlenmesinde rol alan miRNA'lar belirlenebilecek ve buna bağlı olarak da ateroskleroz ile sonuçlanan patolojide epikardiyal miRNA'ların etkisi aydınlatılabilecek, ve hastalık ile ilişkilendirilebilecektir. Elde edilecek sonuçlara göre aterosklerozun meydana gelmesinde rolü olan yeni yolaklar belirlenebilecektir.

Anahtar Kelimeler: Ateroskleroz, epikardiyal yağ dokusu, miRNA, otopsi materyali, koroner arter hastalığı

Pediyatrik Akut Lösemi Hastalarında LEF1 Mutasyon Analizi

Fulya Tozan¹, Yücel Erbilgin¹, İsmail Can¹, Özden Hatırmaz Ng¹, Orçun Taşar¹, Sevcan Mercan¹, Sinem Şişko¹, Deniz Çakmak¹, Sinem Fırtına¹, Zeynep Karakaş², Tülin Tiraje Celkan³, Saniye Sema Anak², Nazan Sarper⁴, Emine Türkkân⁵, Yıldız Yıldırım⁶, Gönül Aydoğan⁷, Çetin Timur⁸, Uğur Özbek¹, Müge Sayitoğlu¹

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul; ²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji/Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul; ³İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji/Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul; ⁴Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji/Onkoloji Bilim Dalı, Kocaeli; ⁵Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul; ⁶Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul; ⁷İstanbul Kanuni Sultan Süleyman Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul; ⁸Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji/Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul

LEF1 hematopoezde rol oynayan ve WNT sinyal iletilişinin önemli moleküllerinden birisidir. LEF1 geninde meydana gelen mutasyonlar ile ortaya çıkan onkogenik etki birçok kanser türünde ve lösemilerde gösterilmiştir. LEF1, T ve B hücrelerinin kök hücrelerden farklılaşması ve proliferasyonunu düzenleyen bir yazılım faktörüdür. Normal B ve T hücre gelişiminde yüksek oranda anlatımı görülmekte.

LEF1 kendini düzenleyen bir proteindir ve en yüksek anlatımı

immatur hücrelerde gösterirken, olgun hücrelerde anlatımı azalmaktadır. LEF1 geninde meydana gelen mutasyonlar neticesinde anormal LEF1 aktivasyonu gözlenmektedir.

Bu çalışmada pediyatrik ALL hastalarında LEF1 geni sıcak bölge (2 ve 3. Ekzonlar) mutasyonları (n=95) amplikon derin dizi (454 FLX GS Junior) yöntemi ve gen kopya sayısı değişiklikleri ve delesyonları (16 tanı ve 16 nüks) SNP array (Illumina HumanCytoSNP-12 DNA Analysis BeadChip Kit) yöntemleri ile analiz edilmiştir. Aynı zamanda tespit edilen varyasyonların gen anlatımına etkileri (n=100) kantitatif gerçek zamanlı PZR ile tespit edilmiştir.

Derin dizi analizi yapılan 95 örneğin örneğin 8'inde varyasyon (%8,4) saptanmıştır. B-ALL hastalarında c.253G>A missense mutasyon ve intronik varyantlar (c.280+29T>A, g.4466 A>G, g.4449A>G) saptanmıştır. T-ALL hastalarında ise c.408 G>A sinonim mutasyonu ve intronik varyasyon (g.6117 A>G) saptanmıştır. SNP/CNV mikrodizilim analizi kapsamında, LEF1 geni içerisinde yer alan 17 adet SNP takip edilmiş ve 1 T-ALL hastasının eşlenik tanı-nüks örneğinde LEF1 geni tek kopya, iki B-ALL hastasında ise 3 kopya olarak tanımlandı. Hastaların LEF1 mRNA anlatımı düzeylerine bakıldığında T-ALL ve B-ALL hastalarının tamamında timosit ve kemik iliği kontrollerine göre artmış LEF1 gen anlatımı saptandı (sırasıyla, p=0.002 ve p<0.001). Çalışmamız sonucunda hastaların çok büyük bir kısmında gözlenen LEF1 aktivasyonunun bu gendeki nokta mutasyonlarına bağlı olarak meydana gelmediğini gördük. Ancak tanı ve nüks örneklerinde gözlenen gen kopya sayısı değişiklikleri gen aktivasyonu için muhtemel alternatif mekanizma olarak düşünülebilir. Farklı hematolojik malignitelere artmış LEF1 aktivasyonunun kötü prognostik etkisine dair çalışmalar bulunmaktadır. Gerek pek çok genin yazılımını etkileyen bir protein olması ve gerekse hastalarda görülen anormal aktivasyonu LEF1 potansiyel terapötik aday moleküller arasına sokmaktadır.

Anahtar Kelimeler: akut lösemi, LEF1, yeni nesil dizileme, mutasyon

Galektin-3 Gen Varyantlarının Kolorektal Kanser Üzerine Etkisinin Araştırılması

Gurbet Korkmaz

Kolorektal kanseri en sık görülen üçüncü kanser türü olup tüm kanser vakalarının %9,7'lik kısmını oluşturur. Kansere bağlı ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Çeşitli genetik ve çevresel faktörler de kolorektal kanser gelişiminde önemli yer tutmaktadır. Galektin-3 (Gal-3) proteini, kanser progresyonu ile ilişkili bir protein olup, B-galaktozidaz ailesinin bir üyesidir. Galektin-3, hücre büyümesi, farklılaşması, apoptoz ve malignan transformasyon gibi birçok biyolojik etkiye sahiptir. Yapılan çalışmalarda, prostat kanseri, kolon kanseri, meme kanseri, gastrik kanser ve akciğer kanserinde gal-3 gen varyantlarının önemli etkiye sahip oldukları gösterilmiştir. Anti-apoptotik gal-3 molekülünün sitoplazmik düzeyinin artması sonucu, neoplastik hücreler metastatik potansiyel kazanmaktadır. Kanserde risk belirleme parametrelerinden biri olabileceği düşünülen gen polimorfizm çalışmaları, pek çok yaygın kanser türlerinde ve birçok gen üzerinde yürütülmektedir. Bu çalışmanın amacı, galektin-3 gen varyantlarının kolorektal kanser gelişimi ile ilişkili olup olmadığını araştırmaktır.

