



X. ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

Bildiri Kitabı

6-9 Eylül 2007

Otium Zeynep Hotel Belek / ANTALYA

Düzenleyenler

**İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD ve
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Derneği**



en kısımlarında M 340
- M 1680
V 1531
Fot



X. ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

Bildiri Kitabı

6-9 Eylül 2007

Otium Zeynep Hotel Belek / ANTALYA

Düzenleyenler

**İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD ve
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Derneği**

KATKILARINDAN DOLAYI TEŞEKKÜR EDERİZ

MEDSANTEK

İNCEKARALAR

MEDİSA

GLİA MEDİKAL

ROCHE

KARAR LABORATUVARI

ABBOTT MOLEKÜLER

NOVARTİS

AYKA

ANAMED

DİAGEN

REFGEN

FİLMAT

GENOMED

PRİZMA LABORATUVARLARI

METİSBİO

HEMAKİM

Değerli Meslektaşlarım;

Camiamız bütün zorlukları aşarak ve geride başarılı bir bilimsel geçmiş bırakarak 10. kongreye ulaşmış bulunuyor, bu vesile ile sizleri 6-9 Eylül 2007 tarihleri arasında Antalya'da düzenlenecek olan 10. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik kongresinde aramızda görmekten büyük mutluluk duyacağız.

Bilimsel programı kongre tarihinin çok öncesinde ilan etmemize rağmen dinamik bir programdır ve elimizdeki salon olanakları bize programı genişletme şansını da vermektedir. Elimizden geldiği ölçüde uluslararası katılımı da sağlamaya çalıştık. Ayrıca kongre öncesinde bioistatistik kursu düzenlemekteyiz. Genç araştırmacıların katılımını kolaylaştırmak amacıyla TÜBİTAK'dan destek almak üzere başvurmayı planlamaktayız. Bilimsel düzeyi yüksek bir kongreyi sosyal açıdan da doyurucu hale getirmeyi hedefledik. Umuyorum hepimiz bu kongreden bilimsel açıdan doymuş, birbiriyle kaynaşmış ve güzel anılarla ayrılırız. Kongrenin bilimsel programının oluşturulmasında büyük emek harcayan bilimsel komite, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Derneği Yönetim kurulu ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden oluşan düzenleme komitesine şükranlarımı sunuyorum ve sizleri saygıyla selamlıyorum.

Prof.Dr.Turgut Ulutin
Kongre Başkanı

İÇİNDEKİLER

Sf. No.

I	Organizasyon komitesi	7
II	Bilimsel Program	8
III	Konuşma Metinleri	13
IV	Sözlü Sunumlar	77
V	Poster Bildiriler	119
VI	İndeks	297



X. ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ



ORGANİZASYON KOMİTESİ

ONUR KURULU

Prof. Dr. Mesut PARLAK
(İstanbul Üniversitesi Rektörü)

Prof. Dr. Halil YANARDAĞ
(Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanı)

KONGRE BAŞKANI

Prof. Dr. Turgut ULUTİN

KONGRE SEKRETERİ

Doç. Dr. Ayhan DEVİREN

BİLİM KURULU

Prof. Dr. Selma YILMAZER (Başkan)
Prof. Dr. Meral ÖZGÜÇ
Prof. Dr. Turgut ULUTİN
Prof. Dr. Şükriye AYTER
Prof. Dr. Ahmet ARSLAN
Prof. Dr. Turgay İSPİR
Doç. Dr. Fatma OĞUZ SAVRAN

TIBBİ BİYOLOJİ ve GENETİK DERNEĞİ YÖNETİM KURULU

Prof. Dr. Mahmut ÇARİN (Başkan)
Prof. Dr. Turgut ULUTİN (II. Başkan)
Doç. Dr. Ayhan DEVİREN (Genel Sekreter)
Dr. Cenk Aral (Sayman)
Prof. Dr. Mehmet GÜRTEKİN (Üye)
Prof. Dr. Ayşe ÖZER (Üye)
Prof. Dr. Şükriye AYTER (Üye)

DÜZENLEME KOMİTESİ

Prof. Dr. Turgut ULUTİN
Prof. Dr. Selma YILMAZER
Prof. Dr. Gönül KANIGÜR
Prof. Dr. Seniha HACIHANEFİOĞLU
Prof. Dr. Melek ÖZTÜRK
Prof. Dr. Müjgan CENGİZ
Prof. Dr. Nur BUYRU
Prof. Dr. Adnan YÜKSEL
Doç. Dr. Sema BOLKENT
Doç. Dr. Ayhan DEVİREN
Doç. Dr. İlhan ONARAN
Doç. Dr. Mehmet GÜVEN



**X. ULUSAL
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ**



BİLİMSEL PROGRAM

6 - EYLÜL 2007 Perşembe

**ARAŞTIRMA YÖNTEM BİLİMİ VE BİYOİSTATİSTİK DEĞERLENDİRMENİN
TEMEL İLKELERİ UYGULAMALI KURSU**

09:00 - 12:00 **Prof. Dr. Mustafa Şenocak** (İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi)
Araştırma yöntem bilimi için genel yaklaşımlar
Dr. Necdet Süt (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi)
Bioistatistik değerlendirmenin temel ilkeleri
Prof. Dr. Ahmet Dirican (İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi)
Genetik veri analizinde biyoistatistiksel yöntemler
ETKİLEŞİMLİ ÖRNEK UYGULAMASI

09:00 - 14:00 KAYIT

14:00 - 15:00 **Kongre Açılışı**

15:00 - 15:45 **Konferans**

Oturum Başkanları: **Mahmut Çarın, Turgut Ulutin**
Arnold J. Levine, (Cancer Institute of New Jersey, ABD)
"Single Nucleotide Polymorphisms in the p53 pathway:
Their impact upon cancers and fecundity in woman"

15:45 - 16:00 **Kahve Arası**

16:00 - 17:30 **Panel (Kanser Moleküler Biyolojisi)**

Moderatör **Şükriye Ayter**
Şükriye Ayter (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi)
Karsinogenezde yeni görüşler
Ünal Egeli (Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi)
Kanser moleküler mekanizması ve genetik yatkınlık
Neşe Atabey (9 Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi)
Kanserde hedeflenmiş tedaviler

17:30 - 17:45 **Kahve Arası**

17:45 - 18:15 **Konferans**

Oturum Başkanları: **Ayşe Başaran, Fatma Savran**
Tevfik Dorak (University of Newcastle, İngiltere)
HLA kompleksindeki non-HLA genler ile kanser ilişkisi

18:20 - 18:40 **Oturum Oturum Başkanları: Adnan Menevşe, Filiz Aydın**
Sibel Berker Karaüzüm (Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi)
Hematolojik malignitelerde genetik yaklaşım

18:40 - 19:00 **İzzet Yelkovan** (Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi)
Sitoiskelet sistemi ve kanser ilişkisi

20:00 - **Açılış Kokteyli (MEDİSA LTD. KATKILARIYLA)**



X. ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ



7 - EYLÜL 2007 Cuma

- 8:30 - 10:00 **Panel (Gen Teknolojileri) Moderatör Hüseyin Bağcı**
Aslı Silahtaroglu
(Wilhelm Johannsen Centre for Functional Genome Research, Danimarka)
Gelişim, hastalık ve tedavide mikroRNA'lar
Salih Şanlıoğlu (Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi)
Adenovirus aracılı hTRAIL transferinin prostat kanserinde tedavi etkinliğini belirleyen faktörler ve klinik gen tedavisi Faz 1 denemelerine geçiş
Lale Şatıroğlu Tufan (Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi)
Hücre dışı serbest DNA ve moleküler tanıdaki uygulamaları
- 10:00 - 10:30 **Kahve Arası**
- 10:30 - 11:15 **Konferans Oturum Başkanları: Turgay İsbir, Müjgan Cengiz**
Figen Zihnioğlu (Ege Üniversitesi Tıp fakültesi)
Proteomics: A bird's eye view
- 11:15 - 12:00 **Konferans Oturum Başkanları: Gönül Kanıgür, Güven Lüleci**
Beyazıt Çirakoğlu (Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi)
Hastalıkların moleküler temeli ve tedavisi
- 12:00 - 13:30 **Öğle Yemeği**
- 12:30 - 13:30 **Poster Oturumu Oturum Başkanları: Nuray Altıntaş, İlhan Onaran**
- 12:30 - 13:30 **Teknik Oturum ROCHE Diagnostic- Real Time PCR**
LighCycler 480'de High Resolution Melting Curve Uygulamaları
Introduction to Melting Curve Analysis - **Uğur Özbek**
High Resolution Melting for Genomic Variation Research on LigtCycler 480 **Michael Hoffmann**
Methylation Sensitive Higt Resolution Melting for Detection of Methylation in Research and Diagnostic Settings **Tomasz Wojdacz**
- 13.30 - 14:15 **Konferans Oturum Başkanları: Turgay Budak, Hasan Veyisi Güneş (SALON I)**
Uğur Sezerman
(Sabancı Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi)
Hastalıkların tanı ve tedavisinde bilgisayara dayalı yaklaşımlar
- 14:15 - 14:35 **Funda Pala** (Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi) (SALON I)
Radyasyon sitogenetiği yöntemi ile doz değerlendirmesi
- 14:35 - 14:50 **Kahve Arası**
- 14:50 - 16:30 **Serbest Bildiriler (SALON I)**
Oturum Başkanları: **Çetin Algüneş, Mehmet Güven**
- 13:30 - 14:15 **Konferans Oturum Başkanları: Mehmet Gürtekin, Nursel Elçioğlu (SALON II)**
Güler Temizkan
RNAi Mekanizması ve uygulama alanları
- 14:15 - 14:35 **Nursel Elçioğlu** (Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi) (SALON II)
Erken yaşlanma hastalıklarının moleküler temelleri
- 14:35 - 14:50 **Kahve Arası**
- 14:50 - 16:30 **Serbest Bildiriler (SALON II)**
Oturum Başkanları: **Sema Bolkent, Davut Alptekin**
- 17:00 **Sosyal Program**



X. ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ



8 - EYLÜL 2007 Cumartesi

- 8:30 - 10:00 Panel (Hücre moleküler biyolojisi)**
Moderatör **Ayşe Özer**
Kaya Emerk (Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi)
Yeni bir organ; Endotel
Arzu Karabay (İTÜ Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü)
Mikrotübül ilişkili proteinler ve nörodejenerasyon
Devrim Gözüaçık
(Sabancı Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi i)
Ölümlerden ölüm beğen: Otofajik hücre ölümü mü, Apoptoz mu?
- 10:00 - 10:15 Kahve Arası**
- 10:15 - 11:00 Konferans**
Oturma Başkaları: **Ahmet Arslan, Selma Yilmazer**
R.G.Parton
(Institute of Molecular Bioscience, University of Queensland, Avustralya)
A novel role for caveolin in lipid regulation and liver regeneration
- 11:00 - 11:40 Konferans**
Oturma Başkaları: **Melek Öztürk, Asuman Sunguroğlu**
Hüseyin Mehmet (Imperial College London, İngiltere)
Stress activated protein kinases and neonatal brain injury
- 11:40 - 12:00 Engin Ulukaya** (Uludağ Üniversitesi Tıp fakültesi)
Yeni bir apoptoz belirteci olan M30 antijeninin biyolojik ve sağlık bilimlerindeki önemi
- 12:00 - 12:30 Orphanet-INSERM SC11 Uydu Sempozyumu**
Valérie Thibaud
The database and services dedicated to the rare diseases Community
- 12:30 - 13:00 Öğle Yemeği**
- 13:00 - 15:00 Poster Oturumu**
Oturma Başkanları: **Gülseren Bağcı, Ayhan Deviren**
SALON I
- 15:00 - 16:45 Panel (Hastalıklara Moleküler Yaklaşım)**
Moderatör **Asım Cenani**
Emin Erdal (Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi)
Nöropsikiyatrik hastalıklara genetik yatkınlık
Ersan Kalay (Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi)
Nonsendromik işitme bozuklukları ve Türk toplumunda otozomal resesif nonsendromik işitme bozukluklarının genetik etiyolojisi
Adnan Yüksel (İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi)
Klinik tanıdan moleküllere: Joubert sendromu'nun öyküsü
Sarper Diler (İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi)
KIR reseptörleri ve hastalık etiyopatogenezlerindeki rolü
Belgin Süssleyici (Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi)
Kardiyovasküler hastalıklara genetik yaklaşım
- 16:45 - 17:15 Kahve Arası**



X. ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ



8 - EYLÜL 2007 Cumartesi

17:15 - 17:45 **Konferans**

Oturum Başkanları: **Hamiyet Dönmez Altıntaş, Seniha Hacıhanefioğlu**

Tuncay Altuğ (İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi)

Tıbbi biyolojik terimlerin mitolojik kökenleri

Oturum Oturum Başkanları: **Hasan Bağcı, Osman Demirhan**

17:50 - 18:10 **İbrahim Pirim** (Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi)

HLA-B27 alleli taşıyan ve taşımayan Behçet Hastalığında SCE sıklığının değişimi

18:10 - 18:30 **Oğuz Altınöz** (9 Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi)

Nöroblastik tümörlerde genetik parametreler ve klinik anlamı

18:30 - 18:50 **Mustafa Akkiprik** (Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi)

IGF-bağlayıcı protein ailesi ve meme kanseri

SALON II

15:00 - 15:45 **Konferans Oturum Başkanları: Turgut Ulutin, Tuncay Altuğ**

Nermin Gözükırmızı (İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji Bölümü)

Genetik olarak değiştirilmiş organizmalar, yasalar ve yurdumuzdaki uygulamalar

15:45 - 16:05 **Hüseyin Sönmez** (İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi) Nitrik Oksit ve Endotelial Disfonksiyon

16:05 - 16:25 **Ergun Pınarbaşı** (Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi) Moleküler evrim

16:25 - 16:40 **Kahve Arası**

16:40 - 18:15 **Serbest Bildiriler**

Oturum Başkanları: **Ecir Ali Çakmak, İrfan Değirmenci**

20:00 **Gala Yemeği, (GENOMED A.Ş. KATKILARIYLA)**

Prof Dr Altan Günalp Ödül Töreni

9 - EYLÜL 2007 Pazar

8:30 - 10:00 **Panel (Biyonanoteknoloji)**

Oturum Başkanları: **Mehmet Sarıkaya, Candan Tamerler**

Candan Tamerler (İstanbul Teknik Üniversitesi)

Genetik olarak tasarlanmış peptidlerin tıpta kullanımı

Mehmet Sarıkaya (ABD)

Bionanotechnology through biology

10:00 - 10:30 **Konferans**

Oturum Başkanı: **Meral Özgüç, Pervin Dinçer**

Burçak CULLU (TÜBİTAK)

Bilim ve Toplum

10:30 - 10:45 **Kahve Arası**

10:45 - 12:15 **Panel (Tıbbi Biyoloji Eğitimi)**

Moderatör: **Selma Yılmaz**

Konuşmacılar; **Ahmet Çolak**

Mustafa Solak

Meral Sakızlı

Ayşe Özer

Mehmet Gürtekin

Ahmet Karagüzel

12:15 - 13:00 **Kapanış ve dilekler**

KONUŞMA METİNLERİ

KLİNİK TANIDA MOLEKÜLERE: JOUBERT SENDROMUN ÖYKÜSÜ

Prof. Dr. ADNAN YÜKSEL

İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik ABD

Joubert sendromu, spesifik arka beyin malformasyonu ile karakterize nadir görülen otozomal resesif bir hastalıktır. İlk kez 1969 yılında 4 kardeşte Joubert tarafından tanımlanan sendrom, klinik ve genetik heterojenite gösteren kompleks bir hastalıktır. Serebral MRG'de serebellar vermis hipoplazisi ve beyin sapı malformasyonunun sonucu olarak ortaya çıkan molar diş görüntüsü Joubert sendromu ve ilgili hastalıklar için tipik bir bulgudur. Hipotoni, gelişim geriliği, ataksi, düzensiz solunum paterni ve anormal göz hareketleri tanıyı destekleyen en önemli bulgularıdır. Ayrıca Joubert sendromu ile ilgili hastalıklar grubunda, polidaktili, iris klobomu, dil tümörü, retina distrofisi, kistik böbrek hastalığı, nefronofitisis, karaciğer fibrosisi, polimikrogyri ve oksipital ensefolosel gibi ilave bozukluklar tanımlanmıştır. Sendromun karakteristik yüz bulguları arasında belirgin alın, belirgin kaşlar, epikantus, ptosis, yukarı kıvrık brun ucu, ağız açıklığı, düşük kulaklar sayılabilir. Tipik Molar diş görüntüsünün mevcut olduğu klasik Joubert sendromu dışındaki ilgili hastalıklar arasında Dekaban Arima sendromu, COACH sendromu, Varadi-Papp sendromu, Cogan sendromu Senior-Loken sendromu yer almaktadır. Bu hastalıkların henüz tam olarak genotip-fenotip ilişkisi kurulamamıştır.

Bazı hastalarda saptanan yapısal kromozom anomalilerinin araştırılması ve 1999 yılında başlayan bağlantı çalışmaları sonucu günümüze kadar klasik Joubert sendromu ve ilgili hastalıklarda Nefronofitisis 1 geni (NPHP1), Abelson Helper-Integration site 1 geni (AH1), Centrosomal Protein, 290 kDa geni (CEP 290), TMEM67 geni bulunmuş ve bu genlerde çeşitli mutasyon saptanmıştır. NPHP1 geni 2q13'de lokalizedir. 30 ekzonlu gen fonksiyonu bilinmeyen diğer bir gen ile aynı lokalizasyonda bulunmaktadır. AH1 geni 6q23.3'de lokalizedir. 28 ekzonlu gen Jouberin adında bir protein kodlamaktadır. CEP 290 geni 12q23.3'de lokalizedir. Gen 55 ekzondan oluşmaktadır. Ayrıca bağlantı çalışmaları ile Joubert sendromu ile ilgili 9q34.3 ve 11p12-11q13.3'de lokalize, henüz saptanamamış genlerin olduğu saptanmıştır.

İnsidansı yaklaşık 100 000'de bir civarındadır, hastalığın penetransı %100'dür, otozomal resesif bir hastalık olduğu için hastanın kardeşindeki taşıyıcılık oranı 2/3, toplumdaki taşıyıcılık oranı ise 1/160'dır. Prenatal tanıda gen mutasyonu dışında ilk trimesterde polidaktili, renal kistler, ensefolosel gibi major sinir sistemi anomalisinin saptanması, 18 haftadan itibaren serebellar vermis hipoplazisi, 27. haftadan itibaren de molar diş bulgusu araştırılmalıdır.

Yapılacak çalışmalar ile Joubert sendromuna neden olan genlerin sentromer, primer sili ve bazal cisimciklerin fonksiyonları üzerine etkileri ve sendromda görülen serebellar, renal ve okuler gelişimdeki bozuklukların patogenezi açıklanacaktır.

Güven G.S. Fenerci EY, Deviren A., Özkılıç A., YUKSELA., Hacıhanefioğlu S.

Joubert Syndrome co-existing with partial xpt trisomy: Review of the literature.

Genet Couns 2004; 15 (3): 321-8

CEP290 Mutations Are Frequently Identified in the Oculo-Renal Form of Joubert Syndrome-Related Disorders.

Am J Hum Genet. 2007 Jul;81(1):104-13. Epub 2007 May 18. CEP290 Mutations Are Frequently Identified in the Oculo-Renal Form of Joubert Syndrome-Related Disorders. Am J Hum Genet. 2007 Jul;81(1):104-13. Epub 2007 May 18. CEP290 Mutations Are Frequently Identified in the Oculo-Renal Form of Joubert Syndrome-Related Disorders. Am J Hum Genet. 2007 Jul;81(1):104-13. Epub 2007 May 18.

We report a five-year-old girl who has been clinically diagnosed as Joubert syndrome. Her cytogenetic analysis showed 46,XX,der(2)add(2q37) karyotype. Cytogenetic analysis of her mother and maternal grandmother revealed a karyogram designated as 46,X,t(X;2)(p11.2;q37). The proband's derivative chromosome was further confirmed to be a translocation chromosome 2 carrying segments from chromosome X, which originated from a segregation event of the maternal grandmother's balanced translocation passed on as a balanced translocation to the proband's mother either. So far, a number of candidate genes including EN1 on 2q were analyzed for Joubert syndrome. Based on our proband's abnormal karyotype, we suggest that further mapping studies for the syndrome should also be directed towards the chromosome X segments present on the derivative chromosome 2 of our proband

KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLARA GENETİK YAKLAŞIM

Doç. Dr. BELGİN SÜSLEYİCİ DUMAN

İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD - İSTANBUL

20. yüzyıl başlarında kalp ve damar hastalıkları dünya genelinde, ölümlerin %10'undan sorumluyken, 21. yüzyıl başlarında gelişmiş ülkelerde ölümlerin neredeyse yarısına, gelişmekte olan ülkelere ise %25'ine sebep olmaktadır. Dünya genelinde kalp ve damar hastalıklarının sakatlık ve ölümlerin en önemli nedeni olduğu bildirilmektedir. Kalp damar hastalıkları; koroner kalp hastalıkları, inme, hipertansif hastalıklar, aritmiler, konjestif kalp yetersizliği, konjenital kalp hastalıkları ve romatizmal kalp hastalıkları gibi kalbin ve kan damarlarının tüm hastalıklarını içerir.

Kalp ve damar hastalıklarına karşı risk etmenleri, değiştirebilen ve değiştirilemeyen faktörler olarak hastalıklara yatkınlığı etkilemektedir. Sigara koroner arter hastalığı için düzeltilebilen en önemli risk faktörüdür. İçilen sigara miktarıyla kalp damar hastalıkları arasında doğrudan bir ilişki vardır. Sigara dumanına pasif olarak maruz kalmak koroner dolaşımda endotel disfonksiyonuna neden olmaktadır. İçilen sigara veya maruz kalınan sigara dumanına karşı vücudumuzda antioksidasyon ve detoksifikasyon aktiviteleri gerçekleşmektedir. Bu aktiviteler ile ilgili kapasiteler ise kişiden kişiye farklılık göstermektedir. Genetik yapımızda, antioksidasyon ve detoksifikasyon süreçlerinden sorumlu genler, bu süreçlerin nasıl işleyeceğinin şifrelerini taşımaktadır. GSTM1, GSTT1, GSTP1, MnSOD ve eNOS genleri vücudun gerek sigaradan kaynaklanan toksinlere gerekse maruz kalınan diğer toksik maddelere karşı savunma kapasitesini belirler. Hipertansiyon, ülkemizde bireylerin yaklaşık %32'sinde görülmekte ve inme açısından birinci derece risk faktörünü oluşturmaktadır. Damar fonksiyonları ve kan basıncının düzenlenmesinde rol alan en önemli genler; eNOS ve ACE'dir. Kolesterol ile ateroskleroz arasındaki ilişki iyi bilinmektedir. Son 20 yılda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir ki kolesterol düşürücü girişimler kardiyovasküler mortalite ve morbiditeyi azaltmaktadır. Özellikle HDL-kolesterolün düşük olması, LDL-kolesterolün ve trigliseridlerin yüksek olması önemli risk faktörleridir. HDL ve LDL kolesterol ile trigliserid düzeylerini APOC3, CETP, ve LPL genleri etkilemektedir. Ateroskleroz ve diyabet gelişimi ortak bir inflamatuvar süreç üzerinden gerçekleşmektedir. Diyabetli hastaların kardiyovasküler hastalıklara yakalanma riski, diyabetik olmayanlara göre 5 kat artmıştır. Diyabetik hastaların ana arterlerinde ve kılcal damar dolaşımında ateroskleroz gelişimi artmıştır ve bu hastalarda ölümlerin %75'i koroner arter hastalığı (KAH) sebebiyle olmaktadır. Daha da çarpıcı olarak kalp ve damar hastalık riskinin diyabetin klinik olarak ortaya çıkışından çok önceleri arttığı gösterilmiştir. Diyabetik hastalarda inme ve periferik damar hastalığı görülme sıklıkları da anlamlı derecede artmıştır. Yaşam kalitesini çok düşüren ve sonuçları yıkıcı olan bu hastalıklara olan yatkınlığın değerlendirilmesinde, inflamatuvar cevabın düzenlenmesiyle ilgili olarak; IL-6, TNF-alfa, GSTM1, GSTT1, GSTP1 ve MnSOD genleri, inflamasyon süreçleri ile ilgili bilgiler vermekte, tip 2 diyabete olan genetik yatkınlık ise PPARG γ 2, ACE, VDR, IL-6 ve TNF-alfa genlerinin analizi sonucunda belirlenmektedir. Ayrıca MTHFR, MS-MTRR, MTR, CBS, MnSOD, IL-6, TNF-alfa, APOC3, CETP, LPL, eNOS, ACE genleri analiz edilerek, kalp damar ve beyin damar sağlığı ile ilgili yatkınlıklar belirlenebilir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda fazla kilolu bireylerde mortalitenin daha yüksek olduğu ve ölüm nedeni olarak da kalp damar

hastalıkları ile ilgili komplikasyonların ilk sırada geldiği ortaya çıkmıştır. Obezite inme riskini de arttırmaktadır ve kalp damar sağlığı ile ilgili komplikasyonların esas sorumlusu karın bölgesindeki yağlanmadır. Düzenli egzersiz miyokardın oksijen gereksinimini azaltır ve egzersiz kapasitesini artırır. Egzersizin kalbi koruyucu etki gösterdiği ve bunu da, yağlanmayı, diyabet eğilimini, kan basıncını azaltarak, damar inflamasyonu ve kandaki yağ seviyelerinin korunmasına olumlu katkılar yaparak gerçekleştirdiği bilinmektedir. Plazma homosistein seviyeleri yüksek olan hastalarda belirgin ateroskleroz riski olduğu gösterilmiştir. B vitaminlerinin önemli rol oynadığı 'tek karbon metabolizması' adı verilen bir biyolojik süreçteki aksaklıklar, bu sürecin bir yan ürünü olan homosisteinin kanda yükselmesine neden olabilmektedir. Kan homosistein düzeylerini etkileyen ve bu metabolizmada görev alan genler, MTHFR, MS-MTRR, MTR ve CBS'dir. Bu genlerdeki bazı özellikler homosistein düzeylerini olumsuz etkilemekle beraber, genetik yapıya uygun optimum düzeyde B vitamini alımıyla homosistein düzeyleri kontrol altına alınabilir.