Çalışmaya, kolorektal kanserli 119 hasta ve 131 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Galektin 3 gen polimorfizmleri (rs4644 ve rs4652) PCR-RFLP yöntemi ile araştırılmış ve sonuçları SPSS ve Haploview 4.2 yazılımı ile analiz edilmiştir.

Sonuçlarımıza göre, rs4644 polimorfizmi için homozigot mutant tip AA genotip sıklığı kolorektal kanserli hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p=0.004, OR=0,198 %95 CI (0.059-0,658)). Yine, rs4652 polimorfizmine ait homozigot mutant tip CC genotipinin görülme sıklığı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kolorektal kanserli hastalarda anlamlı derecede düşük olarak gözlenmiştir(p=0.004, OR=0,278 %95 CI (0.108-0,716)). SNP analizlerine ek olarak haplotiplerde kolorektal kanserle ilişkili olarak değerlendirilmiş ve yapılan haplotip analizi sonucunda, AC haplotip frekansının (rs4644/rs4652) kontrol grubuna kıyasla kolorektal kanserli hastalarda anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür(D'=0,961, r²= 0,625, χ²=5,395, p=0.0202).

Sonuç olarak, bu bulgular AC (rs4644/rs4652) haplotipinin kolorektal kanserde genetik yatkınlık için önleyici bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Galektin-3, Varyant, Kolorektal kanser

Parkinson Hastalığı'nın Hayvan Modelinde PI3K/AKT Yolağı İle Mitokondriyal, Oksidatif Ve Apoptotik Parametrelerin İlişkisi

Hazal Haytural, Nazlı Yalçınkaya, Erdem Tüzün

Dopaminerjik nöronların progresif yıkımıyla seyreden Parkinson Hastalığı (PH) en sık görülen nörodejeneratif hastalıklardan biridir. Çalışmamızda rotenonla oluşturulan PH modelinde önemli sağkalım yollarından biri olan fosfoinositidil-3-kinaz(PI3K)/Akt sinyal yolağındaki genlerin ekspresyon düzeyleri klinik sürece bağlı incelenmiştir. PH modeli 40 adet 7-8 haftalık dişi C57BL/6 farelere gavaj yöntemiyle 30mg/kg rotenon verilerek oluşturuldu. PH'nin patolojik biyobelirteci olan tirozin hidroksilaz (TH) immünohistokimya ve hücrelerdeki apoptoz ise TUNEL boyama yöntemiyle değerlendirildi. Trizolle homojenize edilen beyin dokularından RNA izole edildikten sonra cDNA sentez edildi. Real-time PCR ile GAPDH, DJ-1 ve PI3K/Akt yolağındaki Akt-1, mTOR, PTEN, Bcl-2, kaspaz-3 ve kaspaz-9 genlerinin ekspresyon düzeyleri SYBR Green kullanılarak incelendi. Rotenon uygulanan farelerde rijidite, bradikinezi ve postür değişikliği saptandı. Substantia nigra'da bulunan TH pozitif hücrelerin azaldığı, ve serebral apoptotik nöronların arttığı gözlemlendi. Ağır klinik bulgular gösteren farelerde Bcl-2 ekspresyon düzeyinin anlamlı düzeyde azalması Bcl-2'nin prognostik biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Akt-1 ekspresyonunun erken dönemde artması ve ilerleyen haftalarda giderek azalması, Akt-1'in oluşan nörotoksititeyi ortadan kaldırmada rol oynadığını düşündürmektedir. Literatürde ilk defa saptanan bu bulgunun PH olgularında da saptanması durumunda Akt-1'in önemli bir biyobelirteç olarak kullanılması mümkündür. mTOR ekspresyonunun zamana bağlı olarak artışı mTOR'un artan oksidatif stresle ilişkili olduğunu düşündürmektedir. DJ-1, PTEN, kaspaz-3 ve kaspaz-9 ekspresyonlarının değişmemesi ve Bcl-2 ile diğer genlerin ekspresyonları arasında korelasyon bulunmaması PH'de

kaspazlardan bağımsız apoptoz yollarının rol oynadığını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Parkinson Hastalığı, PI3K/Akt Yolağı, Rotenon, Hayvan Modeli, Bcl-2

Tip 2 Diyabet Hastalığında MMP-3 ve MMP-12 Gen Polimorfizmlerinin ve Serum Düzeylerine Olan Etkisinin İncelenmesi

Leman Melis Yurdum, Nihal Yiğitbaşı Yozgatlı, M. Fatih Seyhan, Özlem Timirci Kahraman, Bedia Çakmakçoğlu, Ümit Zeybek

Diabetes mellitus, bütün dünyada milyonlarca kişiyi etkileyen ve giderek artan bir sağlık problemidir. Type 2 diabetes mellitus, patogenezi kompleks moleküler yolları aktive etmesi ile karakterize edilir ve inflamatuvar yollar diyabetik nefropati gibi diyabetik komplikasyonların gelişiminde merkezi rol oynar. İnflamatuvar sitokinler, diyabet ile mikrovasküler komplikasyon patogenezinde önemlidir. IL-1,IL-6, IL-18 ve TNF inflamasyonun temel düzenleyicileridir. Bu moleküller, diyabetik nefropatinin patogenezinde rol oynar. Matriks metalloproteinazlar (MMPs), sitokinler tarafından düzenlenir. MMP'ler, rheumatoid, osteoartrit, metastatik kanser, metabolik kemik hastalığı, ateroskleroz gibi patolojik süreçlerde doku matrikslerini bozmaktadır. Çalışmamıza hasta grubu olarak 70 adet Tip 2 diyabet hastası , kontrol grubu olarak 100 sağlıklı kişi dahil ettik. Türk toplumuna ait MMP-3 frekans dağılımı beyaz ırk ile uyumludur.

MMP-3 -1171 5A/6A genotip frekansları diyabet hastalarında %20 6A/6A, %8 5A/5A , %42 6A/5A iken kontrol grubunda %38 6A/6A, %18 5A/5A , %44 6A/5A olduğunu bulduk. Hasta ve kontrol grupları arasında MMP-3-1171 5A/6A genotipleri ve allelleri açısından istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p>0.05). Heterozigot 6A/5A genotipine sahip bireylerin frekansının hasta grubunda kontrole göre anlamlı olarak yüksek olduğu ve diyabet gelişim riskinin 1,9 kat yükseldiği gözlenmiştir. MMP-3 serum düzeyleri hasta grubunda yüksek bulunmuştur. Tez çalışmamızda MMP-12 genotiplenmesi de yapılmış olup hasta ve kontrolde herhangi bir variant polimorfizme rastlanmamıştır. Çalışma gruplarının hepsinde AA genotipi tespit edilmiş olup istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır.

Anahtar Kelimeler: Diabetes Mellitus, MMP-3, MMP-12, Polimorfizm, İnflamasyon

Tip2 Diyabetli Olgularda DNA Tamir Genlerinde XRCC1 ve XRCC3 Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi

Muhammed Oğuz Gökçe, Faruk Çelik, Özlem Timirci-Kahraman, Hatice Hümeysra Gökçe, Leman Melis Yurdum, Arzu Ergen, Bedia Çakmakoglu, Ümit Zeybek

İki tip DM mevcuttur; Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM) ve Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM). T1DM, pankreas ? hücrelerinde oluşan otoimmün cevap sonucu insülin sekresyonunda eksiklikle karakterize edilir, T2DM'da ise, insüline karşı direnç söz konusudur.

Oksidatif stresle birlikte DNA tamir gen ürünlerinin çalışmadığı durumda ortaya çıkabilecek hastalıklardan birisinin de diyabet olduğu bilinmektedir. DNA tamir genlerindeki yaygın polimorfizmler protein fonksiyonunu ve DNA hasar tamir kapasitesini değiştirebilir; tamir kapasitesindeki azalma karsinogenez ve genetik insitabiliteye yol açabilir.

Oksidatif stres, diyabet ve diyabetin daha sonraki komplikasyonlarının patogenezinde önemli görev alır. Enzimatik olmayan glikozilasyon, otooksidatif glikozilasyon, sorbitol yolu aktivitesi, antioksidan savunma sistemindeki çeşitli değişiklikler, hipoksi gibi nedenler diyabette oksidatif stresi artıran mekanizmalardır.

Reaktif oksijen türleri aynı zamanda baz hasarı, abazik alanlar ile tek ve çift zincirde kırılmaları tetikleyebilir. Tek zincir kırılmaları baz eksizyon tamir yolağı (örneğin x-ray repair cross-complementing protein group 1 (XRCC1), proliferating cell nuclear antigen (PCNA)) sayesinde tamir edilir. Çift zincir kırıkları ise homolog rekombinasyon (örneğin XRCC2-3) veya homolog olmayan uç eklenmesi yollarının her ikisiyle doğrulanır.

XRCC1 geni kromozomun 19q13.2~q13.3 bölgesinde yer alırken, XRCC3 geni 14q32.3 bölgesinde yer alır. XRCC3 proteini, DNA çift zincir kırılması/rekombinasyonel onarımı olayına katılır ve kromozom kararlılığını ve DNA hasarı tamirini sağlamak için homolog rekombinasyona katıldığı tahmin edilen, Rad-51-ilişkili protein ailelerinden birisinin üyesidir.

Çalışmamızda, Tip2 diyabet hastalarında DNA hasar tamir genlerinden olan XRCC1 ve XRCC3 genlerindeki polimorfizmler araştırılarak, hastalığın riski ve klinik parametreleri ile ilgili olası ilişkilerin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Diabetes mellitus, XRCC1, XRCC3, polimorfizm, Türk toplumu

Parkinson Hastalığı ve Akciger Kanseri DJ-1 ve alfa(?) -Sinuklein'in Ortak PI3K/Akt Yolağı Üzerindeki Etkilerinin Karsilastirilmesi

Nazlı Yalçınkaya, Hazal Haytural, Cem İsmail Küçükali, Erdem Tüzün

Parkinson hastalığı (PH) günümüzde en sık görülen nörodejeneratif hastalıklardan biridir. 65 yaş üzeri populasyonunun %1-2'sini etkilemekte ve yaşlılıkla birlikte insidansı artmaktadır. Günümüzde halen bu sık görülen hastalığın

tanısında kullanılacak güvenilir bir laboratuvar yöntemi bulunmamaktadır. PH'da kanser prevalansının düşük olduğunu gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu bulgu hem kanser hem de PH'de rol oynadığı bilinen DJ-1 PI3K/Akt yolağı ile ilişkili olabilir. Bu yolağın araştırılması hem PH'nin patogenezi hakkında bilgi edinmemizi hem de hastalığın tanısına yardımcı olacak biyobelirteçlerin tanımlanmasını sağlayacaktır. Bu çalışmada Parkinson, akciğer kanseri hastalarında ve sağlıklı kontrollerde DJ-1-PI3K/Akt sinyal yolağı komponentlerinden DJ-1, Akt-1, Kaspaz 3, Kaspaz 9, mTOR, Bcl2 ve Mdm2 ve bu yolağa etki eden proteinlerin periferik kan mononükleer hücrelerinde (PKMH) ekspresyonuna bakılarak bu ekspresyon değerleri ile Parkinson hastalığı klinik evre ve süresi arasında ilişki olup olmadığı araştırılacaktır. Bu çalışmanın sonuçları ile belirlenecek biyobelirteçlerin, PH tanısının ve prognozunun belirlenmesine yardımcı olması mümkündür.