Kalp ve damar hastalıklarında değiştirilemeyen faktörlerden olan genler ise hastalık yapıcı (disease-causing), yatkınlık (susceptibility) ve hastalıkla ilişkili (disease-linked) olmak üzere üç kategoride gruplandırılabilir. Hastalık yapıcı genler mutasyona uğradıklarında hastalığın patogenezinin sorumludur. Bu durumda mutasyonlar hastalığın temel sebebi olarak kabul edilir. Örneğin KCNQ1 ve KCNH2 gibi potasyum kanal gen mutasyonları uzun QT sendromuna sebep olurken, kardiyak sodyum kanal geni SCN5A mutasyonları Brugada Sendromuna neden olur. Yatkınlık genleri ise hastalığın oluşma riskini arttıran yada azaltan genler olup hastalığa yol açıp açmayacakları diğer genetik ve çevresel şartlara bağlı olarak değişebilir. Yatkınlık genlerinin mutasyon ya da tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) hem normal hemde hastalığı taşıyan popülasyonlarda görülebilir, ancak allel sıklıkları iki popülasyon arasında farklılık gösterir. Yatkınlık genlerinin kişi bazında hastalığın prognozu ile ilgili verdiği bilgi yetersizdir. Hastalıkla ilişkili genler moleküler biyolojik, mikroarray, yada proteomik analizler ile hastalıkla bağlantılı olup, hastalıkla ilişkisi olup olmadığı kesin değildir. Bazı hastalıkla ilişkili genler hastalık için biyolojik belirteç olarak rol alabilir.

HASTALIK YAPICI GENLER

Koroner arter hastalığı için risk faktörü olan lipid metabolizma hastalıkları

Hastalık yapıcı genler ailesel hiperkolesterolemi ve Tangier hastalığı gibi prematür ateroskleroz ve KAH riskini arttıran hastalıklarda tespit edilmiştir. Plazma kolesterol düzeylerinin yükselmesi ile karakterize olan hiperkolesterolemi, LDL-reseptör (LDLR) geni, apoB-100 geni, proprotein konvertaz subtilisin/kexin-tip 9 geni (PCSK9), kolesterol 7- α -hidroksilaz geni (CYP7A1) ve ARH geni mutasyonları ile ortaya çıkabilir. Plazmada HDL-kolesterol yokluğu ve retikuloendotelial sistemde kolesterol ester birikimi ile karakterize edilir Tangier hastalığı ise ABCA1 gen mutasyonu ile oluşur.

Koroner arter hastalığı ve miyokard infarktüsü

MEF2 transkripsiyon faktör ailesinin bir üyesi olan MEF2A geni KAH ve miyokard infarktüsüne (Mİ) yol açan tek gendir (1,2). MEF2A geninin 11. eksonunda 21bç'lik bir delesyon etkilenmiş tüm bireylerde bulunurken, normal fenotipli ve yada normal anjiyogramlı bireylerde saptanmamıştır. Fonksiyonel çalışmalar 21 bç'lik delesyonun MEF2A'nın transkripsiyonel aktivasyonunu negatif-dominant mekanizma ile bozduğunu göstermiştir. Daha sonraki yıllarda MEF2A geninin 7. eksonunda 3 yeni mutasyon daha tespit edilmiştir. Ekson 7'de tespit

edilen mutasyonların transkripsiyonel aktiviteyi fonksiyon kaybı ile düşürdüğü ve KAH'lığının daha hafif formuna yol açtıkları saptanmıştır. MEF2A antikoru ile yapılan immünboyamalar MEF2A proteininin endotelde yüksek oranda eksprese edildiğini göstermiştir (3). Endotel koroner arterleri koruyucu rol üstlenmiştir. Monositlerin endotele adezyonu ile gerçekleşen inflamasyon KAH patogenezinde önemli olup, defektif yada anormal gelişimli bir vasküler endotel inflamasyona yatkınlığından dolayı aterosklerotik plak geliştirecek ve tromboz, Mİ, ani ölüm oluşturmaktadır.

YATKINLIK GENLERİ

Koroner arter hastalığı ve miyokard infarktüsü

Mİ veya KAH' ığı ile fizyolojik ilişkisi bulunan birçok aday gene ait SNP, hastalıkların oluşma riskinin azalması yada artması ile ilişkili bulunmuştur. KAH ve Mİ için pek çok yatkınlık geni tanımlanmıştır (4,5). Ancak yanlış pozitif sonuçların önlenmesi amacıyla bu çalışmaların validasyon ve tekrarları gerekmektedir.

Transkripsiyonel faktör geni USF1 ve ailesel hiperlipidemi

KAH'larının yaklaşık %29'sinde yükselmiş serum total-kolesterol ve trigliserid düzeyleri ile karakterize olan ailesel hiperlipidemi mevcuttur. Ailesel hiperlipidemi lokusu 1q21-23'e haritalanmıştır (6). USF geni glikoz ve lipid metabolizmasında yer alan ABCA1, apolipoprotein CIII, AII ve E genlerini düzenler. USF1 genine ait iki adet SNP ailesel hiperlipidemi ile ilişkili bulunmuştur (7).

Sitokin geni lenfotoksin-a ve miyokard infarktüsü

Tüm genomu içeren bir ilişkilendirme çalışması için 50.000-100.000 SNP'in genomu taramaya yeterli olacak şekilde KAH ve Mİ gibi kompleks hastalıkların aday genlerini belirlemeye yeteceği tahmin edilmektedir (8). KAH ve Mİ için tüm genomu kapsayan ilk çalışma 92788 gen bazlı SNP kullanarak 94 adet Japon hastada gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel anlamlı olarak pozitif bulunan SNP'ler 1133 Mİ ve 1006 kontrol kişide genotip analizine tabii tutulmuştur. Lenfotoksin-a (LTA) genine ait üç adet SNP (ekson 1 10G/A, intron 1 252A/G, ekson 3 p.Thr26Asn) homozigot olmaları halinde yüksek oranda Mİ riski ile ilişkili bulunmuştur (9). Lenfotoksin-a immün cevaplar ve inflamasyona aracılık eden bir sitokindir. İntron 1'de bulunan SNP 252A/G LTA ekspresyonunu 1.5 kat arttırmaktadır. Ekson 3'de bulunan Thr26Asn ise adezyon molekülleri ve sitokinlerin (vasküler hücre adezyon molekülü-1, intersellüler adezyon molekülü-1, tümör nekroz faktör, interlökin-1A, interlökin-1B ve selektin E) ekspresyonunu iki kat artırır (9). Alman toplumunda ise 2562A/G SNP'i ile KAH yada Mİ ile ilişki bulunmamıştır (10,11).

Lenfotoksin-a düzenleyici gen LGALS2 ve miyokard infarktüsü

LGALS2 geni tarafından kodlanan galektin-2, galaktoza bağlanan lektin ailesinin bir üyesi olup LTA'ya bağlanarak salınımını düzenler. LGALS2'ye ait 3279C/T SNP'i Mİ ile ilişkili bulunmuştur. Şöyleki minör allel Mİ' ne karşı koruyucu role sahiptir. Fonksiyonel çalışmalar minör T allelinin LGALS2 ekspresyonunu %50 oranında düşürdüğünü göstermiştir. Galektin-2'nin azalmış ekspresyonunun ise LTA'nın ekstrasellüler düzeyini düşürerek inflamasyon miktarında ve Mİ riskinde azalmaya yol açtığı saptanmıştır. Ancak bu sonuçların tekrarlanması gerekmektedir.

ALOX5AP geni Mİ ve inme

296 İzlandalı ailede gerçekleştirilen bağlantı analizi çalışması Mİ lokusunu kadınlarda 13q12-13 olarak saptamıştır. ALOX5AP geni 5-lipooksijenaz-aktive edici proteini (FLAP) kodlar ve Mİ

için aday genlerden biridir. FLAP lökotrienlerin üretimine aracılık eden bir enzimdir. ALOX5AP genine ait 4 adet SNP haplotipinin Mİ ve inme ile ilişkili olduğu saptanmıştır (12). Eldeki veriler 5-lipooksijenaz yolunun KAH ve Mİ riskinin artırılmasında önemli rolü olduğunu göstermektedir. Ancak ALOX5AP çalışmasında data kadınlar için ayrı değerlendirildiğinde Mİ ile ilişkisinin anlamlılığının düştüğü ve analiz edilen haplotip sayısı için düzeltildiğinde Mİ ile ilişkisinin anlamsız hale dönüşmesi kadınlarda Mİ riskini arttıran bir başka genin varlığını düşündürür.

Fosfodiesteraz 4D geni ve inme

İzlandalı popülasyonunda yapılan bağlantı analizinde inme ile ilgili lokus 5q12'ye haritalanmıştır (13). Bu lokusta yer alan aday gen PDE4D olarak belirlenmiş olup fosfodiesteraz 4D'yi kodlar (14). PDE4D'nin kombine karotid ve kardiyojenik inmelerdeki rolü belirlenmiş ancak iskemik inmedeki fonksiyonu kesinleşmemiştir. Mİ için 1p ve 14q'da, KAH için ise 2q, 3q, 16p ve Xq'da hastalıkla bağlantı gösteren lokuslar saptanmıştır, ancak spesifik genler halen araştırılmaktadır.

HASTALIKLA İLİŞKİLİ GENLER

Koroner arter hastalığı ve miyokard infarktüsü

Yeni genomik ve proteomik yaklaşımlar KAH ve Mİ ile ilişkili genleri belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. Mikroarray analizi KAH olan ve olmayan dokulardaki binlerce genin aynı anda ekspresyon analizini mümkün kılmaktadır. 49 adet genin ekspresyonu KAH ile bağlantılı bulunmuştur. Bu genler intersellüler adezyon molekülü-2, PIM2, ECGF1, fusin, B-hücre aktivatörü (BL34, GOS8), RhoGTPaz aktive edici protein-4, retinoik asit reseptör cevaplayıcı, β2-arrestin, ve diğerleridir (15). Ferritin hafif zincir gen ekspresyonunun hastalıklı koroner arterlerde iki kat arttığı saptanmıştır. Bu nedenle fazla demir yüklemenin KAH riskini artırdığı söylenebilir.

Koroner arter hastalığı, obezite, hipertansiyon ve metabolik sendromda bazı çalışmalarımız

Biz KAH nedeniyle koroner baypas operasyonu olmak üzere müracaat etmiş yaş, cinsiyet yönünden eşleştirilmiş metabolik sendrom vakalarında ve koroner arter hastalığı, metabolik sendromu olmayan kalp kapağı hastalığı nedeniyle kalp kapağı değişmek üzere açık kalp cerrahisi için müracaat eden kontrol vakalarında ameliyat sırasında alınan assendan aorta ve epikardiyal yağ dokularında 11-betahidroksisteroid dehidrogenaz tip 1 (11-HSD-1), glikokortikoid reseptör (GcR), yağ asidi bağlayıcı protein-4 (FABP-4), açılasyon stimüle edici protein (ASP) ve kompleman C3 (C3)' ün kantitatif ekspresyonlarını incelediğimiz çalışmamızda, assendan aorta'yı açık kalp cerrahisi başlangıcındaki kardiyopulmoner bypass sırasında kanülasyonla, epikardiyal yağ dokusunda operasyon sırasında biyopsi yöntemiyle aldık. Sonuçlarımız, epikardiyal yağ dokusu tarafından üretilen ASP'nin KAH belirleyicilerinden biri olabileceğini ve epikardiyal yağ dokusunun metabolik sendromda plazma glikozu ve sistolik kan basıncını yükselterek kardiyovasküler olaylara yol açabileceğini göstermiştir (16). Epikardiyal yağ dokusunda C3 mRNA ekspresyonun geçirilmiş Mİ ile negatif korelasyon göstermesi bize C3'ün belki de Mİ geçirenlerde antiaterojenik rolü olduğunu kanıtlamaktadır (16). GcR assendan aortada santral obeziteden sorumlu bulurken, epikardiyal yağ dokusunda KAH ve karotis arter hastalığıyla ilişkili bulundu (17). Metabolik sendromlu hastalarda 11βHSD nin düşük HDL ve abdominal obeziteden sorumlu olduğu saptandı (18). Epikardiyal yağ

dokusu ve aortadaki FABP4, BMI ve geçirilmiş Mİ ile korele bulundu. FABP4 metabolik sendromlu hastalarda santral obeziteden sorumlu bulunurken, FABP4 ekspresyonunun metabolik sendromda KAH yada akut Mİ ile hiç bir ilişkisi saptanmadı (19).

Diğer bazı çalışmalarımızda ise; lipoprotein lipaz, apolipoprotein B, MTHFR, ABCA1, GPIIIa, eNOS, ACE, angiotensinjen ve resistin genotipleri ve ilgili allellerin KAH, hipertansiyon ve obezitede önemli rolleri olduğunu gösterdik (20-23). Çalışmalarımıza ait bulgular 10. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresinde anlatılacaktır.

Kompleks kardiyovasküler hastalıkların uzun dönem tedavilerinde başarılı farmakolojik tedavi yöntemlerinin eksikliğinden dolayı, son zamanlarda vasküler gen transfer çalışmalarına hız verilmiştir. Her gen tedavisi yöntemi için farklı vektör sistemleri ve dağıtım teknolojileri geliştirilmiştir. Vasküler yapıya 4 farklı sistemde terapötik genler verilmektedir; damar duvarına ex-vivo gen transferi, hücre-bazlı gen dağıtım sistemi, sistemik ve lokal dağıtım yaklaşımları. Özellikle vektör teknolojilerinin gelişmesi ve yeni gen tedavisi stratejileri ile iskemik miyokard ve 'ekstremiteler kasları için terapötik anjiyogenez, hipertansiyon tedavisi, vasküler baypas oklüzyon tedavisi, postanjiyoplasti restenozundan korunma alanlarında büyük gelişmeler izlenmiştir. Kardiyovasküler hastalıklarda gen tedavisi, aterosklerozda antiaterojenik (LCAT, apo A1, apoE), ven greft yetersizliği, iskemik ve trombözde gen ürünlerinin üretimi ile (vasküler endotelial büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü, antitrombotik ajanlar, hem oksijenaz), ven greft yetersizliğinde düz kas hücre göçünü ve proliferasyonunu engelleyerek (p53, TIMP, p21), anjiyoplasti veya stent uygulanması sonrası restenozu engellemede (Tk), hipertansiyon tedavisinde (kallikrein, endotelin) kullanılmaktadır. Kardiyovasküler hastalıkların karmaşıklığına bağlı olarak hastalığın tedavisinde en iyi geni ortaya koymak oldukça zordur. Bu nedenle bu gibi hastalıkların tedavisinde tek gen yerine terapötik genlerin kokteyl şeklinde hazırlanıp verilmesi daha iyi sonuçlar ortaya koyacaktır. Kardiyovasküler klinikte gen tedavisinin gerçekçi olabilmesi için efektif terapötik genlerin ve uygun vektörlerin bulunması ve geliştirilmesi gerekmektedir. Gen tedavisi için ulusal veya bölgesel ölçekte araştırma merkezlerinin kurulması ve bu tür yeni tedavilerin bu merkezlerde uygulanması planlanmalıdır. Kardiyovasküler tıbbın çeşitli alanlarında kök hücrelerin kullanımı ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Bugün için henüz araştırma aşamasında olan bu tedavi yönteminin gelecekte umut vaat ettiği düşünülmektedir. Dünyada her 3 kişiden birinin ölümüne sebep ve ülkemizdeki ölümlerin birinci nedeni olan kalp damar ve beyin damar hastalıkları ile ilgili genetik yatkınlıklarımızı ve beslenme ve yaşam tarzımızdaki olumsuzlukları biran önce tespit etmek bizim için hayati önem taşımaktadır. Sonuç olarak, kalp damar ve beyin damar hastalıklarına karşı önlemlerimizi, bu hastalıklar ortaya çıkmadan alarak yaşantımızı genetik yatkınlıklarımızın verdiği bilgiler doğrultusunda şekillendirebiliriz.

Kaynaklar:

1. Bhagavatula MR, Fan C, Shen GQ, et al. Transcription factor MEF2A mutations in patients with coronary artery disease. *Hum Mol Genet* 2004;13:3181-3188
2. Wang Q, Rao S, Shen GQ, et al. Premature myocardial infarction novel susceptibility locus on chromosome 1P34-36 identified by genomewide linkage analysis. *Am J Hum Genet* 2004;74:262-271
3. Wang L, Fan C, Topol SE, et al. Mutation of MEF2A in an inherited disorder with features of coronary artery disease. *Science* 2003;302:1578-1581.
4. Shen G, Archacki SR, Wang Q. The molecular genetics of coronary artery disease and myocardial infarction. *Acute Coronary Syndrome* 2004;6:129-141.
5. Wang Q, Chen Q. Cardiovascular disease and congenital defects. *Nature Encyclopedia of Life Sciences* 2000;3:646-657.

6. Pajukanta P, Nuotio I, Terwilliger JD, et al. Linkage of familial combined hyperlipidaemia to chromosome 1q21-q23. *Nat Genet* 1998;18:369–373.
7. Pajukanta P, Lilja HE, Sinsheimer JS, et al. Familial combined hyperlipidemia is associated with upstream transcription factor 1 (USF1). *Nat Genet* 2004;36:371–376.
8. Freimer N, Sabatti C. The use of pedigree, sib-pair and association studies of common diseases for genetic mapping and epidemiology. *Nat Genet* 2004;36:1045–1051.
9. Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, et al. Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet* 2002;32:650–654.
10. Koch W, Kastrati A, Bottiger C, et al. Interleukin-10 and tumor necrosis factor gene polymorphisms and risk of coronary artery disease and myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2001;159:137–144.
11. Koch W, Tiroch K, von BN, et al. Tumor necrosis factor-alpha, lymphotoxin-alpha, and interleukin-10 gene polymorphisms and restenosis after coronary artery stenting. *Cytokine* 2003;24:161–171.
12. Helgadóttir A, Manolescu A, Thorleifsson G, et al. The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke. *Nat Genet* 2004;36:233–239.
13. Gretarsdóttir S, Sveinbjörnsdóttir S, Jonsson HH, et al. Localization of a susceptibility gene for common forms of stroke to 5q12. *Am J Hum Genet* 2002;70:593–603.
14. Gretarsdóttir S, Thorleifsson G, Reynisdóttir ST, et al. The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke. *Nat Genet* 2003;35:131–138.
15. Archacki SR, Angheloiu G, Tian XL, et al. Identification of new genes differentially expressed in coronary artery disease by expression profiling. *Physiol Genomics* 2003;15:65–74.
16. Súsleyici Duman B, Çiftçi Ç, Atalar F, Demirkan A, Vural B, Çağatay P, Günay D, Sagbaş E, Akpınar B, Özbek U, Büyükdevrim AS. Acylation stimulating protein and complement C3 mRNA expression in metabolic syndrome. *The FEBS Journal* 2006; 273 (Suppl 1):205.
17. Demirkan A, Atalar F, Vural B, Súsleyici Duman B, Çiftçi Ç, Çağatay P, Günay D, Sagbaş E, Akpınar B, Özbek U, Büyükdevrim AS. Quantitative expression analysis of glucocorticoid receptor (GcR) gene in metabolic syndrome. *The FEBS Journal* 2006; 273 (Suppl 1):204.
18. Atalar F, Vural B, Çiftçi Ç, Demirkan A, Súsleyici Duman B, Çağatay P, Günay D, Sagbaş E, Akpınar B, Özbek U, Büyükdevrim AS. 11 beta HSD type 1 is responsible for low HDL and abdominal obesity in metabolic syndrome patients. *The FEBS Journal* 2006; 273 (Suppl 1):203.
19. Vural B, Atalar F, Demirkan A, Çiftçi Ç, Súsleyici Duman B, Çağatay P, Günay D, Sagbaş E, Akpınar B, Özbek U, Büyükdevrim AS. The role of FAB4 gene expression in metabolic syndrome patients with previous myocardial infarction. *The FEBS Journal* 2006; 273 (Suppl 1):204.
20. Duman BS, Türkoğlu Ç, Akpınar B, Güden M, Vertii A, Dak E, Çağatay P, Günay D, Büyükdevrim AS. Lipoprotein Lipase Gene Polymorphism and Lipid Profile in Coronary Artery Disease. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128, 869-874.
21. Duman BS, Türkoğlu Ç, Akpınar B, Güden M, Vertii A, Çağatay P, Günay D, Büyükdevrim AS. Genetic variations of the apolipoprotein B gene in Turkish patients with coronary artery disease. *Ann Hum Biol* 2005; 32, 620-629.
22. Çağatay P, Súsleyici Duman B, Ciftci C. Lipoprotein lipase gene Pvull polymorphism serum lipids and risk for coronary artery disease: meta-analysis. *Dis Markers* 2007; 23:161-166.
23. Duman BS, Çağatay P, Hatemi H, Ozturk M. Association of Resistin Gene 3'-Untranslated Region EX4-44G-->A Polymorphism with Obesity- and Insulin-Related Phenotypes in Turkish Type 2 Diabetes Patients. *Rev Diabet Stud* 2007; 4, 49-55.

NONSENDROMİK İŞİTME BOZUKLUKLARI VE TÜRK TOPLUMUNDA OTOZOMAL RESESİF NONSEDROMİK İŞİTME BOZUKLUKLARININ GENETİK ETİYOLOJİSİ

Yrd. Doç. Dr. ERSAN KALAY

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

ersankalay@hotmail.com

İşitme bozuklukları, insanda en sık görülen kalıtsal sensörinöral bozukluktur. Kalıtsal olan işitme bozuklukları yaklaşık her 2000 kişiden birinde görülmektedir. Otozomal resesif nonsendromik işitme bozuklukları (ORNSİB) ise %70'lik bir oranla kalıtsal işitme bozukluklarının en yaygın formudur. Moleküler genetik yöntemlerdeki hızlı gelişmeler sayesinde ORNSİB ile ilgili yaklaşık 65 farklı lokus tanımlanmıştır ve bu lokuslardan 26'sindeki sorumlu gen gösterilmiştir (1-6).