Anahtar Kelimeler: Parkinson Hastalığı, PI3K/Akt Yolağı, α -sinuklein, Akciğer Kanseri, DJ-1

TIP 2 DİYABETLİ OLGULARDA DNA TAMİR GENLERİNDEN XPD VE HOGG1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ

Nihal Yozgatlı., L. Melis Yurdum, Ümit Yılmaz, Muhammed O. Gökçe, Bedia Çakmakoglu, Ümit Zeybek

Tip 2 diyabette kronik hiperglisemi, oksidatif DNA hasarını artırmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin (ROS), DNA'yı da içeren farklı biyolojik moleküllerde hasarların birikmesine sebep olmaktadır. Diyabetik hastalarda en çok çalışılan nükleer ve mitokondriyal DNA hasarı, 8-hidroksi-2'deoksiguanozin (8OHdG)'dir. 8OHdG hasarı, bir DNA glikozilaz olan 8-oksoguanin DNA glikozilaz (hOGG1) tarafından onarılır. Kseroderma pigmentosum (XPD), nükleotid çıkarma onarımı (NER) yolağında DNA lezyonlarını ve timin dimerlerini onarmaktadır. Çalışmamızda, PCR-RFLP tekniklerini kullanarak 71 tip 2 diyabet hastası ve 54 sağlıklı kontrol üzerinde XPD Lys751Gln ve hOGG1 Ser326Cys gen polimorfizmini araştırdık. Çalışmamızda XPD Lys751Gln genotip dağılımları; hasta grubunda %21,1 Lys/Lys, %56,3 Lys/Gln, %22,5 Gln/Gln olarak bulunurken, kontrol grubunda ise %40,7 Lys/Lys, %35,2 Lys/Gln, %24,1 Gln/Gln olarak saptanmıştır. Hasta ve kontrol grupları arasında XPD Lys751Gln genotiplerinin dağılımı incelendiğinde iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark gözlenmiştir. Ayrıca Lys/Lys genotipinin kontrol grubunda anlamlı olarak yükseldiği ve 2,56 kat koruyuculuğa sahip olduğu gözlenirken, Lys/Gln genotipinin hasta grubunda anlamlı olarak arttığı ve 2,37 kat hastalık riski oluşturduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda hOGG1 Ser326Cys genotip dağılımları; hasta grubunda %52,1 Ser/Ser, %39,4 Ser/Cys, %8,5 Cys/Cys iken, kontrol grubunda %38,9 Ser/Ser, %55,6 Ser/Cys, %5,6 Cys/Cys olarak bulunmuştur. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Ser/Ser genotipinin hasta grubunda Ser/Cys genotipinde kontrol grubunda yükseldiği ancak istatistiksel anlamlılığa ulaşmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: XPD, hOGG1, Diabetes mellitus, oksidatif hasar, polimorfizm

İnvazif duktal karsinomların ve fibroadenomların ayırıcı tanısında kullanılabilecek plazma miRNAlarının belirlenmesi

Ozan TİRYAKİOĞLU, Mustafa TÜKENMEZ, Ender COŞKUNPINAR, Nagehan Ersoy TUNALI, Prof.Dr. Sadrettin PENÇE

MikroRNA'lar (miRNA) küçük, protein kodlamayan, genellikle protein kodlayıcı genlerin intronlarına localize, ve gen regülasyonunda rol oynayan endojen RNA molekülleridir. Gen regülasyonunda etkilerini hedef mRNA'ların 3'UTR'lerine bağlanarak mRNA'ların degradasyonunu veya translasyonel blokajını sağlayarak gösterirler. Baskılamanın nasıl gerçekleşeceği, miRNA'nın hedef mRNA'ya bağlanırken gösterdiği eşleniklik seviyesine bağlıdır, eşleniklik arttıkça degradasyon ihtimali yükselir. Her miRNA 1'den fazla geni hedef alabilir. Gen ifadesi üzerindeki bu güçlü etkileri, miRNA'ların ifade seviyelerindeki değişimlerin çeşitli kanserlerle ilişkili olarak araştırılmasına sebep olmuş ve bir çok farklı kanser tipinde miRNA ifade seviyelerinin değiştiği belirlenmiştir. Özellikle yüksek verimli miRNA profillemeye tekniklerinin keşfi ile miRNA'ların meme, akciğer, tiroid, pankreas kanseri gibi bir çok farklı kanser tipinde kilit işlevleri olduğu belirlenmiştir.

Ayrıca tümörlerin kendilerine özgü miRNA'ları salgıladıkları da bildirilmiştir. Dokuya spesifik ifadeye ek olarak miRNA'ların degradasyona dirençli oldukları ve miktarlarının çeşitli vücut kompartmanlarında fizyolojik değişimlere yanıt olarak uzun süreli değişiklikler gösterdiği belirlenmiştir.

Bu bulgular doğrultusunda mirna'ların, özellikle çeşitli kanser tiplerinde erken tanı ve prognoz için prediktif biyobelirteç olarak kullanımları çeşitli çalışmalarda incelenmiştir; ancak bugüne kadar meme kanserlerinin fibroadenomlardan ayırımı için dolaşımdaki miRNA'ların kullanımına dair yapılmış bir araştırma yoktur. Önerilen projede, aralarına çeşitli kanser tiplerinin varlığına, ve diyabet başta olmak üzere çeşitli metabolik hastalıklara bağlı olarak serum miktarı değişen miRNA'lara ek olarak sağlıklı bireylerin serumlarında stabil seviyelerde rutin olarak tespit edilebilen miRNA'ların da dahil edildiği toplam 372 miRNA'nın ifade seviyeleri incelenecektir.

Günümüzde fibroadenomları meme kanserinden ayırmak için mamogram ve şüpheli kitleden elde edilen biyopsi örneklerinin patolojik analizinden faydalanılmaktadır. Fibroadenomların en sık görüldükleri yaş grubunda mamogram tekniğinin kullanımı kısıtlıdır. Ayrıca fibroadenom ve meme kanseri ayırımı biyopsi örneği sitolojisi sonuçlarına dayanarak ancak %72'lik bir oranda yapılabilmektedir.

Önerilen projede patolojik süreçlere bağlı olarak farklı anlatım profilleri gösteren mikroRNA'ların dolaşımdaki miktarlarının belirlenmesiyle, meme kanserlerinin erken teşhisinde, ve fibroadenom ve invazif duktal karsinomların ayırımında kullanılabilecek mikroRNA biyobelirteçlerinin incelenmesi amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, fibroadenom, miRNA, biyobelirteç, duktal karsinom

Fibroz gelişimi gösteren Kronik miyeloid lösemi hastalarında kalretikulin (CALR) mutasyonlarının araştırılması

Suzin Çatal Tatonyan¹, Deniz Çakmak¹, Eda Güngörürler¹, F.Fırat Yalınz², Muhlis Cem Ar², Özden Hatırnaz¹, Müge Sayitoğlu¹, Teoman Soysal², Uğur Özbek¹

¹İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı; ²İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı

KMPN'ler arasında yer alan kronik miyeloid lösemide (KML) kalretikulin mutasyon sıklığı hakkında yeterli bilgi yoktur. Kemik iliğinde fibroz gelişiminin KML dahil kronik miyeloproliferatif hastalıklarda hastaların morbidite ve mortalitesine etki eden bir faktör olduğu bilinmektedir. Kalretikulin mutasyonunun fibrozla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Fibroza yol açan nedenlerin ortaya çıkarılması ve fibroz gelişiminin önlenmesi KMPN'lerin prognozunu etkileyecektir. Çalışmamızda kalretikulin geninde mutasyonların KML'deki sıklığı ve KML'de kemik iliği fibrozu üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kronik miyeloid lösemi, fibroz, kalretikulin, mutasyon

Türk Popülasyonunda HNF1A Gen Mutasyonlarının Araştırılması

Tuğba Köse

Kardiyovasküler hastalıklar tüm dünyada ölüm sebeplerinin başında gelmektedir. Kardiyovasküler hastalıklar çevresel, genetik ve klinik risk faktörlerinin görüldüğü multifaktoriyel bir etki göstermektedir. Ayrıca koroner arter hastalığının seyri sigara, diyabet, hipertansiyon, obezite, fiziksel inaktivite gibi birçok durumdan etkilenmektedir. HNF1A çoğunlukla karaciğerde ifade edilen, gelişim döneminde pankreas gelişimini düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. HNF1A varyantlarının diyabet, insülin direnci, CRP ve fibrinojen gibi birçok faktör ile ilişkisinin olması kardiyovasküler risk araştırması için onu uygun bir aday yapmaktadır. Bu çalışmada HNF1A geni Leu17Leu(rs1169289) ve Ile27Leu (rs1169288) varyantlarının TEKHARF kohortunda kardiyovasküler risk parametreleri ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Çalışma Türk Popülasyonunun kalp sağlığını temsil eden TEKHARF'e dahil olmuş bireyler ile yapılmıştır. HNF1A geni Leu17Leu (rs1169289) ve Ile27Leu (rs1169288) varyantlarının kantitatif PZR metodu ile hidroliz prob kullanarak genotipleme analizi yapılmıştır.

HNF1A geni Leu17Leu (rs1169289) varyantının tüm grupta dislipidemi (p=0,07) ve metabolik sendrom (p=0,012) ile ; Ile27Leu (rs1169288) varyantı da tüm grupta (p=0,04) ve kadınlarda (p=0,025) dislipidemi ve erkeklerde koroner kalp hastalığı (p=0,050) ile ilişkili bulunmuştur.

HNF1A geni Leu17Leu (rs1169289) ve Ile27Leu (rs1169288) varyantlarının, gerek TEKHARF tüm grup gerekse alt gruplarda kardiyovasküler risk parametresi olarak kabul edilen birçok parametre ile ilişkili olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: HNF1A, Diyabet, Kardiyovasküler Risk, MODY, İnsülin Direnci

Transkraniyal modüle akım ve sabit akım uyarımının çalışma belleği üzerine etkisinin incelenmesi

Zeynep Küçük¹, Ezgi Tuna Erdoğan², Adnan Kurt¹, Sacit Karamürsel¹

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Fizyoloji, İstanbul; ²İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, MakeLab, İstanbul

Çalışma belleği merkezi yürütücü sistem aracılığıyla kısa süreli depolamayı ve bilişsel bir davranış için bilgiyi çevrimiçi kullanmayı gerektiren iki alt bileşene sahiptir. Bu çalışmada çalışma belleği (working memory) ile ilişkili sol dorsolateral prefrontal korteks (DLPFC) bölgesine uygulanan farklı frekanslardaki modüle edilmiş anodal transkraniyal sabit akım uyarımının (TSAU) çalışma belleği üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya psikiyatrik ya da nörolojik ilaç kullanmayan 12 gönüllü katılımcı dahil edilmiştir. Çalışma

Belleği performansını ölçmek amacıyla 3-geri (back) testinin sessiz harflerden oluşan görsel bir versiyonu kullanılmıştır. Uyarım parametreleri; offset 1.70 mA, sinüs genliği 0.35 mA (11 Hz ve 22 Hz), 2 mA sabit akım (DC) ve sham (yalancı) uyarım olarak ayarlanmıştır. Katılımcıların 3-geri görevi sırasındaki reaksiyon zamanları, doğru yanıtları kaydedilmiş ve ortalamaları alınmıştır. Ortalamaların karşılaştırılmasında parametrik olmayan Friedman testi kullanılmıştır. İstatistiksel analizde sham, 11 Hz, 22 Hz ve sabit akım uyarımında verilen doğru yanıtlar arasında anlamlı bir farklılık vardır ($p = 0,029$). Uyarımlar arasındaki anlamlı farkın post hoc analizi eşleştirilmiş örneklemli Wilcoxon testiyle yapılmıştır. Yapılan analiz sonucunda elektriksel uyarımın sham durumuna kıyasla doğru yanıtlar üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır. Sabit akım uyarımının 11 Hz ve 22 Hz uyarıma göre doğru yanıtlar üzerinde pozitif bir etkisi bulunmaktadır ($p < 0,05$). Bu çalışma sol DLPFC bölgesine uygulanan, modüle edilmiş akım ve sabit akım uyarımı arasındaki farkı çalışma belleği performansı üzerine etkisiyle ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: çalışma belleği, transkraniyal elektriksel uyarım, dorsolateral prefrontal korteks, sabit akım, frekans modülasyonu.

Kolon kanseri hastalarında UDP-glukuronosiltransferaz ve TimidilatSentaz fonksiyonel varyantlarının kemoterapi toksisitesi ile ilişkisi

Allison Pınar Eronat, Oğuz Öztürk

Farmakogenetik, ilaç metabolizmasında etkin enzimlerin aktivitesini değiştiren polimorfizmleri inceleyen bilim dalıdır. Mekanizmada buldukları konuma göre, detoksifikasyon veya hedef enzim, enzim aktivitesine uygun şekilde doz ayarlamaları yapmak gerekmektedir. Bu sayede bireye özgü tedaviler gerçekleştirilebilecektir.