Bizim çalışmamızda, Türkiye'de ORNSİB'lerinin genetik etiyolojisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, 1999-2000 eğitim-öğretim döneminde Ordu, Trabzon ve Rize illerindeki İşitme Engelliler Okullarına devam eden öğrenciler taranmıştır ve ORNSİB olan 95 aile çalışmaya dahil edildi.

Başlangıçta, her aileden yalnızca bir etkilenmiş birey üzerinden GJB2 geninde mutasyon taraması yapıldı. GJB2 geninde mutasyonu olmayan ve daha ileri seviyede çalışmaya katılmayı kabul eden 42 ile çalışmaya devam edildi ve öncelikle aday lokalizasyon yaklaşımı ile 26 ailede MYO15A, TMPRSS3, SLCA24, MYO7A genleri tarandı. Ardından 8 ailede mikrosatellit markırları ve 4 ailede 10k SNP array kullanılarak toplam 12 ailede genom taraması yapıldı.

Aday lokalizasyon yaklaşımı ile 3 ailede TMPRSS3 gen bölgesine, genom taramaları sonucunda ise 4 ailede, işitme kaybı ile ilişkisi daha önce gösterilmiş olan MYO15A (DFNB3), SANS (USH1G), TMC1 (DFNB7/11) ve PJKV (DFNB59) genlerinin bulunduğu bölgelere bağlantı gösterildi. Dizi analizi ile bu genlerdeki sorumlu mutasyonlar belirlendi. Ayrıca çalışmaya dahil edilen bütün aileler aday lokalizasyon yaklaşımı ile bu gen bölgeleri için tarandı ve 3 ailenin daha TMC1 genine, bir ailenin ise PJKV genine bağlantısı gösterildi ve sekans analizi ile bu ailelerdeki sorumlu mutasyonlar belirlendi.

Diğer taraftan, genom taraması sonucunda TR21 numaralı ailede, daha önce tanımlanmış olan ancak sorumlu genin bulunamadığı DFNB35 bölgesine bağlantı gösterildi. Örtüşen bölgede yer alan genlerde yapılan mutasyon taraması sonucunda ESRRB (Estrogen-Related Receptor Beta) geni üzerinde sorumlu mutasyon gösterildi. Böylece işitme kaybı ile ilişkili yeni bir gen daha tanımlanmış oldu. Bununla birlikte, DFNB35 bölgesinin ilk kez tanımlandığı Pakistan asıllı aile, iş birliği kapsamında çalışmaya dahil edildi ve bu ailedeki sorumlu mutasyon da aynı gen üzerinde gösterildi.

Genom taraması sonucunda TR57 ve TR77 ailelerinde sırasıyla 11q13.2-q13.4 (DFNB63) ve 6p21.3-p21.1 (DFNB67) bölgelerinde iki yeni lokus tanımlandı. TR77 ailesinin bağlantı gösterdiği 6p21.3-p21.1 bölgesinde yer alan LHFPL5 geninin orthologu olan lhfp15'in farelerde

işitme kaybı ile ilişkili olduğu gösterilmiş olduğu için (7) LHFPL5 aday gen olarak seçildi. Dizi analizi sonucunda LHFPL5 geninde sorumlu mutasyon gösterildi. Elimizdeki diğer ailelerde LHFPL5 geni dizi analizi ile tarandığında ikinci bir ailede daha işitme kaybından sorumlu mutasyonun aynı gen üzerinde olduğu gösterildi. TR57 ailesinde bağlantı gösterilen DFN63 lokusunda işitme kaybından sorumlu geni araştırma çalışmaları halen devam etmektedir.

Çalışmanın gelinen aşamasında elde edilen sonuçlara göre ailelerin %29,5'inde GJB2 (8), %4,2'sinde TMC1 (9), %3,2'sinde TMPRSS3 (10), %2,1'inde LHFPL5 (11), %2,1'inde PJKV (12), %1'inde MYO15A (13), %1'inde ESRRB mutasyonunun sorumlu olduğu (deriye gönderildi) gösterilmiştir ve bir ailede de yeni bir lokus (DFNB6) tanımlanmıştır (14). Diğer taraftan, başlangıçta nonsendromik olarak değerlendirilen iki ailede, tip I Usher sendromuna neden olduğu bilinen USH1G geninde, atipik Usher sendromuna neden olan yeni bir mutasyon gösterilmiştir (15). Ayrıca yine başlangıçta nonsendromik olarak sınıflandırılan iki ailede daha önce Pendred sendromundan sorumlu olduğu rapor edilmiş olan bir SLC26A4 mutasyonu belirlendi. Tekrar klinik değerlendirmeye alınan hastalarda Pendred sendromuna ait bulgular saptandı. Sonuç olarak, 7 yıllık çalışmamızın sonucunda otozomal resesif işitme bozukluğu olan 95 ailenin 46'sinde (%48), 9 farklı gende, 22 farklı mutasyon tanımlanmıştır. Ayrıca, ORNSİB ile ilişkili iki yeni gen ve bir yeni lokus tanımlanmıştır.

Bu çalışma; Karadeniz Teknik Üniversitesi Araştırma Fonu (Proje No: 20.114.001.12 ve 2002.114.001.3), European Commission FP6 Integrated Project EuroHear, (Proje No: LSHG-CT-20054-512063) ve EU project ARHI, (Proje No: QLRT-2001-00331) tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

1. Morton, N.E., 1991. Genetic epidemiology of hearing impairment. Ann. N.Y. Acad. Sci. 630, 16–31.
2. Marazita, M.L., Ploughman, L.M., Rawlings, B., Remington, E., Arnos, K.S., Nance, W.E.: Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the U.S. school-age population. Am. J. Med. Genet., 46: 486-91, 1993.
3. Gorlin, R.J., Toriello, H.V., Cohen, M.M., 1995. Hereditary Hearing Loss and its Syndromes: Genetic Hearing Loss With Associated Abnormalities. Oxford University Press, Oxford.
4. Mehl AL, Thomson V. 2002. The Colorado newborn hearing screening project, 1992-1999: on the threshold of effective population-based universal newborn hearing screening. Pediatrics 109:e7.
5. Mehl AL, Thomson V. 1998. Newborn hearing screening: the great omission. Pediatrics 101:e4.
6. Van Camp G, Smith RJH. Hereditary Hearing Loss Homepage. URL: <http://dnalab-www.uia.ac.be/dnalab/hhh/>, Last updated: February 16, 2006
7. Longo-Guess CM, Gagnon LH, Cook SA, Wu J, Zheng QY, Johnson KR. A missense mutation in the previously undescribed gene Tmhs underlies deafness in hurry-scurry (hscy) mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 May 31;102(22):7894-9.
8. Kalay E, Caylan R, Kremer H, de Brouwer AP, Karaguzel A. GJB2 mutations in Turkish patients with ARNSHL: prevalence and two novel mutations. Hear Res. 2005 May;203(1-2):88-93.
9. Kalay E, Karaguzel A, Caylan R, Heister A, Cremers FP, Cremers CW, Brunner HG, de Brouwer AP, Kremer H. Four novel TMC1 (DFNB7/DFNB11) mutations in Turkish patients with congenital autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. Hum Mutat. 2005 Dec;26(6):591.
10. Wattenhofer M, Sahin-Calapoglu N, Andreassen D, Kalay E, Caylan R, Brillard B, Fowler-Jaeger N, Reymond A, Rossier BC, Karaguzel A, Antonarakis SE. A novel TMPRSS3 missense mutation in a DFNB8/10 family prevents proteolytic activation of the protein. Hum Genet. 2005 Oct;117(6):528-35.

11. Kalay E, Li Y, Uzumcu A, Uyguner O, Collin RW, Caylan R, Ulubil-Emiroglu M, Kersten FF, Hafiz G, van Wijk E, Kayserili H, Rohmann E, Wagenstaller J, Hoefsloot LH, Strom TM, Nurnberg G, Baserer N, den Hollander AI, Cremers FP, Cremers CW, Becker C, Brunner HG, Nurnberg P, Karaguzel A, Basaran S, Kubisch C, Kremer H, Wollnik B. Mutations in the lipoma HMGIC fusion partner-like 5 (LHFPL5) gene cause autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *Hum Mutat.* 2006 27:633-9.
12. Collin RWJ, Kalay E, Oostrik J, Caylan R, Wollnik B, Arslan S, den Hollander AI, Birinci Y, Strom TM, Lichtner P, Toraman B, Hoefsloot LH, Cremers CWRJ, Brunner HG, Cremers FPM, Karaguzel A and Kremer H. The involvement of DFNB59 mutations in autosomal recessive non-syndromic hearing impairment. *Hum Mutat.* 2007 Mar 20;28(7):718-723.
13. Kalay E, Uzumcu A, Krieger E, Caylan R, Uyguner O, Ulubil-Emiroglu M, Erdol H, Kayserili K, Hafiz G, Baserer N, Heister AJGM, Hennies HC, Nurnberg P, Basaran S, Brunner HG, Cremers CWRJ, Karaguzel A, Wollnik B, Kremer H. MYO15A (DFNB3) Mutations in Turkish Hearing Loss Families and Functional Modeling of a Novel Motor Domain Mutation. *Am J Med Genet-Part A (Baskida)*
14. Kalay E, Caylan R, Kiroglu AF, Yasar T, Collin RW, Heister JG, Oostrik J, Cremers CW, Brunner HG, Karaguzel A, Kremer H. A novel locus for autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment, DFNB63, maps to chromosome 11q13.2-q13.4. *J Mol Med.* 2007 Apr;85(4):397-404.
15. Kalay E, de Brouwer AP, Caylan R, Nabuurs SB, Wollnik B, Karaguzel A, Heister JG, Erdol H, Cremers FP, Cremers CW, Brunner HG, Kremer H. A novel D458V mutation in the SANS PDZ binding motif causes atypical Usher syndrome. *J Mol Med.* 2005 Dec;83(12):1025-32

RNAi: MEKANİZMASI ve UYGULAMA ALANLARI**Prof. Dr. GÜLER TEMİZKAN**

İstanbul Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 34118 Vezneciler-İstanbul

temizkan@istanbul.edu.tr

RNA kırışması (RNAi) küçük RNA'lar tarafından yönetilen gen anlatımı düzenlemesidir. Bu süreçte, dış kaynaklı çift iplikli RNA'lardan (dsRNA'lar) oluşan siRNA'lar ya da iç kaynaklı mikro RNA'lar (miRNA'lar) tarafından tetiklenen gen anlatımının diziye özgü şekilde durdurulma mekanizması iş görür. RNAi tüm ökaryotlarda bulunan yaygın ve evrimsel olarak korunmuş bir mekanizmadır.

RNAi mekanizmasında iş gören siRNA ve miRNA'ların ortak yapısal özellikleri yaklaşık 20-23 nükleotid boyunda ve çift sarmal yapıda olmaları, 3' uçlarında 2 nükleotidlik çıkıntıları bulunmasıdır. siRNA'ların kökenleri genellikle dış kaynaklı olan uzun çift iplikli RNA'lar (dsRNA'lar) dır. miRNA'lar ise iç kaynaklı olup miRNA genlerinin veya bazı yapısal genlerin kopyalarındaki intron veya ekson bölgelerinin ürünü olan sap-ilmek yapılı RNA'lardan gelişirler. RNAi mekanizması ile gen susturulması, sitoplazmada transkripsiyon sonrasında mRNA'ların kesilmesi veya translasyonun engellenmesi biçiminde ya da nukleusta transkripsiyonun engellenmesi biçiminde meydana gelir. RNAi bir ribonukleaz aygıtıdır; siRNA/miRNA'ların oluşumunda RNazIII tipi, susturma aşamasında da RNazH tipi enzimler iş görür.

RNAi hücrel süreçlerde çeşitli anahtar işlevleri yürütür: virusların ve transgenlerin çoğalmasına karşı korunmada, gelişme ve farklılaşmada, genom yapısının kararlılığında, transpozabl elementlerin çoğalmasının baskılanmasında rol oynar. İnsanlarda miRNA'ların işlenmesi ve/veya işlevleri için gerekli proteinlerin bazılarının çeşitli hastalıklarla ilişkili oldukları belirlenmiştir. Aynı zamanda, miRNA'ların tümör oluşturunu veya baskılayıcı etkileri de bulunmaktadır.

RNAi'nin kullanım alanları arasında tıp son yıllarda önemli yer tutmaktadır. RNAi yardımıyla genlerin işlevinin hızlı biçimde tanımlanması ilaç geliştirilmesinde ilaç hedeflerinin belirlenmesine yönelik önemli atılımların yapılmasına olanak vermektedir. RNAi'ye dayalı stratejiler henüz klinik uygulamalara tam girmemiş olmakla birlikte bu amaçla yapılan bazı denemelerden başarılı sonuçlar alınmıştır. Tedavi amaçlı in vivo RNAi denemeleri arasında çeşitli nörolojik, oküler, metabolik, viral hastalıklar ve bazı kanser tipleri sayılabilir. Tedavi amaçlı RNAi kullanımının özgüllük, güçlölük, çok yönlölük gibi önemli avantajları olmakla birlikte bu aşamada hücrelere alınma, güvenilirlik, etkinlik konularında çözölmesi gereken bazı zorlukları da bulunmaktadır.

DEVELOPMENTALLY REGULATED CHANGES IN C-JUN N-TERMINAL KINASE SIGNALLING DURING STRESS-INDUCED APOPTOSIS OF OLIGODENDROCYTE LINEAGE CELLS

GRISHA PIRIANOV AND HÜSEYİN MEHMET*

Institute of Reproductive and Developmental Biology, Division of Paediatrics, Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine, Imperial College London, Hammersmith Hospital Campus, Du Cane Road, London W12 0NN, UK. *Present address: RY80Y-215, Merck Research Laboratories, 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065, USA.

Abstract

Oligodendrocyte (OL) precursor cells (OPC) are vulnerable to stress-induced death in the developing brain. In the present study, we examined c-Jun N-terminal kinase (JNK) signalling in brain damage following cerebral ischaemia and at defined stages of differentiation (from OPC to myelinating OL). Using JNK3 knockout mice, we observed that the vulnerability of neonatal mice to cerebral injury was significantly dependent on JNK3 activation, with a more subtle role for JNKs 1 and 2. Although our results confirmed the role of c-Jun phosphorylation in this process, we also identified ATF-2 as a major potential player. Since OL lineage cells are particularly sensitive to injury in the developing brain, we next compared the vulnerability of OL lineage cells in culture. We found that in undifferentiated OPC, JNK was strongly activated in response to oxygen-glucose deprivation (OGD). Specific immunodepletion studies indicated that active JNK3 formed a substantial part of JNK activity in OPC. In contrast, mature OL were more resistant and this was reflected by reduced JNK3 activation. Importantly, the resistance of mature OL to OGD was not due to changes in JNK3 expression during differentiation, but rather a difference in the expression and activation of an upstream kinase in the JNK pathway. Finally, we found that D-JNKI, a specific JNK peptide inhibitor, completely blocked OGD-induced JNK activation, but only partially attenuated apoptosis in OPC. While more detailed investigations are required to understand the precise cross-talk between JNK3 and apoptotic signalling, our data clearly suggest that JNK3 inhibitors might be promising therapeutic agents for cerebral injury.

YENİ BİR ORGAN: ENDOTEL

Prof. Dr. KAYA EMERK

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

Endotel, hastalık ve sağlıkta çok önemli rolleri olan, tüm vücuda yayılmış metabolik olarak aktif bir dokudur. Ortalama vücut ağırlığına (70 kg) sahip bir kişide 1,5-2 kg'lık kısım endotel tarafından oluşturulur ve endotel hücrelerinden bir tek tabaka oluşturulursa bu yaklaşık 4000-7000 m² lik bir alanı kaplar. Tüm damarların luminal yüzeyleri kaplayan endotel hücreleri, çok fonksiyonlu hücrelerdir, hemostazın modülasyonu, vasküler tonus'un denetimi ve kan ve dokular arasında solitlerin ve gazların hareketlerinin denetimi, pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar mediatörlerin dengesinin korunması, yeni kn damarlarının oluşturulması, programlı hücre ölümü bu görevlerdendir. Bununla beraber, endotel hücrelerinin farklı dokularda ve farklı tip damarlarda yapısal ve fonksiyonel varyasyonlar gösterdiği de(endotel hücre heterojenitesi) unutulmamalıdır.

Damar cidarlarında endotel hücreleri parke taşı görüntüsünde bir tek tabaka oluştururlar. Boyutları 10-50 mikrometre'den, 25-40 mikrometreye kadar değişen bu poligonal hücreler uzun eksenleri, kan akımına paralel olacak şekilde yerleşmişlerdir. Endotel hücreleri, hücreleri damara bağlayan subendotel üzerinde otururlar.

Endotel hücrelerin bölünme yetenekleri ölçüsünde çoğalarak ve göç ederek var olan damarlardan yeni kapillerler oluşturmaya anjiyogenez denir. Vaskülogenez ise dolaşımda bulunan endotel hücre öncüllerinin (endotel progenitör hücreler) daha önceden var olan herhangi bir damardan köken almadan olgun endotel hücrelere dönüşerek yeni bir damar oluşturmaları olarak bilinir. Yakın tarihe kadar postnatal süreçte organizmanın fizyolojik gereksinimlerini karşılamak veya iskemik dokulara veya tümörlere oksijen sağlamak amacıyla yeni kapiller damarların oluşmasında sadece anjiyogenezin rol aldığı düşünülmekteydi. Vaskülogenezin ise sadece embriyonik dönemde yeni damar oluşumunu sağladığı sanılmaktaydı. Ancak, Asahara ve Shi yaptıkları deneylerle kemik iliği kaynaklı hematopoetik progenitör hücrelerin endotel hücreye embriyonik dönemin dışında da dönüşebildiğini, iskele sonrası endotel bütünlüğün tekrar sağlanmasında ve yeni kapiller oluşumunda bizzat rol aldıklarını bularak vaskülogenez ile ilgili yaygın kanıyı değiştirdiler (1,2).

Nekroz, kopma ve apoptoz yolu ile damar cidarını açık bırakan endotel hücreleri ya mevcut hücrelerin bölünmesi yolu ile ya da dolaşımdaki öncül hücrelerin yapışması yolu ile bu bölgeyi kapatırlar. Normal şartlarda kanda ml başına 1-3 tane damar duvarından kopmuş endotel hücre bulunur ve bu kopmuş endotel hücrelerin yerlerine yenilerinin konulmasına ihtiyaç vardır. Aşırı endotel yapımı ihtiyacı belirdiğinde ise mevcut hücrelerin bölünme hızı yetmez ve dolaşımdan öncül hücreler çağırılır (3).

Endotel progenitör hücrelerin olgunlaşma yönünden hematopoetik kök hücrelerle endotel hücreler arasında bir yerde olduğu bilinmektedir. Endotel progenitör hücreleri, endotel hücrelerle ve hematopoetik kök hücrelerle bir takım ortak hücre yüzey belirteçleri taşımaktadırlar. Yapılan araştırmalarla endotel progenitör hücrelerin endotel hücre belirteç

proteini olan VEGFR-2'yi ve hematopoetik kök hücre yüzey belirteci olan CD34'ü taşıdıkları gösterilmiştir. Bunun yanında her ne kadar düşük seviyede olsa da endotel hücreleri CD34 belirteci taşıyabildikleri için araştırmacılar endotel progenitör hücrelerin endotel hücrelerden ayırımı yapabilmek amacıyla daha özgün bir yüzey belirteci tanımlamaya ihtiyaç duymuşlardır. Bu amaçla örtüşen en önemli bulgu endotel hücrelerce taşınmayan CD133'ün olgunlaşmamış endotel progenitör hücrelerce taşındığının gösterilmesi olmuştur. Endotel progenitör hücreler olgunlaştıkça üzerlerindeki CD133 belirtecini kaybetmekte ve endotel hücrelere dönüşmektedirler (4)

Yeni damar oluşumunda bu kadar önemli role sahip olan endotel progenitör hücrelerin damar hastalıklarında ne tip değişikliklere uğradığı da merak konusu olmuştur. Endotel progenitör hücre sayısında veya fonksiyonunda görülen sapmalar bir çok patolojiyle ilişkilendirilmiştir.

Tümöral oluşumlarda indüklenen yeni damar oluşumunda endotel progenitör hücrelerin rolü olduğu kanıtlanmıştır. Asahara ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada tümörün periferinde bulunan vasküler ağda yoğun miktarlarda endotel progenitör hücrelere rastlanmıştır(5). Bunun yanında tümör gelişiminde endotel progenitör hücrelerin önemli bir role sahip oldukları da gösterilmiştir. Bu bulgular araştırmacıları kanserde yeni tedavi yaklaşımları geliştirmeye itmiştir.

Dolaşımda bulunan endotel progenitör hücre sayısının azlığı ile kardiyovasküler hastalık gelişimine yol açabilecek endotelyal tamir kapasitesinin düşüklüğü arasında korelasyon bulunmuştur. Bir başka araştırmada koroner arter hastalarında endotel progenitör hücre sayısının azaldığı ve göç etme kapasitesinin bozulduğu gösterilmiştir. Endotel progenitör hücrelerde görülen bu patolojik değişikliklerin kardiyovasküler risk faktörleriyle korele olabileceği de söylenmektedir. Koroner arter hastalarında gözlenen bu değişikliklerin benzerlerini tip II diyabetli hastalarda da gözlemek mümkündür(6).

Yapılan araştırmalarla eritropoetinin ve östrojenin endotel progenitör hücre mobilizasyonuna yol açtığı bunun yanında statinlerin de endotel progenitör hücre çoğalmasını ve göç etme kabiliyetini arttırdığı gözlenmiştir. Tüm bunlara ek olarak yaşlanmayla birlikte endotel progenitör hücre sayısında ve fonksiyonlarında azalma bir çok kez kanıtlanmıştır (7).

Hiperhomosisteinemi plasma total homosistein düzeylerinin artması ile karakterize patolojik bir durumdur. Hiperhomosisteineminin kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olduğu McCully tarafından 30 yıl önce öne sürülmüştür. Mc Cully hiperhomosisteinematik ve homosistinürik çocuklarda ilerlemiş damar lezyonlarına rastlamış ve metiyonin metabolizmasındaki bir bozukluğun buna sebep olduğunu ileri sürmüştür. Son yıllarda plazma tHcy düzeylerinin 15-50 μ M olması ile karakterize ılımlı hiperhomosisteineminin artmış periferik damar hastalıkları, venöz tromboz, kardiyovasküler hastalıklar ve inme ile elele gittiği gözlenmiştir. Bazı çalışmalar plazma tHcy düzeylerindeki hafif artışların bile kardiyovasküler hastalık ve inme için önemli birer risk faktörü olduğunu ileri sürmektedir. Plazma tHcy düzeylerinin B vitaminleri ve folik asit verilmesi ile kolaylıkla düşürülebilmesi kardiyovasküler hastalıkların ve komplikasyonlarının önlenmesinde hiper-homosisteinemi tedavisinin ön plana çıkmasına sebep olmuştur. (8)

Homosistein esansiyel bir aminoasit olmayıp metiyonin metabolizmasının bir son ürünüdür. Bir çok dokuda metiyonin ATP ile aktive edilerek S-adenozil metiyonine (SAM) dönüşür. Bu

molekül bir çok metil transferaz enzimi için substrat rolü oynar. Böylelikle vücuttaki metillenme tepkimeleri gerçekleştirilir. Metillenen önemli akseptörlerden bir tanesi de proteinlerin arginin artıklarıdır. Bu proteinlerin yıkımı ile metillenmiş argininler açığa çıkar. Protein arginin metiltransferazlar ile gerçekleştirilen bu tepkimede bir diğer son ürün de S-adenozil homosistein (SAH)'tir. SAH'in hidrolizi ise homosisteini verir. Homosisteinin akibeti ya tekrar metillenerek metiyonine dönüşmek ya da sistatyonin p-sentaz enzimi aracılığı ile serin ile kondanse olarak sistatyonin oluşturmaktır. Bir çok dokuda homosisteinin yeniden metillenmesi vitamin B12 bağımlı enzim metiyonin sentaz aracılığı ile olur. Bu tepkimede 5,10-metilen tetrahidrofolatredüktaz (MTHFR) aracılığı ile 5-metil tetrahidrofolat üretilir.