Kolon kanseri tedavisinde ilk sırada kullanılan İrinotekan ve 5-Fluorourasil ilaçlarının metabolizmasında etkili olan UGT1A1 ve Timidilatentaz enzimlerinin aktivitesinde etkinlikleri birçok çalışmada gösterilmiş olan UGT1A1*28, UGT1A1 -3156 G>C, TSER, TSERG>C ve TSdel varyantlarının

farklı kemoterapi rejimleri dahil edilerek kemoterapi toksisitesi ile ilişkisi ayrı ayrı ve ortak olarak incelenmiştir. Çalışmaya dahil edilmiş 86 hasta ve 100 kontrolün genotiplerinin belirlenmesinde PZR-RFLP ve PAGE yöntemleri kullanılmıştır. Polimorfizmlere ait ayrı ve ortak etkiler ki kare testi ile istatistiksel olarak incelenmiştir. Hasta toksisite ve genotip verileri geniş bir yelpazede çeşitlilik göstermiştir. Tüm polimorfizmler ve hasta grubu toksisite şablonları arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p > 0,005$). Ancak hasta ve genel toplum dağılımları incelendiğinde görülen benzerlik bu varyantların kanser gelişiminde bir rol oynamadığını işaret etmektedir. Çalışmamız hasta grubunun genişletilmesi ile devam edecektir.

Anahtar Kelimeler: Farmakogenetik, kanser, kemoterapi, irinotekan, 5FU

Fermente Edilmiş Morus Nigra Meyve Suyunun MCF-7 ve MCF-10A İnsan Meme Kanseri Hücre Hatlarında Sitotoksik ve Apoptotik Etkilerinin İncelenmesi

Ayça Diren, Oğuz ÖZTÜRK

Kanser; gelişmiş ülkelerde ölümün önde gelen sebeplerinden biridir. Dünyada her sene eklenen 1 milyon yeni vakayla meme kanseri, kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. 2008 yılı verilerine göre meme kanseri; toplam yeni kanser vakalarının %23 (1.38 milyon)'ünü ve toplam kanser ölümlerinin %14 (458,400)'ünü oluşturmaktadır.

Flavanoidler, fenolik asitler ve antosiyaninler gibi doğal antioksidanları içeren dutsu meyveler bu açıdan oldukça iyi bir kaynaktır. Serbest radikal inhibitörleri olarak etki gösterebilen yüksek antioksidan enzimlerine ve oksijen radikal süpürücü aktiviteleri vardır, hasarlara karşı koruma sağlarlar.

Bu meyveler içinde bulunan, tropikal ve subtropikal bir meyve türü olan dut (*Morus spp.*), Moreceae ailesinin *Morus* cinsinde yer almaktadır. *Morus* cinsinde yaygın olarak yetiştirilen türler; kırmızı dut (*Morus rubra*), karadut (*Morus nigra*) ve beyaz dut (*Morus alba*)'tur. Dut çeşitlerinin antioksidan aktiviteleri çoğunlukla fenolik bileşenlerinden; özellikle antosiyaninlerden kaynaklanır.

Fermente içeceklerin, üzüm şarabı gibi, fenolik bileşikleri içermeleri nedeniyle antioksidan etkiye sahip olmalarıyla yaşlanma, kanser, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi zararlı süreçlerin önlenmesinde önemli rol oynadıkları ilişkilendirilmektedir. Dolayısıyla

Önemli miktarda antosiyanin içeriğe sahip olmalarından ötürü fermente edilmiş karadutun kanser gelişimi üzerine potansiyel antikarsinojenik etkileri olması çok muhtemeldir.

Bu amaçla çalışmamızda, in vitro hücre kültürü yöntemleri kullanılarak, insan meme kanseri hücre soyunda, fermente karadutun sitotoksik ve apoptotik etkilerini incelemeyi hedeflemekteyiz. Çalışmamızda kullanılacak MCF7 meme kanseri hücre soyu, en yaygın gözlenen meme kanserini örnekleyen östrojen reseptör pozitif ER+ özelliktedir.

Kontrol olarak normal meme epitel hücre soyu olan MCF10A kullanılacaktır. Bu iki tip hücre soyunda fermente karadut

ekstraktlarının hücre canlılığı üzerinde karşılaştırmalı etkisi incelenerek, fermente karadutun meme kanserinde olası önleyici veya baskılayıcı etkilerinin belirlenmesi hedeflenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Karadut, Mayalanma, Meme Kanseri, Flavanoid, Apoptoz

Sepsiste Nükleer Faktör Kappa B ve TNF-alfa Gen Varyantlarının ve TNF-alfa Serum Düzeyinin İncelenmesi

Leyla Acar¹, Nazan Atalan², Hande Karagedik¹, Arzu Ergen¹

¹Ü DETAE Moleküler Tıp AD; ²Siyami Ersek Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Anestezi ve Reanimasyon Kliniği

Sistemik enflamatuvar bir yanıt olarak tanımlanan sepsis'in triadı sistemik inflamasyon, koagülasyon ve bozulmuş fibrinolizdir. Sonuç, sistemik inflamatuvar yanıt, hemostatik değişiklikler ve organ hasarının ortaya çıkmasıdır.

TNF-alfa'nın iltihabi olaylarda önemli rol oynadığı, enfeksiyöz ajan varlığında veya doku hasarında 4- 8 saat içinde TNF artışı gözlenip 16- 24 saatte en üst düzeye ulaştığı ve uyarının devamlılığına göre salınımının devam ettiği rapor edilmektedir. TNF- α geni 6. kromozomun kısa kolunda lokalizedir. Genin promotör bölgesinin pozisyon -308'de guaninin adeninle yer değiştirdiği tek bir baz değişiminin olduğu tanımlanmıştır. Bir çok çalışma göstermiştir ki mutant allelin fonksiyonel varyantı A-308 alleli tarafından genin transkripsiyonel aktivitesini artırır. TNF- α A alleli, G allele göre daha güçlü transkripsiyonel aktivatördür ve yüksek TNF- α düzeylerine neden olur. Septik olgularda TNF düzeyinin hipotansiyon ve organ yetmezliğinin derecesi ile doğru orantılı olarak arttığı saptanmıştır.