Plazmada bulunan homosisteinin ancak %1'i indirgenmiş halde bulunur. Yükseltgenmiş homosisteinin %80-90'ı proteine bağlı karışık disülfid, %5-10 kadari homosistein-sistin karışık disülfidi, geri kalanı ise homosistin olarak bulunur. Hiperhomosisteinemi genetik olarak CBS, MS, MTHFR veya BHMT'nin eksikliğine bağlı oluşabileceği gibi böbrek yetmezliği veya folat, vitamin B6, vitamin B12 eksikliği doğuran beslenme yetersizliklerinde ortaya çıkar.

Deneyisel hiperhomosisteinemi'de birçok araştırmacı tarafından gözlenen en önemli bozukluklardan birisi endotel kaynaklı NO'ya bağlı vazodilatasyon bozukluğudur. (9) Potent bir vazodilatör olan NO vasküler düz kas hücrelerinde çözünür guanilsiklazı inaktive eder. Biriken cGMP relaksasyona sebep olur. Endoteldeki NO nitrik oksit sentaz isoformu (eNOS) aracılığı ile sentezlenir. Sentezi başlatıcı genellikle fizyolojik bir uyarıdır. Endotel bağımlı bu gevşeme hem büyük arterlerde hem de periferik damarlarda gözlenir. Endotel bozukluğunda bu endotel bağımlı relaksasyon bozulmuştur. Hipertansiyon, diyabet, hiperkolesterolemi ve hiperhomosisteinemi de görülen bu durum sonucunda önemli klinik bozukluklar ortaya çıkar.

Diyetle indüklenmiş hiperhomosisteinematik maymunlarda ılımlı homosistein artışları endotel harabiyeti ile elele gider. Aynı bulgu sıçan , fare ve insanda da gözlenmiştir. Endotel fonksiyonlarının hiperhomosisteinemi nedeniyle bozulması hiperkolesterolemi, hipertansiyon gibi risk faktörleri olduğunda gözlenen kardiovasküler patolojilere eşitir.

Hiperhomosisteinemisinin endotel bozukluğunu hangi mekanizma ile gerçekleştirdiği açıklığa kavuşmamıştır. Her ne kadar hiperhomosisteinemi MCP-1 ekspresyonunu arttırarak monositlerin intimaya girişini hızlandırırsa da eNOS ekspresyonuna önemli bir etkisi gösterilememiştir. Bu da normal miktarda NO sentezi olduğunu ancak NO miktarlarının bir başka mekanizma ile azaltıldığını veya eNOS'un inhibe edildiğini gösterir. Nitrik oksit (NO,EDRF), renksiz gaz şeklinde bulunan inorganik serbest bir radikaldır. Tek bir elektron NO'yu biyolojik zarlardan geçen ve diğer maddelerle etkileşime giren aktif radikal haline dönüştürebilir NO yarı ömrü bir kac saniye olan labil bir vazodilatördür. Endotel üzerinde bulunan muskarinik reseptörlerin aktivasyonu NO jenerasyonu ile sonlanır. NO yapısında olan bu faktör arjininin guanidino azotunda sentezlenir (NO sentetaz) ve kalsiyum kalmodiline bağımlı denetlenir. NO, histamin ve bradikinin trombositlerin agregasyonuna ve yapışmasına engel olur. NO etkileri cGMP'nin hücre içi konsantrasyonlarındaki değişiklikler ile iletilir. Anjiotensin II, bradikinin, histamin, norepinefrin, adenin nükleotidleri, trombin gibi bileşiklerin yanında pulsatil basınç ve görünür bölgedeki ışıktaki NO salgılanmasına sebep olabilir. Hiperhomosisteinemi'de NO miktarındaki azalma multifaktöryeldir. Artmış reaktif oksijen türleri endotel kaynaklı nitrik oksitin oksidatif inaktivasyonuna sebep olabilir. Endojen bir inhibitor tarafından eNOS'un baskılanması diğer potansiyel bir mekanizmadır. eNOS'un önemli endojen inhibitorü asimetrik dimetilarginin'dir (ADMA). ADMA bir arginin analogu olup

eNOS'un kompetitif inhibitörüdür. eNOS'u inhibe ederek nitrik oksit düzeylerini düşürme yanında ADMA süperoksit üreterek NO'yu ortamdan uzaklaştırabilir.

ADMA, proteinlerdeki arginin yan zincirlerini arginin N-metiltransferazlar (PRMT) aracılığı ile metillenmesi sonucu oluşur. PRMT metil verici olarak SAM'i kullanır ve yan ürün olarak homosistein verme potansiyeli olan SAH ortaya çıkar. Memeli dokularında iki farklı PRMT aktivitesi tarif edilmiştir. PRMT tip 1 arginin artıklarını hem monometiller hem de dimetiller Dimetilasyon asimetrik gerçekleşir. PRMT tip 2 ise monometilasyon yanında simetrik dimetilasyon yapar.(9) O halde ADMA'nın ana kaynağı PRMT tip 1 etkinliğidir.

Tüm SAM bağımlı metiltransferazlar gibi PRMT etkinliği de hücre içi SAM ve SMI konsantrasyonları ile denetlenir. SAM artışı PRMT'i aktive ederken SAH artışı ise bu etkinliği baskılar. ADMA metillenmiş arginin artıkları taşıyan proteinlerin proteolizi ile oluştuğundan artmış SAM bağımlı metillenmiş proteinler hem ADMA'nın hem de homosisteinin artmasına sebep olurlar. Yeni yapılan iki invitro çalışma yüksek metiyonin bulunan vasatlarda üretilmiş endotel hücrelerinde hem homosisteinin hem de ADMA'nın arttığını göstermiştir(10).

Hücre içi ADMA düzeylerini etkileyen bir diğer enzim grubu ise dimetilarginindimetilamino hidrolazlardır (DDAH). Bu enzimler ADMA'da sitrulin oluşturur ve memeli hücrelerinde iki ayrı isoformu gösterilmiştir. DDAH-2 damar dokularında (endotel gibi) eksprese edilen isoformu olup farmakolojik ajanlarla indüksiyonu vazokonstriksiyon indükler. Bu kasılma cevabı ortama arginin ilavesi ile geri döner. Böylelikle normal protein dönüşümü sonucu L dokuda sürekli üretilmekte olan ADMA'nın birikmesini DDAH önler.

Metiyoninden zengin folattan fakir beslenen maymunlarda plasma total homosistein E düzeylerine paralel olarak ADMA düzeyleri de 3 katına artmıştır. Plasma ADMA düzeyleri total homosisteinle olduğu kadar karotit arterde endotel bağımlı gevşemenin de bozulmasına sebep olmuştur. Metiyonin yüklemesi insanlarda da sekiz saat içinde plasma ADMA değerlerinin 2 katına çıkmasına sebep olmuştur. Brakiyel arter akış bağımlı dilatasyonu plazma ADMA düzeyleriyle tersine korelasyon göstermiştir. Plasma arginin/ADMA oranı da endotel'in nitrikoksit bağımlı fonksiyonunun bir göstergesidir ve vazodilatasyonla korelasyonu total homosistein düzeylerinden daha kuvvetli bulunmuştur. ADMA'nın artışının dokuda SAM artışına bağlı olup olmadığının ölçülmesi sistatyonin betasentetaz eksikliği gösteren farelerde incelenmiş, SAH artarken SAM düzeyleri normal bulunmuştur. SAH'ın SAM bağımlı metiltransfer tepkimelerinde kuvvetli bir inhibitör oluşu ADMA artışının izahını güçleştirmektedir. Hiperhomosisteinemi de DNA metilasyonunun azalmış olması görünen etkilerin enzim ekspresyonu üzerinden olabileceğine işaret eder.

İnsan kordon veni endotel hücre kültürlerinde yaptığımız çalışmalarda eNOS ve DDAH'nin yüksek homosistein konsantrasyonlarındaki ekspresyonuna baktık. 10-1000 μ M konsantrasyon aralığında 24 saat süre ile homosistein ile inkübe edilen konfluent endotel kültürlerinde eNOS ve DDAH ekspresyonlarında istatistiki anlamlı bir değişiklik bulunmadı. Her ne kadar ; homosistein'in NO düzeylerini düşürdüğüne dair yayınlar varsa da bu düşüşün enzim ekspresyonu üzerinden olmadığı ve NO'nun kullanılabilir kısmını muhtemelen tiyo-nitrozo türevlerinin oluşması aracılığıyla azalmasına bağlı olduğu, ADMA düzeylerindeki artışın ise yıkımdan sorumlu enzim olan DDAH'nin ekspresyonunun azalmasına bağlı olmadığı anlaşılmıştır. Bu da DDAH aktivitesinin azaldığına işaret eder. DDAH'nin aktif bölgesinde bir serbest sistein bulunur(10). Bu sistein homosistein ile oksitlenirse enzimin inaktive olması

kaçınılmazdır. Ancak henüz hücre içinde iki molekül arasında böyle bir interaksiyon gösterilememiştir. Bir diğer olasılık da hiperhomosisteineminin sebep olduğu oksidatif olaylara bağlı hasarlanma mekanizmasıdır.

Kaynaklar

1. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275:964–967.
2. Shi Q, Rafii S, Wu MH, et al. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood* 1998; 92:362–367.
3. Dominik B, Peter Ganz Endothelial Function: From Vascular Biology to Clinical Applications. *American Journal of Cardiology* 2002; 90(10C): 40-48
4. Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood* 2000; 95(3): 952–958
5. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circulation Research* 1999; 85(3): 221–228.
6. Teper OM, Galiano RD, Capla JM, Kalka C, Gagne PJ, Jacobowitz GR et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation* 2002; 106(22): 2781–2786.
7. Edelberg JM et al. Young adult bone marrow-derived endothelial precursor cells restore aging-impaired cardiac angiogenic function. *Circulation Research* 2002; 90: 89–93
8. Clarke R, Armitage J. Vitamin supplements and cardiovascular risk: review of the randomized trials of homocysteine-lowering vitamin supplements. *Semin Thromb Hemost* 2000;26:341–8.
9. Böger RH, Sydow K, Borlak J, Thum T, Lenzen H, Schubert B, et al. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res* 2000;87:99–105
10. Chen Z, Karaplis AC, Ackerman SL, Pogribny IP, Melnyk S, Lussier-Cacan S, et al. Mice deficient in methylene tetrahydrofolate reductase exhibit hyperhomocysteinemia and decreased methylation capacity, with neuropathology and aortic lipid deposition. *Hum Mol Genet* 2001;10:433–43.

IGF-BAĞLAYICI PROTEİN AİLESİ VE MEME KANSERİ

M. AKKİPRİK

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD. İSTANBUL

makkiprik@marmara.edu.tr

IGF-I ve -II endokrin, parakrin ve otokrin mekanizmalar ile hücre çoğalması, farklılaşması ve sağkalımı etkileyen, yaygın olarak eksprese edilen polipeptidlerdir. IGF sistemi memelilerde fizyolojik büyümenin majör kontrol yolağıdır. IGF sisteminin düzensiz regülasyonu kanser, diyabet ve aterosklerozu kapsayan birçok hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir. IGF'in davranışı altı adet yüksek afiniteli IGF bağlayan proteinlerden oluşan Igfbp ailesi tarafından düzenlenmektedir. Igfbp'ler IGF-I reseptörleri (IGF-IR) ile yarışarak IGF'in etkisini baskılar. Bu proteinler tarafından IGF'in etkisinin arttırıldığı mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte bugüne kadar bazı Igfbp'lerin IGF'den bağımsız hücre proliferasyonu ve sağkalım üzerine hücre ve doku spesifik olarak etkileri tanımlanmıştır. Tüm Igfbp'ler arasında sadece Igfbp-5 ve Igfbp-3 sahip olduğu nükleer lokalizasyon sinyali ile (NLS) çekirdeğe transfer olabilmektedirler. Bu proteinlerden biri olan Igfbp-5, farklı hücre ve doku tiplerinde fonksiyonel spektrumu en geniş, elde edilen çelişkili bulguları ile merak konusu olan bir proteindir. Igfbp-5 bazen hücre proliferasyonunu baskılayıcı ve apoptozu indükleyen, örneğin iskelet kası hücreleri, prostat ve meme kanseri; bazen ise büyümeyi uyaran (fibroblast, osteoblast) ve farklılaşmada rol alan önemli bir protein olarak karşımıza çıkmaktadır. Bununla birlikte aynı tip hücre serilerinde örneğin meme kanserinde birbirinin tamamen zıttı bir fonksiyon çeşitliği gözlenmektedir. Büyük olasılıkla bu fonksiyonel farklılık onun etkileştiği proteinler ve hücre içindeki lokalizasyonu ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Çalışmalarda, Igfbp-5 geni ekspresyon farklılığı gösteren genler listesinde kendini göstermekte ve metastaz ile pozitif bir ilişki bildirilmektedir. Igfbp-5'in IGF-bağımlı fonksiyonu yanı sıra, IGF'den bağımsız olarak benzersiz fonksiyonlara da sahiptir. Ayrıca Igfbp-5, prostat ve tiroid kanserleri gibi, farklı tip kanserlerin gelişiminde de söz sahibidir.

IGF bağlayan proteinleri, son yıllarda meme kanseri dahil pek çok kanser türünde adından sıkça bahsedilen, fonksiyonları ve etki mekanizmaları tam olarak ortaya konduğunda kanserin moleküler temelinin aydınlatılmasına ilave katkılar sağlayarak yeni geliştirilecek tedavi seçeneklerine yön verebilecek ve hastalığın seyrinde yeni prediktif markerların belirlenmesine yardımcı olabilecek niteliktedir.

GENETİK OLARAK DEĞİŞTİRİLMİŞ ORGANİZMALAR, YASALAR VE YURDUMUZDAKİ UYGULAMALAR

N. GÖZÜKIRMIZI

İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İSTANBUL

nermin@istanbul.edu.tr

Genetik olarak değiştirilmiş canlıların ve bunlardan elde edilen gıdaların dağılımı hızla artmaktadır. Bu ürünlerin uzun süreli kumulatif etkilerinin insan ve çevre sağlığı üzerindeki zararlarının neler olacağı tahmin edilememektedir. Avrupa Birliği günümüzde az sayıda genetik olarak değiştirilmiş organizmadan üretilen ve ancak %1 oranında normal gıdalara eklenen gıda kullanımına izin vermektedir. Bu nedenle genetik olarak değiştirilmiş bir ürünün taranmasında başlıca 3 soruya yanıt aranmaktadır. Bunlardan birincisi "üründe aktarılmış yabancı gen var mı?", ikincisi "hangi gen var?", üçüncüsü ise "ne kadar gen ürünü var?" sorularıdır. Çoğu moleküler biyoloji ve genetik temelli olan bu tanı yöntemlerinden bazıları Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), kantitatif PZR, "real-time" PZR, DNA "chip"leri, immünojenik, kromatografik ve spektrofotometrik temelli yöntemlerdir.. Biyogüvenlik kısaca; bitki, hayvan ve mikroorganizmaların kullanımı ile oluşturulan biyoteknolojik ürünlerin çevre ve insan sağlığı üzerinde güvenli kullanımının sağlanmasıdır. Yurdumuzda da Ulusal Biyogüvenlik Kanun Taslağı hazırlanarak meclise sunulmuştur. Bu kanunun amacı; ülkemizde çevrenin ve biyolojik çeşitliliğin korunması ve sürdürülebilir kullanımı ile bitki, hayvan ve insan sağlığı ile yaşamının korunması için 4898 sayılı kanunla onaylanan Birleşmiş Milletler Cartagena Biyogüvenlik Protokolü da dikkate alınarak, modern biyoteknoloji kullanılarak elde edilen genetik yapısı değiştirilmiş organizmalar (GDO) ve ürünleri ile ilgili faaliyetleri düzenlemek, denetlemek, izlemek üzere biyogüvenlik sistemini kurmak, geliştirmek ve uygulanmasını sağlamaktır. Bu bildiride genetik olarak değiştirilmiş organizmalar ve gıdaların eldesi, tanısında kullanılan yöntemler ve konu ile ilgili yasal düzenlemeler sunulacaktır.

ERKEN YAŞLANMA HASTALIKLARININ MOLEKÜLER TEMELLERİ

Prof. Dr. NURSEL ELÇİOĞLU

Pediyatrik Genetik BD- Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, İSTANBUL

Prematur yaşlanma sendromları (Progeroid sendromlar) fizyolojik yaşlanmayı erken yaşlarda taklit eden klinik özelliklerle karakterize bir grup genetik hastalıktır. Bugüne kadar sorumlu geni ve fizyopatolojisi tanımlanan sendromların çoğu monogeniktir ve fizyolojik yaşlanma sürecini tüm dokularda göstermedikleri için segmental progeroid sendromları olarak da adlandırılır. Erken yaşlanma sendromlarının hastalık modeli olarak incelenmesi doğal yaşlanma sürecinin anlaşılmasına da yardımcı olmaktadır. Werner Sendromu ve Hutchinson-Gilford Progeria sendromu, doğal yaşlanmaya çok benzemeleri nedeni ile üzerinde en çok çalışılan sembolik hastalıklardır. Bunların klinik tabloları arasında farklılıklar olmasına rağmen, hücresel düzeyde her iki hastalık da genomik dengesizlikten kaynaklanmış olup belli dokularda hızlanmış yaşlanma belirtilerini gösterirler.

Bugüne kadar bilinen Progeroid sendromlar gerek klinik gerekse de genetik olarak heterojendirler ve sorumlu genler açısından başlıca iki gruba ayrılabilirler:

1- DNA onarım genlerinde mutasyonlar.

DNA tamiri kompleks bir mekanizmadır; ekzojen veya endojen hasar verici ajanların yol açtığı tek veya çift zincirli DNA hasarını onarmayı amaçlar. Özellikle DNA helikazlar ve Nükleer eksizyon tamir proteinleri ilgilendiren gen defektlerinin sonucunda kanser ve kognitif bozulma gibi yaşlanmaya bağlı hastalıkların ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bu grubun neden olduğu progeroid sendromlar; Werner sendromu, Bloom sendromu, Rothmund-Thomson sendromu, Cockayne sendromu, Kseroderma pigmentozum ve Trikotiodistrofi'dir.

2- Lamin A/C mutasyonları:

Lamin A nükleus zarfının yapıtaşlarından ve genom stabilitesinde rol oynar. Bu proteini kodlayan veya translasyon sonrası maturasyonunu etkileyen genlerdeki mutasyonlar birçok progeroid fenotipe yol açarlar. Hutchinson-Gilford Progeria Sendromu, Restriktif dermopati, Mandibuloakral Displazi bu gruba girmektedir.

Güncel çalışmalarda DNA onarım defekti ve Laminopatiler arasında fonksiyonel bağlantıların bulunması bu sendromlarla, doğal yaşlanma ve kanser arasındaki ilişkiyi desteklemektedir.

Bunların dışında Hallerman-Streiff veya Wiedemann-Rautenstrauch gibi diğer progeroid sendromlarının henüz nedenleri bilinmemektedir. Erken yaşlanma gösteren hayvan modellerinde ise mitokondrial yolların da etkilendiği gösterilmiştir fakat buna paralel patolojik değişiklikler insanda gösterilememiştir.

Çalışmamızda prematur yaşlanma sendromlarından klinik örneklerle hücresel ve moleküler defektleri arası ilişkiler tartışmaya sunulacaktır.

A NOVEL ROLE FOR CAVEOLIN IN LIPID REGULATION AND LIVER REGENERATION

PARTON, RG

Institute for Molecular Bioscience and Centre for Microscopy and Microanalysis, University of Queensland, Brisbane, Qld 4072, Australia

Caveolae are a characteristic surface feature of many mammalian cell types and are particularly abundant in endothelia, smooth muscle, and adipocytes. Caveolae form remarkably stable membrane domains at the plasma membrane but can act as carriers in the exocytic and endocytic pathways. The ability to experimentally manipulate caveolins, which are essential for caveolae formation, has allowed researchers to examine the effect of caveolae-deficiency in specific cell types in tissue culture and in vivo. These studies are providing fascinating new insights into caveolar function. Caveolae link mechanical changes in the plasma membrane to intracellular signaling events and also allow the cell to sense changes in lipid balance (1). We have shown an unexpected link between caveolae and lipid droplets. Caveolin can move between the cell surface and lipid droplets in response to high fatty acid levels. In addition, caveolin mutants, which show constitutive association with lipid droplets, disrupt cholesterol regulation. In vivo, caveolin shows a regulated association with lipid droplets in regenerating liver. Liver regeneration is an orchestrated cellular response that coordinates cell activation, lipid metabolism, and cell division. Caveolin-1 gene-disrupted mice (*cav1*^{-/-}) exhibited an impaired liver regeneration and low survival after a partial hepatectomy (2). Hepatocytes showed dramatically reduced lipid droplet accumulation and did not advance through the cell division cycle. Treatment of *cav1*^{-/-} mice with glucose (a predominant energy substrate compared to lipids) drastically increased survival and re-established progression of the cell cycle. Thus, caveolin-1 plays a crucial role in the mechanisms that coordinate lipid metabolism with the proliferative response occurring in the liver after cellular injury. Recent gene array analyses have started to pinpoint the numerous pathways regulated by caveolin-1 in the liver and in other cell types. Together these studies point to a fundamental role of caveolins and caveolae in regulating the cellular lipid balance.

References

1. Parton, R.G., and K. Simons. 2007. The multiple faces of caveolae. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 8:185-194.
2. Fernandez, M.A., C. Albor, M. Ingelmo-Torres, S.J. Nixon, C. Ferguson, T. Kurzchalia, F. Tebar, C. Enrich, R.G. Parton, and A. Pol. 2006. Caveolin-1 is essential for liver regeneration. *Science.* 313:1628-32.

POTENTIAL THERAPEUTIC EFFICACY OF ADENOVIRUS DELIVERY OF TRAIL FOR PATIENTS WITH PROSTATE CARCINOMA

AHTER DİLŞAD ŞANLIOĞLU 1, I. TÜRKER KÖKSAL 2, BAHİRİ KARAÇAY 3,
MEHMET BAYKARA 2, GÜVEB LÜLECİ 1, THOMAS S. GRIFFITH 3, SALİH ŞANLIOĞLU 1

1 Human Gene Therapy Unit and the Department of Medical Biology and Genetics,
2 Department of Urology, Akdeniz University, Faculty of Medicine, 07070, Antalya, Turkey;
3 Departments of Pediatrics-Urology and the Gene Therapy Center, University of Iowa,
College of Medicine, Iowa City, IA, 52242, USA.

Prostate cancer is the most frequently diagnosed male cancer in the world. Like all cancers, prostate cancer is a disease of uncontrolled cell growth. In some cases tumors are slow growing and remain local, but in others they may spread rapidly to the other organs including lymph nodes and bone. Although surgery and radiation can cure early stages of organ confined prostate carcinoma (stages I and II), there is no curative therapy at this time for locally advanced or metastatic disease (stages III and IV). The likelihood of postsurgical local recurrence increases with capsular penetration as detected in 30 % of the patients at the time of radical prostatectomy. Moreover, 10-15 % of patients have metastatic cancer at the time of diagnosis. Considering the fact that 60 % local recurrence is observed in patients receiving radiation therapy with or without adjuvant hormonal ablation therapy, it is generally believed that androgen ablation therapy simply delays the progression of prostate carcinoma but cannot interfere with the recurrent events. In addition, the overall ten-year survival rate of patients with locally recurrent prostate cancer is only around 35 %. Thus, the progression into the androgen independent stage appears to be ultimately inevitable. Gene therapy arose as a novel treatment modality with the potential to decrease the morbidity associated with conventional therapies. Therefore, gene therapy is expected to lower the incidence of tumor recurrence and finally improve the outcome of patients with recurrent and androgen independent prostate carcinoma.