Rel ailesi olarak adlandırılan bir grup proteinin üyesi olan NF-kB dimerik proteinler şeklinde DNA'ya bağlanan transkripsiyon faktör kompleksleridir. p50 ve p65 proteinleri tanımlanan ilk NF-kB proteinleri olup oluşturdukları p50/p65 kompleksi çeşitli hücre tiplerinde en fazla görülen tiptir. NF-kB molekülleri bakteri ve virüsler gibi patojenler, büyüme faktörleri, kemoterapotik ajanlar, iyonize radyasyon, interlökinler, lipopolisakkaritler, immunoglobulinler, reaktif oksijen türleri ile psikolojik, fizyolojik ve oksidatif farklı stres uyarılarını içine alan çok geniş kitlede ekstraselüler uyarılara karşı oluşacak cevapta hızlı bir şekilde aktive edilirler. NF-kB'nin nükleer translokasyonu ve aktivasyonu özellikle pro-enflamatuvar genlerin transkripsiyonunu indüklediği için enflamasyonda merkezi bir rol oynar.

Bu bilgiler ışığında çalışmamızda sepsis hastalarında NF-kB ve TNF-alfa gen varyantları ve TNF-alfa serum düzeylerinin sepsis patogeneziindeki rolünü incelemeyi amaçlamaktayız.

Anahtar Kelimeler: Sepsis, inflamasyon, polimorfizm, TNF-alfa, NF-kB

Akut Koroner Sendromu Bulunan Obez Hastalarda Leptin, Rezistin ve PPAR-Gama Genetik Varyasyonlarının Etkisinin İncelenmesi

Akif Arat, Faruk Çelik, Ümit Zeybek

Son yıllarda obezite dünya çapında en büyük sağlık problemlerinden biri haline gelmiş ve insidansı gittikçe artmaktadır. Obezitenin Türkiye'deki prevalansı kadınlarda %29,9, erkeklerde %12,9 olarak gösterilmiştir. Obezitenin risk faktörleri arasında alkol, fiziksel aktivitede azalma, doğum sayısı, yaş, cinsiyet, beslenme alışkanlıkları, sigarayı bırakma bulunmaktadır. Obezitenin genetik altyapısı ile ilgili bir çok aday gen bildirilmektedir. Sitokin ailesine olan aşırı benzerliği nedeniyle klas-1 sitokin reseptör ailesinden sayılmakta olan, Leptin reseptörü (LEPR) Q223R-polimorfizmi, leptin reseptöründe karşılaşılan en sık polimorfizmlerden biridir. Bu polimorfizm,

Leptin reseptör geninin 6. Ekzon 223. kodonunda glutaminin-arginine (CAG-CGG) dönüşmesi olarak bilinen tek nükleotid değişimidir. Yapılan bazı çalışmalarda bu polimorfizmin obezite gelişim riskini yükselttiği gösterilmiştir. Resistin (FIZZ3), sisteinden zengin adipositlerden sekrete edilen bir proteindir. Resistin yağ hücresinde bol miktarda bulunan ve salgılanan hormon olup son yıllarda keşfedilmiştir. Obezite ve tip2 diyabet ile bağlantılıdır. Memeli kan serumunda ölçülebilecek düzeyde bulunmuştur. Resistin negatif feedback mekanizma ile periferik etki ederek vücut yağ kitlesini düzenliyor olduğu düşünülmektedir. Resistinin monositlerin endotel hücresi ile adezyonuna engel olarak aterosklerotik vasküler damar hasarına karşı koruyucu olduğu ileri sürülmektedir. Peroksizom-proliferatör-aktivated-reseptörleri (PPAR) nükleer hormon reseptör ailesinin bir üyesidir. PPAR'ların 3 alt tipi mevcuttur: α , δ , γ . Doğal olarak oluşan serbest yağ asitleri ve yağ asidi türevleriyle aktive edilmektedir. PPAR'lar retinoid-X reseptörleriyle heterodimerize olmaktadır ve spesifik cevap elementleri ya da PPRE'lere bağlanarak hedef genlerin transkripsiyonunu düzenlemektedirler. En çok sıklıkta oluşan PPAR- γ polimorfizmi PPAR- γ 2 geni ekzon B'de (Pro12Ala) değişimidir. Bu polimorfizm ile tip2 diyabet, insülin direnci ve obezite arasındaki ilişki pek çok çalışmada gösterilmiştir.

Çalışmamızda akut koroner sendromlu obez hastalarda Leptin, Rezistin ve PPAR-Gamma polimorfizmlerinin hastalık ile ilişkisi araştırılarak Türk toplumundaki dağılımının incelenmesi amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Akut Koroner Sendrom (AKS), Obezite, Leptin, Rezistin, PPAR-gama, polimorfizm

Oral sküamöz hücreli karsinomda PPAR-Gamma Pro12Ala Gen Varyant Dağılımlarının İncelenmesi

Özlem Küçükhüseyin, Kıvanç Bektaş-Kayhan, Hülya Yılmaz-Aydoğan

Günümüzde oral kanserler, dünyanın birçok bölgesinde oldukça sık rastlanan ciddi bir sağlık problemi haline gelmiştir. Dünya genelinde en yaygın altıncı kanser türü olarak tanımlanmaktadır. Ülkemizde ise gerçek kanser insidansı tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, 1991 yılındaki verilere