Apoptosis, known as programmed cell death is defined as cell's preferred form of death under hectic conditions. It is believed that the specific activation of apoptotic pathways within the tumor cells could be a highly effective therapeutic strategy against prostate cancer. Currently, chemotherapy and radiotherapy are among the most commonly used treatment modalities against prostate cancer. The tumor suppressor gene, p53, is required in order for both of these treatment methods to work as anti-tumor agents. However, more than half of the human tumors acquire p53 mutations during tumorigenesis. As a result, tumors lacking p53 display resistance to both chemotherapy and radiotherapy. Intriguingly, death ligands induce apoptosis independent of p53 status of the cells. Currently, death ligands are being evaluated as potential cancer therapeutic agents. Despite the fact that Tumor Necrosis Factor (TNF) and FasL were shown to effectively induce apoptosis in cancer cells, their systemic use in cancer gene therapy is not recommended due to the systemic toxicity. With the discovery of a novel death ligand, TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand (TRAIL/Apo2L), a new era has commenced in the deployment of death ligands for cancer gene therapy. The fact that TRAIL does not cause any harm to normal cells but can selectively induce apoptosis in cancer cells brought up the possibility of TRAIL testing even for systemic use. However, more than half of the

human tumors tested appeared to be TRAIL resistant. In order to overcome this barrier, a tremendous effort has been spent in finding and deploying methods to sensitize cancer cells to TRAIL. This was required if the success is the end point in a clinical setting of gene therapy using TRAIL as a therapeutic gene.

In our study, both constitutive NF- κ B activity and TRAIL receptor composition appeared to be the chief determinants of TRAIL sensitivity encountered in prostate cancer cells. Thus, lowering NF- κ B activity or modifying cellular composition of TRAIL receptors via gene therapy involving DcR2 siRNA approach resulted in a therapeutic benefit. Considering the fact that one of our recent studies has linked TRAIL-DcR2 expression to high Gleason Scores, PSA recurrence and decreased survival, the expression profile of TRAIL and its receptors can potentially be used as prognostic markers to follow up the progression of prostate carcinoma. Additionally, recently started phase 1 clinical trials of adenovirus mediated delivery of TRAIL (Ad5hTRAIL) into the prostate of cancer patients showed that this approach has been well tolerated by the patients. Consequently, both the research findings and preliminary results from the phase 1 clinical trial increase our hopes to find a cure to this devastating disease someday.

KIR RESEPTÖRLERİ ve HASTALIK ETİYOPATOGENEZLERİNDEKİ ROLÜ

Doç. Dr. A. SARPER DİLER (M.D., PhD, CHTC)

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
T. Biyoloji ABD ve Kemik İliği Bankası, İSTANBUL

NK (Natural Killer) hücreleri doğal bağışıklığın bir komponenti olup yabancı antijenlere karşı ilk etap savunmanın vazgeçilmez elemanlarıdır. NK hücrelerinin başta tümörlere viral enfeksiyonlara ve çeşitli transplantasyonların başarısında, otoimmün ve hematolojik hastalıklarda etiopatogenezinde ve hastalık progresyonunda önemli rol oynadığına dair kanıtlar artmaktadır.

KIR yani Killer Cell immunoglobulin-like reseptörü T hücre alt grupları ve NK (Natural Killer) hücreleri üzerinde eksprese olan hücre yüzey reseptörüdür. KIR'ların üyesi olduğu bir grup molekül hedef hücreler üzerindeki HLA Class I ligandını tanıyarak NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesini düzenler.

KIR'lar 19q13.4 Kromozomu üzerindeki genlerce kodlanan glikoproteinlerdir ve iki alt aile olarak sınıflanmaktadır. Sınıflama bu moleküllerin sahip olduğu immunoglobulin domeinlerinin sayısına göre yapılmaktadır. KIR 2DLi, KIR 3DL ise üç adet immunoglobulin domenine sahiptir. Üç domenli KIR'larının insan lökosit antijenlerinden spesifik olarak HLA A ve HLA B antijenleriyle ilişkiye geçebildiği gösterilmiştir. Oysa iki adet immunoglobulin alt üniteli KIR'lar farklı olarak HLA C antijenleriyle de ilişkide olabilecekleri gösterilmiştir. KIR'lar için ligand olması muhtemel moleküller üzerine çalışmalar devam etmektedir.

KIR'ların üyesi olduğu bu alt ailelerin inhibitör (L) ve stimülatör (S) fonksiyonları bulunmaktadır.

Bugün için bilinen KIR allellerinin (2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL4, 2DL5, 3DL1, 3DL2) inhibitör sinyal iletimine yol açan immun reseptör tirozin bazlı inhibitör motif (ITIM) taşıyan uzun sitoplazmik kuyrukları bulunmaktadır. Kısa sitoplazmik kuyruk (S) varlığı reseptörün stimülatör karakterli olduğunu göstermektedir (2DS1-2DS5 ve 3DS1). KIR 3DL3 ise yukarıda belirtilen bir gruba dahil edilmeyip, pseudogen olarak kabul görmektedir. Son çalışmalar, KIR 2DPI ve KIR 3DPI allellerini pseudogen olarak rapor etmektedir. KIR'larının yapısal ve fonksiyonel farklılıklarıyla sınıflandırılması çok önemlidir. Bunun yanı sıra lokuslara ait diziler ve allelik varyantların çözümlenebilmesi yönünde çalışmalar da devam etmektedir.

2DL1-2DL5 ve 3DL1-3DL2 olarak sıralanabilen KIR'leri, NK hücrelerinin sitolitik fonksiyonunu sınırlayan inhibitör sinyallerin iletilmesinden sorumlu tutulmaktadır. Hedef hücreler üzerinde bu reseptörlerin bağlandığı ligandların genellikle HLA Class I molekülleri olduğu bildirilmektedir. Populasyonda birçok birey; her üç major HLA C I epitopu için reseptörleri kodlayan inhibitör KIR genlerine sahiptir. KIR 2DL1, KIR 2DL2 ve KIR 2DL3 HLA C antijenlerine bağlanırken, KIR 3DL1'in HLA B antijenleriyle bağlandığı gösterilmiştir.

Bilinen stimülatör KIR (2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 2DS5, 3DS1), kısa sitoplazmik kuyruğa sahip olup, ITIM motifi taşımamaları ile karakterizedir. Ayrıca transmembran domenlerinde yüklü bir aminoasit rezidüsüne sahiptirler ve inhibitör sinyal taşıma özellikleri de yoktur. Stimülatör

karakterli KIR'ler için spesifik bir ligand net olarak bulunamamıştır. Ancak deneysel çalışmalar KIR 2DS1 ve KIR 2DS2'nin zayıf da olsa HLA antijenlerine bağlandığını göstermektedir. KIR 2DL4 hem inhibitör hem stimulator özelliği ile ön plana çıkmaktadır; fonksiyonu bugün için belirsizdir.

NK hücrelerinin klonal olarak dağılmış KIR repertuarı eksprese ettiği ve bunu değişik NK hücreleri üzerindeki rearanjmanı olmayan değişik KIR genleri grupları oluşturarak yaptığı gösterilmiştir. Genel olarak bireyin sahip olduğu tüm KIR genleri rasgele oluşmaktadır. İki yada daha fazla KIR genlerinin olası tüm kombinasyonları farklı NK hücrelerinde eksprese edilebilir. KIR kombinasyonlarındaki farklılık 2 faktörde sınırlanabilmektedir. Bunlardan birincisi; bütün NK hücrelerinde KIR 2DL4'ün ekspresyonudur, diğeri de bütün NK hücrelerinde (self) HLA Class I antijeni spesifik en az bir adet inhibitör NK hücre reseptörü olmasıdır. Self HLA Class I ligandlarıyla NK hücrelerinin inhibisyonu, uygun inhibitör KIR eksprese edilmediğinde lektin benzeri inhibitör reseptör olan (CD94 : NKG2A) ile gerçekleştirilebilir.

KIR ailesi genleri diğer bazı genlerle lökosit reseptör kompleksini (LRC) oluştururlar. Bu genler yoğun bir şekilde insan kromozomunda (19q13.4) kümelenmiş durumdadır. KIR lokuslarının sayısı bireyden bireye değişkenlik göstermesi nedeniyle farklı KIR haplotipleri oluşmaktadır.

İnsan popülasyonunda görülen farklı KIR haplotipleri, iki ana haplotip grubuna ayrılmıştır. A ve B olarak isimlenen bu haplotip grupları KIR 2DL ailesinin karakteristik elemanlarını içermektedir.

A grubu haplotipi hem KIR 2DL1 hem de KIR 2DL3'ün varlığı ve aynı anda KIR 2DL2'nin yokluğu ile karakterizedir. B grubu haplotipleri için bunun tam tersi geçerlidir. Yani KIR 2DL2'nin varlığı ve aynı zamanda KIR 2DL1 ve KIR 2DL3'ün olmaması ile beliren haplotip grubu B isimlendirilir. Yine B grubu haplotiplerde; çoğu inhibitör olmayan KIR olmak üzere KIR gen sayısında hatırı sayılır farklılıklar göstermektedir. A grubu haplotipi 7 lokus içerir. 2DL1, 2DL3, 2DL4, 2DS4, 3DL1, 3DL2, 3DL3. A haplotipi sadece bir stimulator KIR geni içermektedir.

Genotiplerin her iki grubu da şu ana dek analize edilen bütün popülasyonlarda görülmüş olmakla beraber; oranları farklı ırk ve etnik gruplarda değişmektedir. Ancak KIR gen lokusunun geniş genomik dizilemesi sonuçları ve popülasyon çalışmalarının neticeleri 3 KIR geninin hem A grubu, hem de B grubu haplotiplerde ortak olduğunu izlenimini vermektedir. Bunlar sentromerik sınırda yer alan KIR3DL3 pseudogeni, telomerik uçta yer alan KIR3DL2 geni ve KIR gen kümesinin ortasında yer alan KIR2DL4 genidir.

Değişik ırk ve toplumlarda KIR gen frekansı ve genotip tayini belirlenmiştir. Türk popülasyonunda benzeri geniş kapsamlı bir çalışma Diler ve arkadaşları tarafından tamamlanmıştır.

Toplumumuzdaki KIR genotiplerine bakıldığında, 2DL1 2DL3 2DL4 3DL1 3DL2 3DL3 2DS4 sekanslı genotipin en sık görüldüğü (%27.2) belirlenmiştir. 2DL1 2DL2 2DL3 2DL4 3DL1 3DL2 3DL3 2DS2 2DS4 genotipi %13.6 oranında görülürken, en sık görülen 3. genotip 2DL1 2DL2 2DL3 2DL4 2DL5 3DL1 3DL2 3DL3 2DS2 2DS3 2DS4 olmuştur (görülme oranı: %11.6).

KIR Gen Frekansları incelendiğinde beklenildiği üzere 2DL4, 3DL2, 3DL3, 3DP1 her bireyde bulunan aleller olarak göze çarpmaktadır.

NATURAL KİLLER RESEPTÖRLERİ VE HEMATOPOİETİK KÖK HÜCRE TRANSPLANTASYONU

NK hücreleri kendine toleranslı olmakla beraber, HLA ekspresyonunun regülasyonunu bozulmasını sağlayan malign ve viral enfeksiyon hücrelerin tanınmasında allojenik hücrelerin HLA ligand yokluğunu saptayabilir. NK hücrelerinin doğuştan bir allereaktif repertuarının varlığı, hematopoietik kök hücre transplantasyonunda bu hücre tipi için önemli fonksiyonlar yaptığı ileri sürülmüştür. Murin türü LRC KIR genlerine sahip olmamasına rağmen, fonksiyonel anlamda eşit görünen Ly49 reseptörleri, bu allereaktif cevaptan sorumludur. Polimorfik insan NK reseptörlerinin tanımıyla birlikte, insan popülasyonundaki benzer etkilerin olabileceği öngörülmektedir.

HKHN, miyeloplastik sendromlar ve hematolojik tümörlerin bir çeşidi için tedavi edici bir terapidir. Ayrıca otoimmün hastalıklar ve bazı solid tumorler için bir tedavi kabul edilmiştir. İnsanda major doku uyumu kompleksinde polimorfizmin yüksek seviyede olmasından dolayı, bir HSCT donor için en iyi aday, bir HLA- matched sibling(kardeş)dir. Bu durum sadece hastaların yaklaşık %25inde mümkün olabilmektedir.

Başarılı bir HKHN protokolü geliştirilerek, bir HLA haplotip için bilinçli olarak uyumsuz donörler kullanılmıştır. Bu protokol, postgraft sağkalım da artış ve düşük oranda GVHD için genetik farklılığı kullanır.

Hasta ve donörün HLA C uyumsuzluğu graft rejeksiyonu ve ve akut GvHD sıklığında artış ile karakterizedir ki bu NK hücrelerince yönetilen allotanimaya işaret eder. İlgili HLA ligandlarında hasta KIR genotipine göre uyumsuzluk Nakil sonuçları üzerine çok olumlu etkiler yapmıştır. Bu olumlu etkiler; allereaktif donör NK hücrelerinin GvHD i hasta dendritik hücrelerinin selektif olarak öldürülmesi ile azaltması, hasta T hücrelerinin öldürülmesi ile graft rejeksiyonunun önlenmesi ve rezidüel host tümör hücrelerinin tahrip edilmesi ile GvL (Graft versus Lösemi) olarak özetlenebilir. Ruggeri ve arkadaşları, sadece akut miyeloid lösemide hastalıksız sağkalımda da yararlı NK hücre etkileri görmüş ama akut lenfoid lösemi hastaları için bu mümkün olmamıştır. Küçük bir grup hasta üzerindeki genetik çalışma GVDH ın gelişimi ile KIR2DS aktivatör reseptörler varlığı arasındaki ters ilişkiyi ortaya koymuştur. İn vitro insan hemapoietik kök hücre kültürleri KIR den ziyade CD94/ NKG2 ve CD161 lectin-tip reseptörlerini anlatan NK hücrelerinin popülasyonunu, gen induksiyonunun sitokin- aracılığıyla anlaşılan sonucudur.

SOLID ORGAN TRANSPLANTASYONLARINDAKİ DURUM

Böbrek transplantasyonu da dahil olmak üzere tüm solid organ transplantasyonları için hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalarla, NK hücrelerinin rolü ortaya konmaya çalışılmaktadır. Akut rejeksiyonda NK hücrelerinin sayısının arttığı gösterilmiştir. Değişik lökosit markerler kullanılarak Natural Killer hücrelerinin erken dönem rejeksiyonda renal grefti infiltre ettiği, bu dönemi takiben T hücre ve makrofajların akınının izlediği bildirilmiştir.

Deney hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda, kronik vasküler rejeksiyon ile organların rejeksiyonunda NK hücrelerinin önemli bir rolü olduğunu ileri sürülmüştür. KIR2DS2 ve onun HLA-C ligandları, vasküler problemlerin gelişimi için bir risk faktörüdür ve NK hücreleri doğrudan aktif olan vasküler endotel hücrelerce tanınmaktadır.

KIR, NK hücreleri dışında T hücre alt grupları üzerinde de eksprese olduğu için akut rejeksiyon dışında kronik rejeksiyonda da etkili olduğu düşünülebilir. KIR adlı reseptörlerle vaskülarize organ greftleri (örn.böbrek) derinliğine çalışılmamıştır. Deneysel hayvan modellerinde NK hücrelerinin KIR adlı reseptörler aracılığı ile rejeksiyonda rol oynadığı ileri sürülmüştür. Benzeri rolün kronik vasküler rejeksiyonda da doğru olabileceği rapor edilmiştir.

KIR VE HASTALIKLAR

KIR reseptörlerinin hastalıkla bağlantısıyla ilgili genetik çalışmalarda, viral enfeksiyonlar ve otoimmün hastalıklar başı çekmektedir. Bundan başka, MHC ile otoimmün hastalık bağlantısı, spesifik KIR lerinin bu hastalık gruplarıyla da ilişkide olabileceğini düşündürmektedir. KIR ayrıca gebelik ve hematolojik hastalıklarda da önemli rol oynayabileceğini gösteren bulgular vardır

VİRAL ENFEKSİYONLAR:

NK hücrelerinin viral enfeksiyonlardaki önemli rolü, KIR ve HLA sınıf I ligandlarının özellikle İnsan İmmün Yetersizlik Virüsü (HIV), Hepatit C Virüsü (HCV) ve Sitomegalovirüs (CMV) enfeksiyonlarında araştırılmasına sebep olmuştur

HIV

HIV, bağışıklık sistemini baskılayan ve Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendromu(AIDS)'nda ilerlemeye sebep olan bir viral enfeksiyondur. HIV-enfekte bireylerde HLA-B allellerinin analizi, HLA Bw4 (KIR3DL1 ve KIR3DS1 ligandı) için homozigotluğun CD4+ (HIV enfeksiyonunda hastalığın ilerlemesiyle ilgili belirleyici) T hücre sayısındaki yavaş düşüşle ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, HIV ile enfekte olan 1000'in üzerinde bireyin analizinde; KIR3DS1 genotipi ve HLA-Bw4+ allellerinin bir alt kümesi(MHC sınıf I ağır zincirinin 80.pozisyonunda izolösine sahip (Bw4İle80) aktive edici KIR-HLA kombinasyonu olmayana göre daha yavaş ilerlemektedir. Gerçekten, Bw4İle80'in yokluğunda KIR3DS1, bu iki allelin sinerjik etkisini gösterdiğinden koruyucu değildir. Şimdiye kadar, KIR3DS1'in yüzey ekspresyonu tam olarak kanıtlanmamıştır; buna rağmen fonksiyonel deneylerde KIR3DL1 allotipleri için bir ligand olarak Bw4İle80'in Bw4+'den daha güçlü olduğu görülmektedir. Seksensekiz bireyle yapılan bir çalışmada HLA-Bw4'ün etkisinin AIDS'in ilerlemesi için engelleyici bir faktör olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada, HLA-B57 allellerine yakın benzerliği olan HLA-B58 alleli ile birlikte içeren bir grup olan HLA-B*57 süpertipine ait olan bir allele sahip bireyde koruyucu etki izlenmiştir. HIV enfeksiyonunda, genetik izlenimlerle fonksiyonel olarak uyumlu bu durumun NK hücreleri mi yoksa T hücreleri üzerindeki KIR3DS1'in mi ekspresyonu olduğu net değildir. T hücre reseptörüne karşı oluşturulan sinyaller, KIR-HLA etkileşimleriyle modüle edilebilir.

HEPATİT C VİRÜSÜ (HCV):

HCV'ye maruz kalmış bireyler ya tehlikesiz enfeksiyon geçirirler ya da artan bir şekilde kronik olarak enfekte olabilirler. Artan kronik enfeksiyonlar, son evrede akciğer sirozu ve hepatoselüler karsinomayı içeren akciğer hastalığı riskine sahiptirler. Dünyadaki 170 milyon bireyden fazlasını etkileyen genel bir kronik viral enfeksiyondur. HCV RNA için bir test uygulayarak enfeksiyona karar verilebilir. HCV'ye karşı antikor içeren ve artan HCV RNA pozitif olan bireyler kronik enfeksiyon durumundadırlar ve tanısı mümkün RNA'sız antikor içerenlerin ise virüsü temizlediği düşünülmektedir. Bu 2 grup bireyin KIR ve HLA genotiplerinin karşılaştırılması, inhibitör reseptör KIR2DL3'ün HLA-CAsn80 ile kombinasyonunun koruyucu bir bileşik olduğunu kanıtlamıştır ancak, bu koruma sadece enfeksiyonun düşük olduğu ve genlerin homozigotluğu olan bireylerde desteklenmiştir. Bu, HCV'de koruma için sayısal bir model oluşturmakta ve hem KIR2DL3 hem de HLA-CAsn80 için homozigot olan bireyler, KIR2DL2/KIR2DL3 için heterozigot olan bireylerden sayıca daha fazla KIR2DL3 korumasıyla inhibe olan NK hücresine sahiptirler. Bireylerin yaklaşık %99 bi KIR2DL1-pozitif olmasından dolayı HLA-CAsn80/HLA-CLys80 için heterozigot bireyler, KIR2DL1 tarafından inhibe edilmiş NK hücre havuzuna sahiptirler. Bu sonuçlar aynı zamanda, koruyucu etkinin NK hücrelerindeki KIR'in açıklamasında T hücrelerine göre daha belirgin olduğunu açıklamaktadır.

DİĞER PATOJENLER

MALARYA

Viral enfeksiyonların yanında KIR'ın patojenlere immün cevabının etkisi daha uzun sürmektedir. NK hücreleri, malarya parazitiyle enfekte olmuş eritrositlerle iletişim kurması ve inflammatör sitokin interferon-gamayı serbestlemesinden dolayı immün cevapta önemlidir. KIR3DL2*002 alleli ve enfekte olmuş eritrositlere NK hücresinin cevabı arasında bir ilişki bulunmuştur

GEBELİK

NK hücrelerinin gebe uterusun desiduası, bebeğin rahimde bulunmasının ilk evreleri ve fetal trofoblastın implantasyonu aynı zamanda gerekenden daha fazla sayıda oldukları bulunmuştur. Yetersiz plasantasyon, yükselen kan basıncı ve idrarda protein; epileptik hastalık atakları, gelişen fetal ve anne ölümü ile karakterize edilen eklempsiye sebep olan bir mekanizmadır. Yeterli plasantasyonun üremede önemli olduğu ve NK hücrelerinin bu işte önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir.

Trofoblast, maternal NK hücre fonksiyonlarını düzenleme potansiyelini göstererek NK hücre reseptörleri, HLA-A ve HLA-B'den çok HLA-C,-E ve -G için HLA sınıf 1 ligandları ile ilişkidir. Maternal KIR ve fetal HLA tipleri için çalışmalar bu genlerin pre-eklempsinin gelişimi için risk faktörleri olabileceğini öne sürmektedir. Pre-eklempsi çalışmasında, A haplotipi hastalığın gelişimiyle düşük derecede korelasyon göstermektedir; bu düşük korelasyon en azından bir HLA-CLys80 alleli içeren fetus korteksinde güçlendirilmiş olarak bulunmuştur. KIR2DL1: HLA-CLys80 etkileşiminin daha güçlü bir inhibisyon yaptığı bulunmuştur. Bunun yanı sıra, annede sunulan KIR genlerinin aktive edilmesinin ve pre-eklempsinin geneli arasında bir ilişki izlenmiştir. Bu veri aynı zamanda güçlü inhibitör sinyallerin ve zayıf aktivatör sinyallerin pre-eklempsi ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Fetal trofoblastlar tarafından yeterli desidua yayılımını önleyerek ve pre-eklempsiye neden olan spiral arterlerin yetersiz gelişimiyle birlikte yetersiz plasantasyona sebep olarak, inhibe edilen maternal NK hücreler, KIR ve HLA-C genlerinin doğal seçiliminin devam ettiğini sonucunu beraberinde getirmektedir. Çünkü, populasyon analizi AA KIR haplotiplerinin ve HLA-CLys80'in haplotipleri arasında bir uyum olduğunu göstermektedir. Bütün sonuçlara bakılırsa, bu mekanizma; KIR2DL1: HLA-CLys80'in KIR2DL3: HLA-CLys80'e göre daha kuvvetli inhibitör sinyal gönderdiği hipotezi üzerine kurulan Hepatit C için olan modele yakın bir mekanizma olarak görülmektedir.

Eşler arasında ortak HLA sayısındaki artış tekrarlayan spontan abortus la ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmalar özellikle HLA DQA1*0505 eşler arasında ortak ise RSA da artış olması bilgisi son çalışmalarda tartışmalı hale gelmiştir

OTOİMMUN HASTALIKLAR

ROMATOİD ARTRİT

KIR2DS2'nin CD4+ CD28- sitotoksik T hücrelerinde ekspresyonundan dolayı Romatoid vaskulit gelişiminde anlamlı şekilde artış göstermektedir. KIR aktivasyonunun uygun sinyalleşmesinde adaptör molekül, sitotoksik hücre-aktivasyon reseptör bağlantılı protein (KARAP) / DAP-12 doğrudan KIR2DS2 ile aktive edilebilir. Bu inflammatör reaksiyonu sürdürmek için başka bir mekanizma önerilmektedir. Romatoid artritli bireylerin bir alt grubunda Romatoid vaskulitle KIR2DS2 (aktive edici bir KIR) arasındaki ilişkiye işaret etmektedir. Bu çalışmalar, KIR'ın asıl olarak NK hücreleri üzerinde açıklanmasına rağmen onların T hücrelerini değiştirmek için ekstra özelliklere sahip olduğunu ve böylece kazanılmış immün cevabı direkt olarak etkilediğini açıklamaktadır.

DIABETES MELLİTUS

Diabetiklerde KIR2DS2 ve KIR2DL2 nin kontrollere göre azaldığı saptanmıştır. Ancak örneklemin sadece Kuzey İrlanda ve Finlandiya da yapılmış olması bu verinin doğrulamasının yapılmasını gerektirmektedir.