göre ağız ve larinks bölgelerinde görülen kanser vakalarının, erkeklerde bütün kanser tiplerinin %4,1'ini, kadınlarda %2,6'sını oluşturduğu bildirilmiştir. Multifaktoriyel etyolojisi olan oral kanserlerin gelişiminde risk faktörü olarak tütün çiğnemek, sigara kullanmak, sık alkol almak, uzun süre güneş ışınlarına maruz kalmak, ağız hijyeninin yetersiz, kötü olması ve hatta olmaması, beslenme bozuklukları, demir eksiklikleri, bakteri/virüs/mantar enfeksiyonları, ırk, cinsiyet, radyoterapi, genetik, avitaminozlar ve immün sistem hastalıkları gibi sistemik faktörler tanımlanmış olup son yıllarda oral kanserlerin genetik temeli yönünde yapılan çalışmalar ağırlık kazanmıştır. Yapılan çalışmalar insan tükürük bezi tümörlerinde peroksizom-proliferator-aktivatör-reseptör-gamma (PPAR-G) ekspresyonu varlığına işaret etmekte olup, ligandlarının tükürük bezi kanser hücrelerinde büyüme inhibisyonuna neden olduğunu göstermiştir. Ayrıca, oral sküamöz hücreli karsinom (OSCC) hastalarında PPAR-G ekspresyonunun düşük olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Bu ön çalışmada Türk toplumunda OSCC hastalarındaki PPAR-G Pro12Ala gen variant dağılımları incelenerek OSCC gelişimine etkisi değerlendirilecektir. Bu amaçla, 92 OSCC hastası ve 105 sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma grubunu oluşturan bireylerden DNA izolasyonları yapılarak PPAR-G varyantları PCR-RFLP tekniğine göre analiz edilmiştir. Hasta grubunda PPAR-G Pro12Ala polimorfizmine ait ProPro, AlaAla ve ProAla genotiplerinin frekansları sırasıyla %80,4, %2,2 ve %17,4; kontrol grubunda ise, sırasıyla, %83,8, %0,0, %16,2 olarak bulunmuştur. Çalışmamız sonucunda, tütün alkol kullanımı, erkek cinsiyeri gibi klasik risk faktörleri ile OSCC arasındaki ilişki PPAR-G Pro12Ala polimorfizminde gözlenmemiş olup, bu polimorfizmin hastalık gelişimi üzerine etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: OSCC, PPAR-Gamma, polimorfizm, Pro12Ala

Sepsiste Toll Like Reseptör-2'nin Rolünün İncelenmesi
Karagedik EH¹, Nazan Atalan², Leyla Acar¹, Arzu Ergen¹

¹Ü DETA E Moleküler Tıp AD; ²Siyami Ersek Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Anestezi ve Reanimasyon Kliniği

Sepsis; enfeksiyona karşı verilen sistemik enflamatuvar yanıt olarak tanımlanmaktadır. Yapılan araştırmalarda dokularda oluşan enfeksiyon ve travmatik hasar sonucu vücutta hümmoral sistemin aktive olduğu ve çeşitli sitokinlerin salındığı gösterilmiştir. Toll-like reseptörler (TLR), birçok patojene karşı doğal immün cevabın oluşmasını sağlayan bir transmembran proteindir. Aynı zamanda adaptif immün cevabın da aktive olmasını sağlayarak konak immünitesinde çok önemli role sahiptirler. İmmün sistem, doğal ve adaptif olarak

Ayrılan iki kısımda incelenebilen bir savunma sistemidir. Bu ailenin bir üyesi olan TLR-2 peptidoglikan, lipoteikoik asit, gram-pozitif LPS ve bir grup gram-pozitif makromolekül ile bağlanıp cevap verebilmektedir. Çalışmamızda TLR-2 Arg753Gln ve del -196-174 gen polimorfizmlerinin ve TLR-2 serum düzeyinin incelenerek, hem bu polimorfizmlerinin TLR-2 düzeylerine olan etkisi hem de sepsiste klinik ve prognostik parametrelerle birlikte ele alınarak olası etkilerinin incelenmesi amaçlanmaktadır. Bu amaçla 59 sepsis hastası ve 83 sağlıklı kontrolde TLR-2 gen polimorfizmlerini saptamak

için PCR-RFLP ve TLR-2 serum düzeylerini incelemek için ELISA teknikleri kullanılmıştır. Deneysel çalışmalar sonucunda çalışma grupları arasında her iki polimorfizm açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir (p<0,05). TLR-2 serum düzeylerini incelediğimizde ise hasta grubunda sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır (p<0,001). Sonuç olarak, çalışmamız her iki polimorfizm açısından da sepsis vakalarında ülkemizde yapılan ilk çalışma özelliğini taşımaktadır. Yaptığımız deneysel çalışmalar sonucunda elde ettiğimiz bulgular her iki polimorfizm ile sepsis riski arasında bir ilişki olmadığını ancak serum TLR-2 düzeylerinin del -196-174 gen polimorfizminden bağımsız olarak hasta grubunda artmış olduğunu, Arg753Gln polimorfizmi açısından ise GG genotip ve G allelinin hastalarda artmış TLR-2 düzeyleri ile ilişkili olduğunu öngörmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sepsis, inflamasyon, polimorfizm, Toll like reseptörler, düzey

Akut Lenfoblastik Lösemi Hastalarında Gen Ekspresyon Veri Analizi

Yücel ERBİLGİN¹, Burak İŞLEK¹

¹İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

Gen ekspresyon arrayleri, biyolojik örneklerde eş zamanlı ve kapsamlı olarak gen aktivitesinin tespitine izin veren bir teknolojidir. İnsan Genom Projesi'nin tamamlanması, kanser çalışmalarına yeni bir boyut kazandırmış ve genom boyu analiz yaklaşımlarının gelişmesine neden olmuştur. Akut lenfoblastik lösemi (ALL) heterojen bir hastalık olması nedeni ile biyolojik ve moleküler temellerinin daha iyi anlaşılması gerekmektedir. Bu doğrultuda çalışmamızın hedefi, yüksek çıktılı tüm genom ekspresyon verilerini farklı araçlarla işleyerek ALL patobiyolojisini incelemektir.

Gene Expression Omnibus (GEO) veri tabanı, uluslararası ölçekte halka açık olarak mikroarray ve yeni nesil dizileme verilerinin depolanabildiği ve paylaşılabildiği bir platformdur. ALL hastaları açısından GEO veri tabanını taradığımızda, toplamda 11 veri seti - 795 örneğe ait gen ekspresyon array bilgisine ulaşılmıştır. GSE3910, GSE3911, GSE4698, GSE8879, GSE13576, GSE18497, GSE28460, GSE46170, GSE47051, GSE50999 kodlu veri setleri Affymetrix platformu ile, GSE41621 veri seti ise Illumina platformu ile çalışılmıştır. 9 kontrol, 618 tanı, 168 nüks örneğine ait veriler derlenerek, bir istatistik dili olan R temelli program ve araçlarla işlenmiş ve farklılaşma analizleri gerçekleştirilmiştir. Farklı analiz metodları ve araçları kullanılarak yapılan analizlerde, var olan analiz akışlarının etkinliği ve kullanılabilirliği de ayrıca incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gen Ekspresyonu, Mikroarray, ALL, GEO, R Bioconductor