BEHÇET HASTALIĞI

İdiyopatik, multisistem, kronik inflamatuvar bir hastalık olan ve genel tekrarlayan genital ülserler ve oküler inflamasyonla karakterize olan Behçet Hastalığında KIR ların rolü sorgulanmaktadır. HLA B51 in Behçet hastalarında yüksek görülme sıklığı ve bu KIR antijenin beraberinde HLA Bw 4 ü taşıyor olması önemlidir. KIR 3DL1 in ligandı olması nedeni ile önemlidir. Middleton D, Diler AS 2007 yayın aşamasında). Yine bu çalışmada ligandsız prezante olan KIR 3DL1 de ki düşüş dikkat çekicidir.

PSORİASİS VE DİĞER HASTALIKLAR

Psoriasis vulgaris, HLA sınıf I molekülü Cw6 ile ilişkili, bir deri hastalığıdır. HLA sınıf I alleli, HLA-CLys80 grubunun bir elemanı olup, KIR2DS1 (aktivatör) ve KIR2DL1 (inhibitör) için bir ligandır. Avrupa ve Japon kaynaklı genetik çalışmalar, hem tek hem de HLA-Cw6 ile kombinasyonlu KIR2DS1 frekansında artışı göstermiştir. Psoriatik artirit, HLA-Cw6 birlikteliğini paylaşan benzer bir patolojidir ve bu hastalığın fenotipini değiştiren ekstra genetik komponentlere sahiptir. Psoriatik artropati (PsA) li bireylede yapılan geniş bir çalışmada bu hastalığın aktivatör reseptörü (ligand etkileşimleri) etkileyen KIR ve HLA sınıf I haplotipleriyle alakalı olduğunu öne sürmektedir. Bu modelde, aktive edici KIR'e (KIR2DS1 ya da KIR2DS2 den biri) sahip ve C grubu 1 ya da C grubu 2; HLA-C ligandı için homozigot bireylerin PsA gelişmesinde en fazla hassasiyete neden olur ve bunun yanında hiç aktive edici KIR içermeyenler neredeyse hastalıktan tedavi edilirler.

REFERANSLAR

1. Carrington M, Marin MP, The impact of variation at the KIR gene cluster on human disease. *Curr Top Microbiol Immunol*, 298:225-57, 2006
2. Dokun AO, Chu DT, Yang L: Analysis of in-situ Naturel Killer cell responses during viral infection. *J. Immunol.* 167 : 5286, 2001.
3. Howe EC, Wlodarski M, Ball EJ, Rybicki L, Maciejewski JP: Killerimmunoglobulin like receptor genotype in immune mediated bone marrow failure syndromes, *exp Hematol*, 33; 1357-1362, 2005.
4. Middleton D, Williams F, Halfonny IA: KIR Genes, *Transpl Immunol.*; 14(3-4):135-142, 2005.
5. Ruggeri L, Copanni M, Urbani E, Perruccio K, Shlomchik WD, Tosti A, Pasatis, Rogaia D, Frassoni F, Aversa F, Martelli MF, Velardi A: Effectiveness of Donor naturel killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science*. 15; 295 (5562), 2097 -2100, 2002.
6. Diler AS, AynaTK, Senturk CH, Karaman V, Gurtekin M, Carin m: KIR Gene diversity in Turkish population. *Tissue Antigens*, 67(6), 571, 2006
7. Middleton D, Ayna TK, Williams F, Azizlerli G, Tozkır H, Diler AS: Role of KIR genes in Behçet's Disease. (*Tissue Antigens*- 2007 hazırlanıyor).
8. Varla- Leftherioti M, Keramitsoglou T, Vlachou SM, Papadimitropoulos M, Kontopoulou AV, Tsekoura C, Sankarkumar U, Paparistidis N, Ghosh K, Pawar A, Vrani V, Danilidis M, Parapanissou E, Diler AS, Çarin M, Stavropoulos GC: 14th International HLA and Immunogenetics Workshop: report from the reproductive immunology component, *Tissue antigens* 69 s1297-303, 2007

HEMATOLOJİK MALİGNANSİLERDE GENETİK YAKLAŞIMLAR

Doç. Dr. SİBEL BELKER KARAÜZÜM

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD. ANTALYA

Yapılan epidemiyolojik, klinik, ve deneysel çalışmalar kanserin çok basamaklı ve çok fazla etkenle ortaya çıkan kompleks bir hastalık olduğunu göstermiştir. Kanserın ortaya çıkışında ana etken olarak genetik ve epigenetik mekanizmalar rol oynamaktadır. Normal hücrenin tümörleşmesine neden olan genetik mekanizmalar: ya kromozomal düzeyde ya da DNA düzeyinde ortaya çıkan somatik mutasyonlardır. F. Mitelman'ın 2005 kanser veri tabanına bakıldığında 52.000 kayıtlı kromozomal anomali belirlenmiş kanser olgusu bulunmaktadır. Bu olguların %10'nunu lenfomalar, %27'sini solid tümörler, % 63'ünü ise hematolojik malignansiler oluşturmaktadır. Hematolojik malignansiler lenfoid ve myeloid hücre kökenli oluşlarına göre başlıca dört grupta toplanmaktadır. ALL(Akut Lenfoid Lösemi); çocukluk çağıında en yaygın görülen ancak 65 yaş üzeri erişkin bireylerde de gözlenebilen alt grubu, AML(Akut Myeloid Lösemi) ise hem erişkin hem de çocukluk döneminde gözlenen diğer alt grubu oluşturmaktadır. KLL(Kronik Lenfoid Lösemi); sıklıkla 55 yaş üzeri ve nadiren de daha genç erişkinlerde görülen, ancak çocukluk döneminde gözlenmeyen alt grubu, KML(Kronik Myeloid Lösemi) ise başlıca erişkinlerde görülmekle birlikte, çocukluk çağı lösemilerinin % 3-5'ni oluşturmaktadır.

Konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle bugüne kadar tanımlanmış olan kromozomal abnormaliteler, multidisipliner yaklaşımla morfolojik ve immüfenotipleme ile birlikte değerlendirilerek, lösemilerin klinik alt gruplarının sınıflandırılmasında, doğru tanı konmasında, hastalığın prognozu ve tedaviye yanıtın takibinde kullanılmaktadır. Bazı sitogenetik bulguların iyi prognoz ile ilişkili olduğu, bazılarının ise kötü prognoza eşlik ettiği, bazı alt tiplerde ise sitogenetik bulgular ile hastalığın tanısının tam doğruluk ile örtüştüğü bilinmektedir. Örneğin 9 ve 22'inci kromozomlar arasındaki translokasyon sonucu oluşan Philadelphia kromozomu, KML tanılı olguların % 95'inde gözlenmekte ve kesin tanı konulmasını sağlamaktadır. KML'de iyi prognozla ilişkili sadece tek bir prognostik markırın bu kadar yüksek sıklıkta olması, hedeflendirilmiş ilaç tedavisinin (tirozin kinaz inhibitörü olan ST1-571 (Glivec) kullanımı) başarı ile uygulanmasını sağlamıştır.

AML tanılı hastaların sitogenetik bulguları KML olgularına göre çok daha kompleksdir. Hem klinik hemde genetik anomalileri açısından oldukça heterojen bir grup olması nedeni ile burada AML üzerinde yoğunlaşılmıştır. KML'de tek tip anomali gözlenirken AML'de bu güne kadar yaklaşık 200 farklı yapısal ve sayısal kromozom anomalisi tanımlanmıştır. Bunların içinde t(8;21)(%6), t(15;17)(%7) gibi füzyon gen oluşturan translokasyonlar ve inv(16)(%7) en yaygın görülen yapısal anomalilerdir. Mikroskopik olarak tanımlanabilen kromozomal abnormaliteler AML'li olguların % 50-60'ında görülmekte, bu olguların % 10-20'sinde ise kompleks karyotip belirlenmektedir. Geriye kalan %40-%50 AML 'li olguda kromozomal düzensizlik gözlenmemektedir. Son yıllarda AML'li olgular sitogenetik bulgularına göre 3 prognostik kategoride değerlendirilmektedir: t(15;17), t(8;21) ve inv(16), iyi prognoz (favorable risk grubu); kompleks karyotip, inv(3)/t(3;3), t(6;9), t(6;11), t(11;19), 5 ve 7 nolu kromozomların uzun kolunda delesyon, 5 ve 7 nolu kromozomların sayısal anomalisi kötü prognoz (unfavorable risk grubu); t(9;11) translokasyonu, 7,9,11, ve 20 nolu kromozomların uzun kollarında delesyon ve 8,

11,13, 21. kromozomların sayısal artışı,Y kromozom kaybı ya da normal karyotipin bulunması intermediate risk grubunu oluşturmaktadır.

Görüldüğü gibi kemik iliğinde sitogenetik olarak normal bulunan bir olgu intermedia risk grubunda değerlendirilmekte ve tüm AML olguları içinde en büyük alt grubu oluşturmaktadır. Ancak, son yıllarda bu grup hastaların uygulanan tedavi yöntemlerinden yarar görmedikleri gözlenmektedir. Verilen tedaviye yanıtındaki değişkenlikler ise sitogenetik olarak normal olan AML'li olgularda moleküler heterojenitenin varlığı ile açıklanmaktadır. Spesifik gen mutasyonlarının varlığı veya yokluğu ya da gen ekspresyonundaki değişiklikler hastanın prognozunu etkilemektedir. Sitogenetik olarak normal olan AML'li olgularda NPM1 ve CEBPA genindeki mutasyonlar iyi prognoz, FLT3-ITD, MLL-PTD mutasyonu ve BAALC ve ERG genlerinin aşırı ekspresyonları ise kötü prognoz ilişkili genetik markırlar olarak göze çarpmaktadır.

AML'de gözlenen çoklu genetik abnormaliteler incelendiğinde pek çok genetik değişikliğin sonucunda ya lösemik kök hücre proliferasyonunun kontrolden çıktığı, ya normal hematopoietik farklılaşmada hata olduğu ya da spontan/kemoterapi indüklü apoptozun gerçekleşmediği gözlenmekte ve bu yollara yönelik terapatik ajanlar gündeme gelmektedir. Bunlara ; proliferasyonun inhibisyonu amacı ile, işlev kazandıran gen mutasyonu olan ITD mutasyonlarının hedeflenmesi, sinyal iletiminin engellenebilmesi için FLT3 inhibitörlerinin kullanılması,ve ilaca dirençliliğin inhibisyonunda aşırı ekspre olan antiapoptotik bcl-2'nin hedeflenmesi örnek olarak verilebilir.

Genetik değişikliklerin bilinmesi en önemli adımı oluştursa da, bu değişikliklerin aslında löseminin başlamasında önemli olduğu, ancak tek başına bir genetik anomalinin lösemi fenotipini tamamen ortaya çıkarmada yeterli olmadığı ve pek çok genetik değişikliğin koordineli olarak iş görmesi gerekliliği önem kazanmaktadır. Bu kooperasyonların tanımlanmasındaki yeni yaklaşımlar ise tüm genomu taramaya yönelik çalışmalardır. CGH, array-CGH ve SNP arraylar son dönemde oldukça güncellik kazanmıştır. Özellikle SNP array çalışmalarında kromozomal olarak saptanamayacak genomik bölgelerin homozigositesi belirlenebilmekte ve böylece UPD(Uniparental Dizomi) 'ye bağlı homozigot mutasyon sonucu tumor supressör gen kaybı gösterilebilmektedir.

Bu çalışmalarla elde edilecek bilgiler, transforme fenotipin ortaya çıkışı ve devamlılığında kritik yolların ve bu yollardaki gen ürünlerinin belirlenmesine, ve böylelikle hematolojik malignansilerin her bir alt tipindeki genetik ve epigenetik değişikliklerin belirlenmesine olanak sağlayacak ve prognostik önemi olan löseminin tüm alt gruplarına spesifik yeni moleküler markırların tanımlanabilmesi ve yeni terapatik ajanların geliştirilmesi mümkün olabilecektir.

TIP EĞİTİMİ BÜTÜNÜ İÇİNDE TIBBİ BİYOLOJİ EĞİTİMİ

Prof. Dr. AYŞE ÖZER

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD. İSTANBUL

Tıbbi biyoloji ve Genetik eğitimi tıp eğitimindeki gelişmeler ve stratejilerden ayrı düşünmek mümkün değildir. Bu eğitimdeki ana hedef; çağdaş ve modern biyoloji bilgilerinin insan sağlığı, hastalıkları yönünde teşhis, tedavi ve araştırmalarda kullanma yetenek ve becerisini öğretmektir.

Tıp eğitiminin önemli bir kısmını oluşturan "ön lisans eğitimi"nde Tıbbi Biyoloji eğitim ve öğretimi ana öğelerden birisidir. Dünyadaki genel eğilim ve uygulama şöyledir: Liseden sonraki "Tıp öncesi eğitim (ön lisans eğitimi veya kolej eğitimi)" daha sonraki "Mesleki eğitim (lisans eğitimi)" için gerekli temeli oluşturan önemli bir hazırlık eğitimidir. Bu eğitim bizim tıp eğitimimizde ilk üç yılda verilen "Temel Bilimler eğitimi" olarak tanımlanmaktadır.

Tıbbi Biyoloji eğitimi Tıp Eğitiminin genel stratejileri içinde düşünmeliyiz. Bunun için son yıllarda bu konuda yapılan çalışmalara özet olarak bakar isek:

I- TIP EĞİTİMİNDE ULUSLAR ARASI STANDARTLAR

A- Uluslar Arası Çalışmalar ve İlişkiler:

Bu konuda 1984 yılından beri Tıp eğitimi günün şartlarına uydurmak ve yönlendirmek için çalışmalar yapılmaktadır. Bu konuda çalışan en önemli kuruluş

"Dünya Tıp Eğitimi Federasyonu"dur, (WFME).

1-Bu süreçte aşağıdaki ana çalışmalar yapılmaktadır:

- Dünya Tıp Eğitimi Konferansı ve Edinburg Bildirgesi (1988),
- Dünya Sağlık Kurulu Onayı (WHO), 1989,
- Dünya Sağlık Kurulu Önergesi, 1995.
- Bu çalışmalarda Tıp Eğitiminde,
 - Değişiklik ve ihtiyaçlar,
 - Küresel çekirdek program,
 - Küresel çekirdek programın bölgesel ulusal gereklere uyarlanması.

-Kalite ve Akreditasyon Önerileri:

- Uluslar arası Tıp okulları sicili oluşturulması,
- Dünya Tıp Okulları Rehberi hazırlanması,
- Uluslar arası Akreditasyon Kurulu oluşturulması,
- Akreditasyon Ölçütlerinin Belirlenmesi.

Bir tıp okulunun Dünya Akreditasyon Sicili'ne geçirilmesi için Uluslar arası Akreditasyon Kurulu tarafından onaylanması gerekmektedir. Bu çalışmalara katılım gönüllülük esasına göre dir.

Tıp Eğitimi Konusunda Ulusal Çalışmalar:

Ülkemizde de Tıp Eğitiminin kalitesini artırmak için Fakülteler bazında ve Ulusal boyutta çalışmalar vardır. Bu konuda:

I. Ulusal Tıp Eğitimi Kongresi, 12-15 Kasım 1988, Ankara.

II. Ulusal Tıp Eğitimi Kongresi, 24-28 Nisan 2001, İzmir.

Türk Sağlık Eğitimi Şurası, 24-26 Kasım, 2000, Ankara.

Türkiye Tıp Fakülteleri İçin Ulusal Çekirdek Eğitim Programı oluşturma.

Bütün Tıp Fakültelerinin katıldığı bu çalışmada, Tıp fakültelerinin mezuniyet öncesi eğitimindeki amaç ve hedefleri belirlenmiştir. Bu çekirdek eğitim programı başlıca 3 bölümden oluşmaktadır.

Birinci bölümde "Hastalık-Durum-Semptom Listesi": 396 madde.

İkinci bölümde "Beceriler": 152 madde.

Üçüncü bölümde "Tutum ve Davranışlar": 26 madde.

B-Avrupa Birliğince Tıp Eğitimi Üzerine Yapılan Çalışmalar:

Avrupa Birliğinde Tıp Eğitimi üzerine yapılan çalışmalar şu temel ilkeler üzerine kurulmaktadır:

Tıp Eğitimi Şunları Sağlamalıdır:

a- Bilgi, b-Beceriler, c-Davranışlar, d-Tutumlar.

- 6 yılda ortalama 5500 saat teorik ve pratik eğitim, her akademik yıl 2-3 dönem ve en az 30 hafta olmalıdır,
- Temel bilimler ile klinik bilimlerin entegrasyonu sağlanmalıdır,
- Pasif eğitimden aktif öğrenmeye geçilerek öğrencilerin derse katılımları sağlanmalıdır,
- Eğitim metodolojisi öğrenci merkezli olmalı temel ve klinik sorunlar multidisipliner bir bakış açısı ile çözümlenmeli,
- Başka bir üye devletin dilinin öğrenilmesi özendirilmelidir,
- Bir Avrupa Müfredatı modeli geliştirilmelidir,
- Öğrencilerin belirlenen 19 adet içerik alanında eğitim almaları sağlanmalıdır,
- Diploma alındıktan sonra bağımsız mesleki uygulama izni alabilmek için en az bir yıl süre ile denetim altında klinik eğitim yaptırılmalıdır.
- Tıp eğitimi ve sınavların harmonizasyonu ve olası bir Avrupa Tıp Sınavı süreci başlatılmalıdır,
- Önce Ulusal düzeyde sonra Avrupa Topluluğu düzeyinde kalite güvencesi ve denetimi yapılmalıdır.

C-Amerika Örneği:

Amerika'da tıp eğitimi yapabilmek için tıp öncesi eğitim veren 4 yıllık bir ön lisans programının (Kolej, BSc: Bachelor of Science) bitirilmesi gerekir. Bu eğitimde ana alanlar şunlardır: 4 yıl İngilizce, 2 yıl laboratuvar bilgileri, 2 yıl edebiyat, 2.5 yıl matematik bilimler ve Sosyal çalışmalar ve yeterli miktarda biyoloji ve kimya dersleri.

Bu eğitimde başarılı olan adaylar ve not ortalaması uygun olanlar "Tıp Okulu Giriş Testi'ne girebilirler (Medical College Admission Test- MCAT). Bu test 4 ana bölümden oluşur:

1. Bölüm: Sosyal bilimler alanından verilen metinlere ait anlama, yorum , ana fikir v.b. konularında sorular.

2. Bölüm: Fizik, Matematik ve Kimya soruları,
3. Bölüm: İyi ifade ve yazma yeteneğini ölçen Kompozisyon sorusu,
4. Bölüm: Bu bölümde Biyoloji ve Organik Kimya soruları vardır.

Amerika'da Tıp Lisans eğitimi 4 yıldır. İlk iki yıl "Temel Bilimler dönemi" kalan iki yılı da "Klinik Bilimler Dönemi"dir. Her Tıp Fakültesi giriş şartlarını kendisi belirler ve öğrencisini kendisi seçer. Ancak Başarılı BSc titri (4 üzerinden 3.70 ve üzeri), Amerika vatandaşı olmak veya oturma iznine sahip olmak, başarılı bir özgeçmiş aranan şartlardır. Tıp okullarından mezun olan öğrenciler anlaşmalı eyalet hastanelerinde 1 yıl süre ile maaşlı internlik yaparlar. Bu dönemi takiben öğrenci kabul alabilirse 2 ile 6 yıl sürecek uzmanlaşma programlarına katılır.

II- TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK EĞİTİMİ

A- PROGRAMLARIN OLUŞTURULMASI

Ülkemizde tıp eğitimi öncesi Amerika örneğinde olduğu gibi bir kolej eğitimi zorunluluğu olmadığı için öğrencilerin yeterli yönlendirme ve formasyonu alıp almadıkları konusunda elimizde bir veri yoktur. Dolayısıyla Tıbbi Biyoloji programı bu eksiklerin tamamlanması işlevini de yüklenmektedir. Ülkemizdeki çekirdek Tıbbi Biyoloji iki ana alt disipline ayrılır; Tıbbi biyoloji ve Tıbbi Genetik.

Tıbbi Biyoloji Eğitimi:

Tıbbi Biyoloji Eğitimi Güz yarı yılı boyunca devam etmelidir.

Tıbbi Biyoloji eğitiminde ana hedef yani programın ağırlıklı bölümü, "Hücre Biyolojisi" olmalıdır. Hücre tıbbi bilimlerde ve insan sağlığı ve hastalıklarında bir indekstir. Hastalıkların büyük bir bölümünde hücresel veriler ve patolojiler yol göstericidir.

Hücresinin ince yapısı (ultrastructure) ağırlıklı olarak moleküler düzeyde eksiksiz verilmelidir. Bu tıbbi bilimlerde ve öğrencilerin üst sınıflarda alacağı formasyonda önemli temeldir

Tıbbi Genetik Eğitimi:

Tıbbi Genetik eğitimi bahar yarı yılı boyunca devam etmelidir.

Bilindiği gibi Uzmanlık tüzüğünde yapılan değişikliklere paralel olarak bir çok tıp fakültesinde Tıbbi Genetik ana bilim dalları kurulmuştur. Ancak bu iki ana bilim dallarının görev alanları ve görev sınırlarının belirlenmesinde bir kargaşa yaşanmaktadır. Bizim düşüncemiz Dönem-I de okutulan "Tıbbi Biyoloji ve Genetik Dersinin verilmesi bu zamana kadar olduğu gibi Tıbbi Biyoloji ana bilim dalının görev alanında olmalıdır. Bu programın içeriğini üst sınıflardaki genetik etiyolojili hastalıkların anlaşılması için "temel tıbbi genetik konuları" oluşturmali.

Bu programda:

Genetik materyalin moleküler ve kromozomal düzeyde incelenmesi yani moleküler genetik ve sitogenetik konuları olmalıdır.

Son yıllarda çok yoğun ve yeni araştırma alanlarını kapsayan "Genetikte Modern Konular" kapsamında örneğin Kanseri genetiği, Biyoteknoloji (rekombinant DNA teknolojisi) ve tıp bilimine katkılar, Genom Bilimi, Gen tedavisi, Sistem Biyolojisi v.b. konuları olmalıdır.

Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalında ise daha çok genetik etiyolojili hastalıkların teşhis ve tedavisine yönelik sendromlar ve dismorfijiler konusunda klinik genetik eğitime ağırlık verilmelidir.

B- UYGULAMALAR ve LABORATUAR ÇALIŞMASI

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Eğitiminde tüm yıl boyunca en az 15 günde bir gün laboratuvar çalışması yapılmalıdır.

Bu çalışmada öğrenciler:

- Uygulama disiplini,
- Grup çalışması eğitimi,
- Mikroskop ve alet kullanımı eğitimi,
- Hücrenin görsel incelemeleri,
- Kalıtım materyalinin elde edilmesi ve incelenmesi

C-DERSİN İŞLENİŞİ VE PEDAGOJİK YAKLAŞIM

1- Çağdaş bir tıp eğitimi için Tüm dünyada daha çok kabul gören ilkelere uymak zorunluluğu vardır. Bunlar:

- Öğrenci merkezli eğitim,
- Problem çözmeye dayalı eğitim,
- Entegre eğitim,

Toplumun ve yerel gerekleri göz önünde tutan eğitim şeklinde sıralanabilir.

2- Kurumlar hangi eğitim sistemini uygularsa uygulasin Avrupa Topluluğu, Dünya Tıp Eğitimi Federasyonu (WFME), Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) önerilerine uygun olmalıdır.

3- Öğrencilerin kaynaklara ulaşması sağlanmalıdır.

4- Öğrenci eğitimine yönelik alt yapıyı oluşturan çağdaş ekipmanlar ile donatılmış anfiler, laboratuvarlar ve kütüphane, bilişim salonları v.b. alanlar olmalıdır.

5- Yönetici ve öğreticiler " Öğrenciler ne düşünüyor? Sorusunu sık sık sorarak bir diyalog ortamı oluşturulmalıdır.

6- Öğrenci Danışman Öğretim Üyesi ve koordinatörlükler öğrencilerin burs, kalma ortamları ve motivasyonlarını yükseltmesi için daha aktif görev üstlenmelidir. Bazı tıp fakültelerinde olduğu gibi "Tıp Eğitimi Üniteleri" oluşturulmalıdır.

7- Eğitim-öğretim bir vizyon işi olup "toptan kalite kavramı" için bir takım oyundur. Verimi artırmak için "Eğiticilerin Eğitimi" gereklidir.

TIBBİ BİYOLOJİK TERİMLERİN MİTOLOJİK KÖKENLERİ

Biyolog Prof. Dr. TUNCAY ALTUĞ

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD. İSTANBUL

Mitoloji, eski dönemlerde yaşamış birçok ulusun inandığı tanrıların, perilerin, devlerin yaşamlarını ve maceralarını anlatan mit'ler ve hikayelerdir.

Sanayi devrimi ile başlayan bilimsel patlamalar birçok yeni buluşun ortaya çıkmasına neden olmuştur. Doğaldır ki bu buluşları yapanlarda keşfettikleri şeylerin adlarını koyma hakkına sahip olmuşlardır. Batılı araştırmacılar kendi medeniyetlerinin kökeninin Eski Yunan kültürü olduğu inancında oldukları için, isimlendirmeyi o kültürden bilgilerle gerçekleştirmişlerdir. Birçok bilim dalında hatta bazı günlük yaşam olaylarının da isimlendirmesi mitolojiden yapılmıştır. O dönemde sağlık alanında da büyük gelişmeler oldu, günümüzde her gün yeni tanı ve tedavi prensipleri geliyor. Dolayısıyla tıp bilimi de bu akımdan fazlasıyla nasibini almaktadır.

Sağlık bilimlerinde bu açıdan ilk değinmemiz gereken konu niçin bütün sağlık bilimleriyle ilgili alanların amblemleri yılan olduğudur. Kökenine baktığımızda karşımıza Asklepios kültü çıkar. Asklepios (Latince Esculap) sağlık tanrısıdır, Yılanlı asa Asklepios'un bir elinde dururken, diğer elinde şifa içeren ilacın bulunduğu kutsal tas yer alır. Yılanın zehri uzun zamandır bir şifa kaynağı olarak görüldüğü içinde sembol olduğu düşünülmektedir. Tapınaklara şifa amacı ile gelen hastaların bazıları, zehri alınmış bir yılanla ısırtılırdı. İnanca göre yılanın ağız salgıları yaraları iyileştiriyordu. Ayrıca Asklepios'a göre hekim, yılan gibi sessiz olacak, kimsenin sırrını başkasına söylemeyecek, sabır ve sessizlik içinde iş görecektir. Yılanın amblem olmasıyla ilgili daha birçok öykü bulunmakla birlikte, son bir örnek daha verecek olursak yılan mevsimsel olarak deri değiştirdiği için ölümsüz kabul edilir. Dolayısıyla sonsuz şekilde yenilenmesi de göz önüne alınan öykülerden birisi olmuştur.

Bundan sonra Mitolojiden köken alan kelimeleri tıbbın dallarına göre sırasıyla alıp, kısaca öyküleriyle inceleyelim;

Bazı bakterilerin adları tamamen mitolojik öykülerden ve tanrıların özelliklerine benzetmelerden kökenleşmiştir. Örneğin Staphylococcus bakterilerinin morfolojisi üzüm salkımına benzediği için, adı mitolojide üzümü bulup kralına götürün çoban Staphylos'dan esinlenilerek konmuştur. Sürekli antijenik yapısını değiştirme özelliğindeki Proteus bakterisinin ismi de bir deniz tanrısı olan ve Poseidon'dan istediği şekle girebilme yeteneği almış olan tanrı Proteus'dan ilham alınarak verilmiştir. Ayrıca Tanrı Proteus'un denizde oluşturduğu dalgalara, bakteri Proteus'da üretildiği besi yerinin yüzeyinden dalgalı bir şekil oluşturarak karşılık vermektedir. Proteus'un tıptaki yeri bunlarla da bitmez Dermatolojide doğuştan dokularında aşırı lipit birikmesiyle kişinin görüntüsünü değiştiren hastalığa da "Proteus Sendromu" denmektedir.

Birçok anatomik terimde mitoloji kökenlidir. Gözümüzün renkli kısmı olan İris adını gökkuşağını simgeleyen görevi tanrılarla insanlar arasında haberleşmeyi sağlamak olan, bunu da gökkuşağından kayarak yerine getiren tanrıçadan almıştır.

Omurgamızın ilk omuru olan atlas omurunun adlandırılmasında Zeus'un cezalandırdığı Prometheus ve Atlas kardeşlerden , cezası sürekli dünyayı omuzlarında taşımak olan Atlas'tan esinlenilmiştir. Nasıl Atlas sürekli omuzlarında dünyayı taşıyorsa, kafatasımızı sürekli taşıyan ilk omurda bu benzetme sayesinde isimlendirilmiştir.

Truva savaşının kahramanı Akhilleus'un hikayesi artık herkes tarafından bilinmektedir. Onun tek ölümlü noktası olan topuğunun mitolojik hikayesi oradaki tendonu ilk bulan kişinin bu öyküyle ilişkilendirerek adını Aşil tendonu koymasına neden olmuştur.

Himen adını Hymenaios adlı gençlik, evlendirme ve düğün tanrısından, Omfolos (göbek) adı da Yunan Mitolojisinde dünyanın göbeği (evrenin merkezi) mitinden kökenlendirilmiştir. Tıpta Omfalosel, Omfalit, Omfalopropitoz, Omfalekte mi kelimeleri bundan türetilmiştir.

Biyolojide kullandığımız dişi ve erkek işaretleri de mitolojik sembollerden benzetilerek türetilmiştir. Dişilik işareti Afrodit (Venüs)'ün saplı aynası, erkeklik işareti ise Eros'un oku ile temsil edilmektedir.

Önemli biyolojik terimlerden birisi olan Hermafrodit'in mitolojik öyküsü de ilginçtir. Efsaneye göre Afrodit'in çocuklarından birisi Hermes'den olan Hermafrodit İda dağının eteğinde gölde yüzerken onu Salmakis adlı su perisi görür ve aşık olur. Utangaç delikanlı, su perisine onu iterek yanıt verir. Reddedilmesine karşılık su perisi sarılmaya devam eder. Delikanlı sürekli direnince peri şöyle bağıırır. "Ey tanrılar emir veriniz ki ne ben ondan ayrılalım, ne o benden ayrılınsın hiç kimse bizi birbirimizden ayırmasın" derhal iki vücut birleşir ve bir vücut olur. Dolayısıyla aynı vücutta hem erkeklik, hem dişilik organı bir araya gelir. İnsanda ender olarak da olsa görülen olgular isimlerini buradan alır.

Genetiğin önemli terimlerinden biri olan Kimera (Chimaera) yine mitolojik kökenli bir kelimedir. Mitolojide Kimera tek bedende çok kimlikli yaratıktır. Ağzından alevler püskürten bir aslana benzeyen yaratığın başı aslan, gövdesi keçi ve kuyruğu yılan şeklindedir. Bir canlının vücudunda farklı canlılara ait DNA'ların bulundurma durumunda verilen Kimera ismi de buradan kaynaklanmaktadır.

Yine genetik ve metabolik bir anomali olan Gigantizm'de adını mitolojideki dağ gibi gövdeleri, yilandan kuyrukları olan ve Olimpos'a saldırılarıyla ünlü olan Gigantlardan alır.

Penia mitolojide yoksulluk tanrısıdır. Bu tanrıdan esinlenerek vücudumuzdaki bir takım miktar düşüklüklerinden söz ederken adını kullanıyoruz, örneğin lökopeni, pansitopeni, trombositopeni gibi.

Febris, mitolojide ateş ve sıtma tanrıçası olarak kabul edilmiştir. Birçok tıbbi kelimeyle arkadaşlık oluşturan febris; ateşi özellikle ateşli hastalıkları temsil etmektedir. Febril konvüzyon, febril nötropeni bunun için güzel örneklerdir.

Kronos zamanı ve evreni simgeleyen mitolojik tanrıdır. Mitolojiye göre Zeus, Kronos'un dört at koşumlu arabasına binerek gökyüzünde dolaşmış. Kullandığımız Kronobiyoloji terimi de zamanı temsil eden tanrı Kronos'dan gelmektedir.

Morfin Sertüner adlı Almaz eczacı tarafından Farmakolojiye 200 yıl önce sokulmuş bir maddedir. Sertüner elde ettiği bileşiği kendinde ve arkadaşlarında denedikten sonra maddeye Yunan mitolojisindeki rüya tanrısı Morpheus'a izafeten Morfin adını vermiştir. Morpheus insanlara uykuda çeşitli biçimlerde görülen düşleri simgeler.

Hypnos'da Yunan Mitolojisinde uyku tanrısıdır. Hypnos yumuşak sedirinde yatar, mağarasında haşhaş tütsüler bulunur. Çevresinde düşlerinde yaratıcısı oğulları yer alırdı. Hypnos günün yorgunluklarını atmak için tüm canlı ve cansızları uyutarak dinlendirirdi. Günümüzde ki Hipnoz kelimesinin nereden geldiğini sanırım açıklamaya fazla gerek kalmadı.

Sağlık bilimlerinin genel terimlerinden biri olan Hijyen'de mitolojik kökenlidir. Hygieia yunan mitolojisinde sağlık tanrıçasıdır ve hekim tanrı Asklepios'un kızı ve yardımcısıdır. Hygieia yalnız hasta insanlara değil, hayvanlara da bakar. Bazı tasvirlerde yılan Hygieia'nın tuttuğu kaptaki sıvıyı içerken gösterilir.

Tıbbi biyolojinin önemli ilgi alanlarından biride geriatridir. Bilindiği gibi geriatri yaşlılıkla meydana gelen değişiklikleri, hastalıkları inceleyen bilim dalıdır. Bir anlamda yaşlılık bilimidir. Bilim dalının adının kökeni mitolojide ihtiyarlık-yaşlılık tanrısı olarak kabul edilen Geras'dan gelir. İnsanlar yaşlanmaya başladığında Geras onları türlü hastalıklarla kuşatır ve zayıf düşürdü. Geras mitolojide kötü bir tanrı olarak kabul edilmiş ve mitoloji yazarları tarafından ölümüne hükmedilmiştir. Daha sonrada öykülerinde Herkül'e onu mağlup ettirmişlerdir. Yaşlılıkla ilgili kullandığımız bir diğer kelime olan Senil'de yine mitolojik bir kelimedir. Bilindiği gibi senil demans, senil amfizem, senil purpura gibi yaşlılıkla görülen olayların tanımlanmasında kullanılır. Senius adlı tanrıdan türetilmiştir. Senius'un ihtiyarlığa gözcülük yaptığı kabul edilirdi. Senius, Geras'ın aksine yaşlılıkta insanların başına dertler açıp bir belaya dönüşmüyor, tam aksine yaşlılıkla birlikte gelen zorlukları aşma yolunu gösteriyor.

Birçok hastalığın adı veya semptomları görünüşlerinden esinlenerek mitolojik isimler almışlardır. Bunları şöyle örnekleyebiliriz:

Caput medusa (Medusa başı): Vena portanın normal kan akımının engellendiği durumda göbek çevresinde genişlemiş venlerden oluşan yumak görünümüne tıp literatüründe verilen isimdir. Portal hipertansiyona neden olan birçok hastalıkta caput medusa görülebilir. Medusa mitolojide Gorgo adı verilen dişi yaratıklardan biridir saçları yılanlardan oluşmuştur. İşte göbek çevresindeki damarların görüntüsü Medusa'nın saçlarına benzetilerek bu isim konmuştur.

Risus sardonicus: Bu olay tetanos hastalığının en önemli bulgularından biridir ve yüz kaslarının kasılması sonucu tetanos hastalığındaki sırtış görünümüne verilen isimdir. Bu olayda dudaklar dışa çekilmiş, ağız ve dişler görünecek şekilde yarı açılmıştır. Yunan mitolojisinde neşe ve kahkaha tanrısı olan Risus tetanostaki bu semptomu isim vermede köken oluşturmıştır.

Priapizm: Bu sendrom cinsel uyarılma ya da istek olmaksızın penisin sürekli ağrılı sertleşmesidir. Adını mitolojideki tanrı Priapos'dan alır. Toprağın bereketini ve verimliliğini temsil ediyordu. Bereketin sembolü olmasının nedeni ise devamlı ereksiyon durumundaki penisiydi. Priapizm sendromu işte bu benzerlikten dolayı adını Priapos adlı tanrıdan almıştır.

Tıbbi terimler içinde mitolojinin en fazla dahil olduğu alan şüphe yok ki psikiyatridir. Öncelikle bilim dalının kendi adı mitolojideki Psykhe'den gelmektedir. Mitolojik öyküsünde Eros'un sevgilisi olan güzelliğiyle Afrodite'yi bile kıskandıran ama güzelliği sürekli başına bela olan Psykhe yunanca da ruh anlamına gelir. Ayrıca akıl, zihin ve yaşam anlamlarında da kullanılmaktadır.

Psikiyatride Panik, bulunduğu yerdeki bütün hayvanları korkutup, bilinçsizce sağa sola kaçmalarına neden olan Pan adlı keçi ayaklı, kuyruklu, sakallı, boynuzlu mitoloji kahramanından isimlendirilmiştir. Fobi de yunanca Phobos kelimesinden türetilmiştir ve Phobos yunan mitolojisinde Ares'in mahiyetindeki korku tanrısıdır (Akrofobi, Klostrofobi, Araknefobi, Zoofobi gibi). Psikanaliz kuramında, kız çocuğunun babasına karşı cinsel istek duyup, annesini kendisine karşı rakip olarak görmesi "elektra kompleksi" olarak adlandırılır. Bu sendromun adlandırılması da mitolojide annesini öldürmesi için erkek kardeşi Orestes'e

yardım eden Elektra'nın öyküsünden esinlenerek yapılmaktadır. Tam aksine erkek çocuğun annesine ilgi duyması olgusu da Freud tarafından Oidipus kompleksi olarak adlandırılırken mitolojinin bahtsız kahramanlarından Oidipus'un öyküsünden faydalanmıştır. Narsistik kişilik bozukluğunun öyküsü ise mitolojinin çok kişi tarafından iyi bilinen bir öyküsüdür..

Bütün bu saydıklarımızın dışında birçok biyolojik kelimenin daha mitolojik kökenini biliyoruz. Örneğin Flora, Arakne, Defne, Asteria, Daktyller, Hidra.Bu liste tabiki çok daha fazla uzatılabilir..

Kaynaklar

1. Ateş M: Mitolojiler ve Semboller. Ana tanrıça ve Doğurganlık Sembolleri. 2 . Baskı Aksiseda Matbaası İstanbul 2002.
2. Bayladı D: Mitoloji Sözlüğü. Klasik Mitologyada Tanrılar-Olaylar-Kahramanlar. Say Yayıncılık İstanbul 2005.
3. Bayladı D: Açıklama ve Yorumlarıyla Klasik Mitolojide En Güzel Aşk Masalları. Bulut Yayıncılık İstanbul 2005.
4. Can Ş: Klasik Yunan Mitolojisi İnkılap Kitabevi İstanbul 1994.
5. Cömert B: Mitoloji ve İkonografi De Ki Basım Yayım Ltd. Şti. Ankara 2006.
6. Hamilton E: Mitologyya çeviri: Ülkü Tamer Varlık Yayınları 13. Basım 2004.
7. Karol S, Suludere Z, Ayvalı C: Biyoloji Terimleri Sözlüğü. Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu Türk Dil Kurumu Yayınları Ankara 2000.
8. Özden K: Tıp, Tarih Mitoloji Ayraç Yayınevi Ankara 2003.

KANSER OLUŞUMUNUN MOLEKÜLER MEKANİZMALARI VE KANSERE GENETİK YATKINLIK

Prof. Dr. ÜNAL EGELİ

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD. BURSA

Kanserin Tanımı

Kanser, yapısal düzenlerinde meydana gelen özel değişiklikler(transformasyon) sonucu, hücrelerin, organizmanın denetim mekanizmalarına tabi olmadan çoğalarak, bireyin varlığını tehdit eder hale gelmesi olarak tanımlanabilir.1980'li yıllarda kanserin genlerin hastalığı olduğu hipotezi ortaya atılmış, daha sonraki yıllarda gerçekleştirilen moleküler genetik ve gen analizi çalışmaları ile kanserin genetik bir hastalık olduğu gösterilmiştir.Kanserleşmede dört tip gen sınıfı etkilidir.Bu genler sırasıyla:

- 1-Onkogenler
- 2-Tümör Baskılayıcı Genler
- 3-DNA Tamir Genleri
- 4-Mikro RNA genleridir.

ONKOGENLER'İN KANSERLEŞMEDEKİ ROLLERİ

Onkogenler, hücre büyümesi ve bölünmesinden sorumlu, normal hücre genleri olan proto-onkogenlerin nokta mutasyonları, gen amplifikasyonu, translokasyon ve delesyon olayları, retroviral promotör veya enhancer entegrasyonu ve antionkogen kaybı gibi nedenlerle aktif hale gelmiş şekilleridir.Bu genlerin ürünü olan mutant proteinler hücre membranında reseptör, hücre membranının sitozolik kısmında tirozin kinaz,sitoplazmada transdüser, nükleusta ise transkripsiyon faktörü özelliği göstererek hücre büyümesi ve bölünmesini pozitif yönde etki etmektedirler.Bugüne kadar gerçekleştirilen moleküler genetik çalışmalarda çok sayıda onkogen belirlenmiştir.Bu genlere örnek olarak nokta mutasyonlar ile etkili olan K-Ras, N-Ras, H-Ras, gen amplifikasyonu ile etkili olan c-myc ve c-erbB-2(her-2), translokasyon yolu ile etkili olan abl vs genleri verilebilir(1).

TÜMÖR BASKILAYICI GENLERİN KANSERLEŞMEDEKİ ROLLERİ

Tümör baskılayıcı genler proto-onkogenler ve onkogenlerin aksine hücre büyümesi ve bölünmesini negatif yönde etki eden genlerdir.Bu genler ya protein-protein ya da protein-gen interaksyonu yolu ile hücre siklusunu regüle eden genlerdir.Bu genlerde meydana gelen nokta mutasyonlar, delesyon ve translokasyon olayları veya hipermetilasyon gibi epigenetik mekanizmalar, hücre siklusu üzerindeki denetim mekanizmalarının ortadan kalkmasına yol açarak, kanserleşme olayını tetiklerler.Tıpkı onkogenlerde olduğu gibi günümüze kadar gerçekleştirilen çalışmalarla, çok sayıda tümör baskılayıcı gen belirlenmiş, bunların hangi tip kanserlere yol açtıkları gösterilmiştir.Bu genlere örnek olarak, p53, Rb, APC,WT1, BRCA1/2, PTEN vs genleri verilebilir(1,2).

Kansere Genetik Yatkınlık

Bu konuyu dört başlık altında irdelemek mümkündür.

1- Kalıtsal Kanser Sendromları (Famillal Adenomatous Polyposis (FAP), Retinoblastoma)

FAP 100 ya da daha fazla kolorektal adenomatoz polip ile karakterize otosomal dominant bir hastalıktır. Bu kanser tipine APC geninde meydana gelen çeşitli mutasyonlar neden olur.

APC (Adenomatous Polyposis Coli) Geni.

APC geni 5q21'de lokalize olan, 15 eksondan meydana gelen bir tümör supressör gendir. Bu gende meydana gelen gerek germline gerekse somatik mutasyonların %75'inden fazlası 15'inci eksonda meydana gelmektedir. APC geni, hücrelerarası adezyonu, hücre iskelet stabilizasyonunu, hücre siklusu ve apoptosis regülasyonunu sağlayan büyük bir proteini kodlamaktadır. Bu gen gerek FAP gerekse sporadik ya da familyal kolorektal kanserlerin oluşumundan sorumludur(3,4).

Retinoblastoma ise çocuklarda gözlenen, her iki gözde tümör ile karakterize malign bir kanser türüdür. Bu kansere de Rb geninde meydana gelen mutasyonlar sebep olmaktadır.

Retinoblastom (Rb) Geni

Rb geni 13q14.3'de lokalize olan ilk belirlenen tümör supressör gendir. Retinoblastomanın herediter ve sporadik olmak üzere iki tipi vardır. Bu tümörlerin %40'ı herediter, %60'ı ise sporadik tip tümörlerdir. Herediter formunda genellikle her iki gözde tümör gelişimi görülür ve klinik tablo çok daha ciddi seyirlidir. Herediter formun meydana gelmesi için tek mutasyon yeterli iken, sporadik formların meydana gelebilmesi için sonradan oluşacak iki mutasyon gereklidir. Rb gen mutasyonları sadece Retinoblastom hastalığında değil, aynı zamanda akciğer ve prostat kanserlerinde sıklıkla, meme kanserlerinde ise daha az sıklıkla görülebilmektedir. Rb gen mutasyonları ya da delesyonu küçük hücre dışı akciğer kanserlerinin % 90'ından fazlasında gözlenmiştir(5).

2- Allel Kanserler (Kolon, Meme ve Over Kanserleri)

Bu kanserler aile bireylerinde erken yaşlarda iki ya da daha fazla bireyde gözlenen kanser türleridir. Bu kanser türlerinden kolon kanserlerine APC gen mutasyonları, meme ve over kanserlerine ise BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonları sebep olur.

BRCA1 Geni; 1994 yılında klonlanmış, 24 eksondan meydana gelen bir tümör supressör gendir. 17q21'de lokalize olmuştur. Sıklıkla 11. eksonunda mutasyonlar belirlenmiştir. 10 bin bp. uzunluğundadır. Transkripsiyon regülasyonunda rol oynar. Östrojen ile etkileşim gösterir. Antiproliferasyon ve tümör supressör fonksiyonu vardır. Hücre siklusunu regüle eden bir proteini kodlamaktadır. ATR geni ile birlikte fragil bölgelerdeki genom stabilitesinden sorumludur(6).

BRCA2 Geni; 13q12-13'de lokalize olan, 1995 yılında klonlanmış, 27 eksondan meydana gelen, 11385 bp. uzunluğunda, 3418 amino asitlik protein üreten, antiproliferasyon ve tümör supressör özelliği olan bir gendir(6).

3- Familyal Olay Olmaksızın Kalıtsal Yatkınlık (Karsinogen Metabolizmasına Etki Eden Genler ve Diğer Mekanizmalar)

Bu kanser türlerine akciğer ve baş-boyun kanserleri örnek olarak verilebilir. Bu kanserlerin oluşumunda sigara dumanında bulunan benzo(a)pyrene gibi çevresel kimyasalların

eliminasyonundan sorumlu Sitokrom P-450 gibi FazI ve yine bu ara ürünlerin(epoksit türevleri) solüble hale getirilerek hücreden atılması ile ilgili Glutasyon Transferaz, Glukronil Transferaz ve Sülfataz gibi FazII enzim genlerinde meydana gelen mutasyon ve polimorfizmler etkilidir(7,8).

4- DNA Tamir Sistemi Defektif Resesif Sendromlar (Ataxia Telangiectasia, Xeroderma Pigmentosum, Fanconi Anemisi ve Bloom Sendromu)

Bilindiği gibi bu hastalıklar otosomal ressesif kalıtım özelliği gösteren , kromozomlarında çok sayıda kırıkları ve kardeş kromatid değişiklikleri(SCE) olan, çeşitli tamir enzimlerinin eksikliği olduğu, lösemiler ve cilt kanserleri gibi kanserlere eğilimli, immün sistem eksikliği olan hastalıklardır(5).

Frajil Bölgeler, Kanser Oluşumu Ve Kansere Genetik Yatkınlık

Frajil bölgeler kromozomların spesifik gap ve kırık bölgeleridir, aynı zamanda delesyon, translokasyon ve triradial figür gibi oluşumları içine alırlar.Frajil bölgeler rare ve common olmak üzere iki çeşittir.Rare frajil bölgeler mendelian kalıtım özelliği gösteriler, Frajil X gibi hastalıklardan sorumludurlar.Common frajil bölgeler insan genomunda yaygın olarak bulunurlar ve esas olarak kanser gelişiminden , kansere genetik yatkınlıktan ve nörolojik gelişimden sorumludurlar(7,9,10).

Common Frajil Bölge Genleri(Frajil Genler)

Common frajil bölgelerde ya da yakınında lokalize olmuşlardır.Evrin boyunca korunmuş, oldukça geniş yer kaplayan(10Mb'nin üzerinde) , karsinojenlere hassas genlerdir. Hücre bölünmesinden, kanser gelişiminden, kansere genetik yatkınlıktan, DNA tamirinden, apoptosisten(FHIT,WWOX), nörolojik gelişim ve fonksiyonundan (Parkin, RORA, GRID2, DAB1, DMD, Neurobeachin) sorumlu genlerdir(11-14).

FHIT Geninin Özellikleri

Literatürde ilk olarak belirlenen frajil gendir. 1996 yılında Sozzi ve arkadaşları tarafından klonlanan, 10 exondan meydana gelmiş,evrim boyunca korunmuş, histidin triad gen ailesinden karsinojenlere hassas bir gendir. Tümör gelişiminde karsinojenlerden etkilenerek mutasyonlara uğraması rol oynar. Genelde delesyon ile inaktive olur. Tümör hücrelerinde homozigot kayıpları gösterilmiştir. FHIT geninde mutasyon belirlenen kanser tipleri; akciğer, baş-boyun, kolorektal, meme, serviks, ovaryum ve gastrik kanserler, beyin ve böbrek tümörleri, pankreatikadenokarsinomalar ve lösemilerdir(11, 15-20).

DNA TAMİR (MISMATCH REPAIR)GENLERİNİN KANSERLEŞMEDEKİ ROLLERİ

Bu gen sınıfı kanserleşmeden sorumlu üçüncü gen sınıfını oluşturmaktadır.DNA Tamir Genlerinde meydana gelen mutasyonlar sadece kendilerini etkilemekle kalmaz gerek proto-onkogen gerekse tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonların tamir edilememesinede sebep olarak hücre genomunda çok daha geniş bir alanda tahribat meydana gelmesine yol açarlar. Bu mekanizma "mutator fenotip" olarak adlandırılır ve bu mekanizmanın başta HNPCC (Hereditary Non-Nolyposis Colorectal Cancer) olmak üzere çeşitli kalıtsal kanserlere yol açtığı gösterilmiştir.Bu genlere örnek olarak hMLH1, hMSH2, hPMS1/2 ve DUG genleri verilebilir.Bu genlerde bugüne kadar 400 farklı mutasyon bildirilmiştir. HNPCC oluşumunda tamir genlerinden hMLH1 ve hMSH2'de meydana gelen mutasyonlar en sıklıkla görülen bulgudur(3,21).

MİKRO RNA GENLERİ'NİN KANSERLEŞMEDEKİ ROLLERİ

Bu genlerin, bir kısmı onkogen (miR-17, miR372, miR373), bir kısmı tümör supressör gen (let-7, miR-15a, miR-16-1) aktivitesi gösterirler. Yarisından fazlası common fragil bölgelerde lokalize olmuşlardır. Translasyonel baskılama yolu ile gen ekspresyonunu kontrol ederler. Gelişim, hücre farklılaşması, apoptosis ve splicing işlemi gibi önemli hücre süreçlerinin kontrolünden sorumludurlar. MikroRNAlar kanser tanısında ve tedavisinde diagnostik ve prognostik markerler olarak kullanılabilirler (22-26).

Kaynaklar

1. Cooper GM. Oncogenes. 2nd ed, Boston: Jones and Bartlett Publishers, 3-18, 1995.
2. Egeli Ü: Tümör Moleküler Biyolojisi. Nonspesifik Akciğer Hatalıkları. Edit. Nihat Özyardımcı, Uludağ Üniversitesi Basımevi- Bursa, cilt 2 ISBN: 975-6958-06-5; 707-715, 1999
3. Tunca B, Egeli Ü: Baş-Boyun Kanserlerinde Moleküler Biyoloji. Baş-Boyun Hastalıkları. Edits. Kayıhan Engin, Levent Erişen. Nobel Matbaacılık-İstanbul, ISBN: 975-420-293-1; 49-57, 2003.
4. Tunca B, Menigatti M, Benatti P, Egeli U, Cecener G, Pedroni M, Scarselli A, Borghi F, Sala E, Yilmazlar T, Zorluoglu A, Yerci O, Ponz de Leon M. Investigation of APC mutations in a Turkish Familial Adenomatous Polyposis by family heteroduplex analysis.
5. Nussbaum RR, McInnes, Willard, HF, Boerkoel FC: Thompson & Thompson Tıbbi Genetik. Çeviri. Ergül Tunçbilek, Güneş Kitabevi Ltd. Şti. Ankara/İstanbul, ISBN: 975-277-031-2; 321-323, 2005.
6. Egeli Ü: Meme Kanserinin Genetiği. Meme Kanserleri. Edit. Kayıhan Engin, Nobel Matbaacılık-İstanbul, ISBN: 975-420-416-0; 55-59, 2005.
7. Egeli U, Karadağ M, Tunca B, Özyardımcı N: The expression of common fragile sites and genetic predisposition to squamous cell lung cancer. Cancer Genet Cytogenet 95: 153-158, 1995.
8. Law MR: Genetic predisposition to lung cancer. Br J Cancer 61: 195-206, 1990.
9. Egeli U, Özkan L, Tunca B, Kahraman S, Çeçener G, Ergül E, Engin K. The relationship between genetic susceptibility to head and neck cancer with the expression of common fragile sites. Head Neck 22: 591-598, 2000.
10. Tunca B, Cecener G, Gebitekin C, Egeli U, Ediz B, Ercan I. Investigation of genetic susceptibility to Non-Small Cell Lung Cancer by fragile sites expression. Teratogen Carcinogen Mutagen 22: 205-215, 2002.
11. Iliopoulos D, Guler G, Yin-Han S, Druck T, Ottey M, McCorkell KA, Huebner K. Roles of FHIT and WWOX fragile genes in cancer. Cancer Lett 232: 27-36, 2006.
12. Zhu Y, McAvoy S, Kuhn R, Smith DI. RORA, a large common fragile site gene, is involved in cellular stress response. Oncogene 25(20): 2901-2908, 2006. Common fragile sites, extremely large genes, neural development and cancer. Cancer Lett 232(1): 48-57, 2006.
13. Smith DI, Zhu Y, McAvoy S, Kuhn R. Common fragile sites, extremely large genes, neural development and cancer. Cancer Lett 232(1): 48-57, 2005.
14. Savelyeva L, Sagulenko E, Schmitt JG, Schwab M. The neurobeachin gene spans the common fragile site FRA13A. Hum Genet 118(5): 551-558, 2005.
15. Sozzi G, Veronese M, Negrini M, Baffa R, Cotticelli MG, Inoue H, Tornielli S, Pilotti S, De Gregorio L, Pastorino U, Pierotti MA, Ohta M, Huebner K, Croce CM: The FHIT Gene At 3p14.2 Is Abnormal in Lung Cancer. Cell 85: 17-26, 1996.
16. Yanagisawa K, Kondo M, Osada H, Uchida K, Takagi K, Masuda A, Takahashi T: Molecular analysis of the FHIT gene at 3p14.2 in lung cancer cell lines. Cancer Res Dec 15; 56(24): 5579-5582, 1996.
17. Huebner K, Croce CM: Cancer and FRA3B/FHIT fragile locus: it's a HIT. Br J Cancer 88: 1501-1505, 2003.

18. Frank S, Muller J, Plaschke J, Hahn M, Hampl J, Hampl M, Pistorius S, Schackert G, Schackert HK. The putative tumor suppressor gene FHIT at 3p14.2 is rarely affected by loss of heterozygosity in primary human brain tumors. *Cancer Res* Jul 1;57(13): 2638-2641, 1997.
19. Yoshino K, Enomoto T, Nakamura T, Nakashima R, Wada H, Saitoh J, Noda K, Murata Y: Aberrant FHIT transcripts in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Int J Cancer* 76: 176-181, 1998.
20. Gemma A, Hagiwara K, Ke Y, Burke LM, Khan MA, Nagashima M, Bennett WP, Harris CC: FHIT mutations in human primary gastric cancer. *Cancer Res* 57: 1435-1437, 1997.
21. Ponz de Leon M, Benatti P, Gregorio Di C, Losi L, Pedroni M, Ponti G, Genuardi M, Viel A, Lucci-Cordisco E, Rossi G, Roncucci L. Genotype-phenotype correlations in individuals with a founder mutation in the MLH1 gene and hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Scan J Gastroenterol* 42:746-753, 2007.
22. Hernando E. microRNAs and cancer: role in tumorigenesis, patient classification and therapy. *Clin Transl Oncol* 9(3):155-160, 2007.
23. Lee YS, Dutta A. MicroRNAs: small but potent oncogenes or tumor suppressors. *Curr Opin Investig Drugs* 7(6):560-564, 2007.
24. Wu W, Sun M, Zou GM, Chen J. MicroRNA and cancer: Current status and prospective. *Int J Cancer* 120(5):953-960, 2007.
25. Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. Let-7 microRNA functions as a potential growth suppressor in human colon cancer cells. *Biol Pharm Bull* (5):903-906, 2006.
26. Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 302(1):1-12, 2007.

PROTEOMİK; GENEL BAKIŞ VE GELİŞMELER

Prof. Dr. FİGEN ZİHNİOĞLU

Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Bölümü, İZMİR

Genom projesi çalışmaları kapsamında, bir organizmanın, tek bir genomunun dizisinin aydınlatılması ile, canlının bilgi içeriği seviyesinin ne denli kompleks olduğu gösterilmiştir. Diğer taraftan, genom ve DNA dizi analizi projelerinde biyolojik bilginin protein diline nasıl ifade edildiği bilinmektedir. Ancak proteinin sentez sonrası farklı biyolojik moleküllerle (fosfat, karbohidrat, lipid, fosfat, metil, asetil vb) değişikliğe uğramaları sonucu kazandıkları yapısal ve fonksiyonel özellikler genom haritaları ile belirlenememektedir. Özellikle ökaryotlarda, bir proteomda, genomda bulunan genlerden çok daha fazla protein mevcuttur. Bir hücredeki gerçek protein değerleri internal ve eksternal bazı parametrelerden ve bunların değişimlerinden etkilenmektedir. Ayrıca, genom; makromoleküler etkileşimler ve biyofiziksel özellikler, subselüler lokalizasyon, regülasyon mekanizmaları, hücre farklılaşma ve proliferasyon, sağlık ve hastalık koşulları, üç boyutlu yapı ve fonksiyon gibi dinamik prosesleri protein düzeyinde açıklayamaz. Ancak; genom, proteom ve hatta transkriptom ile metabolomun; genler, proteinler ve hastalıklar arasındaki bağlantının moleküler düzeyde araştırılmasında birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir.

Proteom kelimesi ilk kez 1994 yılında, Marc Wilkins tarafından önerilmiş ve kabul görmüştür. Proteom; doku, hücre tarafından ifade edilen proteinlerin tümünü kapsar; Proteomik; ise daha dinamik bir terim olup, farklı koşullarda hücre, doku veya vücut sıvılarındaki proteinlerin kantitatif analiz teknolojisi olarak tanımlanır. Günümüze değin protein kimyası çalışmalarında kullanılan birçok teknik proteom analizlerini de mümkün kılmaktadır. Ancak proteom teknolojisi yeni bir bakış açısıyla temelde; fraksiyonlama, geniş skalada proteinlerin multi-dimensional teknikler ile ayrılması ve post-translasyonel modifikasyonların analizini de kapsayan protein identifikasyonudur ve geliştirilmiş tekniklerin kullanımını gerektirir.

Bir hücrenin sağlıklı ve hastalıkta nasıl davrandığını moleküler düzeyde anlayabilmek için proteinlerin ve diğer hücre bileşenlerinin bilinmesi ve bunların etkileşimlerinin nasıl olduğunun anlaşılması gerekmektedir. Klasik proteom yaklaşımında, iki veya daha fazla sayıda farklılaştırılmış örnek grubunun 2D-elektroforez ile ayrılması, farklılaşmaların görüntülenerek kütle spektrometrisi (MALDI-TOF vb.) ve biyoinformatik yaklaşımlar ile incelenmesi söz konusudur. Fonksiyonel proteom ise; her bir örneğin tek tek analizlenip, yapılarının birçok alternatif tekniğin ve biyoinformatik-veritabanları kullanılmasıyla aydınlatıldığı, fonksiyon ve protein etkileşimlerinin incelendiği daha kapsamlı bir yaklaşımdır.

Proteom çalışmalarında daha kısa sürede duyarlı ve güvenli sonuçlara ulaşabilmek, hali hazırda kullanılan tekniklerin ve yeni yardımcı tekniklerin geliştirilmesi ile mümkün olabilecektir. ICAT (Isotope Coded Affinity Tags), iki yönlü sıvı kromatografisi (2D-LC), ve 2D-Farklılaşma Jel Elektroforezi (2D-DIGE) gibi teknikler bunlara örnek olarak verilebilir. Ayrıca aynı anda yüzlerce/binlerce protein/protein belirteçlerinin ölçümüne olanak sağlayan protein array/chiplerinin geliştirilmesi son yılların en popüler çalışmaları arasındadır.

Proteom teknolojisi, canlı hayatını ilgilendiren her alan ve proseste uygulama alanı bulmaktadır. Günümüzde özellikle; ilaç tasarımı ve geliştirilmesi, tıpta ise teşhis ve tedaviye yönelik yapılan çalışmalardır. İyi donanımlı bir laboratuvar ve tecrübe gerektiren bu teknolojiden alınan sonuçlar veri tabanlarına eklendikçe, canlıların moleküler bazda yapı ve fonksiyonlarının anlaşılması mümkün olabilecektir. Sonuç olarak proteom çalışmalarının, birçok alanda çok amaçlı ileriye yönelik araştırmalara ışık tutacağı açıktır.

SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN THE p53 PATHWAY: THEIR IMPACT UPON CANCERS AND FECUNDITY IN WOMEN

ARNOULD J. LEVINE

Cancer Institute of New Jersey, ABD

The MDM-2 gene of humans contains a single nucleotide polymorphism (SNP) in the first intron (SNP 309) that can regulate the levels of both the MDM-2 m-RNA and protein. The G-allele at this locus binds an SP-1 transcription factor which in turn interacts with an Estrogen Receptor (ER) binding site ten base pairs away and promotes higher levels of MDM-2, when compared to the T-allele at this site, in pre-menopausal females and in tissues with an ER. The human p53 gene contains a SNP in the coding region, at codon 72, where either an arginine or a proline may be found. The Arginine form of the p53 protein appears to possess an enhanced ability for apoptosis. In Li-Fraumeni patients, with a single allele of wild type p53, the MDM-2 G-allele both lowers the age of onset of first tumors in females and increases the number of tumors these females develop over a lifetime. This MDM-2 SNP, often in combination with the p53 SNP and environmental stresses (such as smoking), has been shown to reproducibly (twenty-one independent publications) lower the age of tumor formation or increase the odds ratio for developing a tumor in some tumors (but not with all tumors or studies). In addition some SNPs in estrogen regulatory genes have been shown to synergistically interact with SNP 309.

The haplotype maps of SNPs in the human MDM-2 gene, as well as SNPs in the MDM-4 and Hausp genes, which help to regulate MDM-2 activity, each show clear evidence for positive selective forces acting upon certain alleles during evolution. We have been able to demonstrate in mice that p53 regulates the promoter-enhancer element in the LIF (leukemia inhibitory factor) gene which is a cytokine required for implantation of blastocysts into the uterus. Female mice that lack a p53 gene have smaller litter sizes and lower fertility rates. This is due to the implantation defect in p53 KO female mice which can be completely reversed by an injection of LIF at four days (the time of implantation) after copulation. Interestingly, the levels of the p53 protein did not increase in the uterus of wild type mice four days after copulation even though several p53 regulated genes (LIF, p21, etc) were shown to have increased m-RNA levels which were dependent upon the presence of a normal p53 gene. This suggests an alternative mechanism to activate p53 regulated transcription that does not involve the loss of MDM-2 activity or levels in the uterus of these mice four days after copulation. It has recently been shown that the proline homozygous form of the codon 72 SNP in the human p53 gene is associated with recurrent failure of implantation of blastocysts in an IVF clinic. The results described here with mice help to explain this finding and point to a clear reason why specific alleles of SNPs in the MDM-2, MDM-4 and Hausp genes may be under positive selection in the human population.

KARSİNOGENEZDE YENİ GÖRÜŞLER

Prof. Dr. ŞÜKRİYE AYTER

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, ANKARA

Bilim dünyasında büyük devrimlerin yaşandığı son yıllarda bu etkinin en fazla görüldüğü alanlardan biri de kanserle ilgili gelişmeler olmuştur. 1911'de Peyton Raus'un kanserle ilişkili bir virüsü bulması ile başlayan çalışmalara 1914'de bazı kimyasalların kansere yol açabileceği gerçeği eklenmiş ancak o yıllarda virüslerle kimyasal maddeler arasında bir ilişki kurulamamıştır. 1930' lu yıllarda bu kimyasalların listesi genişlemiş kansere yol açan kimyasallar karsinojen olarak adlandırılmıştır. Aynı yıllarda kanserin bazı ailelerde sıklıkla görüldüğü insan genetikçileri tarafından fark edilmiş ve kansere yol açabilecek genetik bilgi kavramına ilk kez dikkat çekilmiştir. 1950'li yıllarda genetik bilginin açıklığa kavuşması ile birlikte bu kavram da gelişmeye devam etmiştir. 1960'lara gelindiği zaman kanser epidemiyoloji ile uğraşanların da ilgi alanına girmiş ve kanser bir yaşlılık hastalığı olarak tanımlanmıştır. Artık o yıllarda kanser hakkında bilinen birçok konu vardır; 1. kanser virüsler tarafından oluşturulabilir 2. Kimyasal karsinojenlerden söz edilebilir 3. Kanserle ilgili genler söz konusudur 4. yaşlanma ile ilişkilidir. Ancak hala bu kavramların bir biri ile ilişkisinden söz edilmez. 1970'li yıllarda Varmus and Bishop'un , daha sonra onlara Nobel ödülü kazandıran buluşları gelir, Rous sarcoma virusunun sarkom yapan "src" genini bulurlar ve onkogen kavramını getirirler. Böylece ilk kez birbirinden kopuk kavramlar bir arada bir anlam kazanır. Zira onkogenler normal genlerin mutant formudur ve virus bu mutant formu taşıyarak kansere neden olur. Mutasyonlar ise kimyasal karsinojenlerle oluşmaktadır Aynı yıllarda onkogenlerin yanında p53 gibi tümör baskılayıcı genler de fark edilmiştir ve tek bir genin bozukluğunun kansere yol açamayacağı gerçeği de artık bilinmektedir. Böylece 1980'li yıllarda taşlar yerine oturmaya başlar ve kanserin yaşlılarda daha fazla görülmesinin altında da çok aşamalı karsinogenez yatmaktadır. Çalışmalar onkogen ve tümör baskılayıcı genlerin ürünlerini ve fonksiyonlarını bulma yönünde devam ederken Baltimore ve arkadaşları "abl" onkogen ürününün bir protein kinaz olduğunu keşfederler ve çok geçmeden fazla çalıştığı için kansere yol açan bu enzimin inhibitörü olan ilaç geliştirilir böylece KML tedavisinde önemli bir aşama kaydedilir.

Bu gün kanser bir sinyal iletim yolu bozukluğu olarak tanımlanmakta ve çalışmalar sinyal yollarında yer alan onkogen ve tümör baskılayıcı gen ürünlerinin birbirleri ile etkileşimleri, bu etkileşimleri azaltacak veya arttıracak ilaçların üretimi ve denenmesi şeklinde devam etmektedir. Bu moleküler etkileşimlerin çözülmesi hem karsinogenez mekanizmaları hem de hedeflenmiş tedavi konusunda yeni bilgilere ulaşmamıza olanak vermektedir. Hedeflenmiş tedavilerin uygulanabilmesi ise kanserin genetik kökenini bilmemiz oranında mümkün olmaktadır. Bu nedenle yeni yüksek ölçekli teknolojilerin kullanıma girmesi karsinogenez konusundaki bilgilerimizin artmasına ve uygulamaların da ivme kazanmasına olanak vermiştir.

ÖLÜMLERDEN ÖLÜM BEĞEN: OTOFAJİK HÜCRE ÖLÜMÜ MÜ, APOPTOZ MU?

DEVİRİM GÖZÜAÇIK

Sabancı Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Orhanlı-Tuzla 34956,
İSTANBUL. E-posta: dgozuacik@sabanciuniv.edu.

Otofaji, sitoplazma ve organellerin, çift ya da çok katlı zardan oluşan veziküller (otofajik veziküller) tarafından lizozoma taşınması ve orada yıkılması şeklinde tanımlanır. Normal koşullar altında, bazal düzeydeki otofaji bira mayasından insanlara kadar tüm canlılarda görülür ve uzun ömürlü proteinlerle vadesi dolmuş organellerin yıkımında rol oynar. Ortamda amino asit veya büyüme hormonlarının yeterli düzeyde bulunmamasının yol açtığı hücresel açlık durumunda ise otofaji, yapıtaşlarının geri dönüşümüne yol açarak, hücrenin zor koşullar altında hayatta kalmasını sağlar.

Otofajinin hücre ölümü sırasında da aktive olduğu uzun yıllardır bilinmektedir. Buna karşın, apoptoz konusundaki çalışmaların gölgesinde kalması nedeniyle, otofaji ve hücre ölümü arasındaki bağ son otuz yıldır göz ardı edilmiştir. Son yıllarda gen nakavtı (knockout) ve RNA baskılama gibi modern genetik yöntemler kullanılarak yapılan ve aralarında bizim çalışmalarımızın da bulunduğu çalışmalar, "otofajik hücre ölümünün" varlığını açık bir şekilde ortaya koymuştur. Bu alternatif hücre ölüm mekanizması, bazı sinyaller tarafından baskın ölüm mekanizması olarak kullanılmaktadır. Apoptozun mümkün olmadığı durumlarda bir yedek ölüm mekanizması olarak aktive olabildiği gibi, hücreleri apoptozla işbirliği yaparak da öldürebilmektedir. Apoptoz ve otofaji mekanizmaları arasında moleküler bir iletişim olduğuna dair kanıtlar giderek artmaktadır.

Otofajik aktivite Alzheimer, Parkinson, Huntington hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda artmaktadır. Otofaji bozuklukları, bazı yağ depo, kas ve karaciğer metabolik hastalıklarında da görülmektedir. Ayrıca otofajinin, bakteri ve virüslere karşı bir savunma mekanizması olduğuna dair çalışmalar da bulunmaktadır. Bütün bunlara ek olarak, otofajinin kanseri önleyici (tumor suppressor) bir mekanizma olarak çalıştığına dair veriler artmaktadır.

Sunumumda, otofaji ve otofajik hücre ölümünün daha yeni yeni anlaşılmaya başlayan moleküler mekanizmaları tartışılacaktır.

NİTRİK OKSİD VE ENDOTEL DİS FONKSİYONU

HÜSEYİN SÖNMEZ

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya AD, İSTANBUL

Nitrik oksid (NO) 1772 senesinde Joseph Priestly tarafından yarı ömrü birkaç saniye olarak belirlenen renksiz bir gaz olarak keşfedildi. 1980 senesinde Furchgott ve Zawadzki asetilkolin ile uyarılan vasküler relaksasyonun, endotel kaynaklı relaksasyon faktörü (EDRF) olarak adlandırılan bir faktör aracılığı ile yapıldığını gösterdi. 1987'de Moncada ve ark. ile Ignarro ve ark. ayrı ayrı olarak EDRF'nin NO olduğunu ortaya koydular. Bir yıl sonra Moncada NO'nun L-arginin aminoasidinden sentezlendiğini gösterdi. 1992 senesinde Science dergisi NO'yu yılın molekülü olarak ilan etti. 6 yıl sonra 1998'de NO keşfi araştırmacılarına Nobel Tıp ödülünü kazandırdı. Özellikle son 15 yıl içerisinde NO ile ilgili çalışmalar kardiovasküler fonksiyon, nöral iletim, diyabet, doku tamiri, kanser, immun fonksiyon, enfeksiyon, gibi çok çeşitli alanlarda gittikçe artan oranlarda yoğunlaştı.

NO'nun günümüzde üzerinde durulan en önemli özelliğini endotel fonksiyonları üzerindeki etkisi oluşturmaktadır. İlk olarak 1983 senesinde ortaya konan "endotel disfonksiyonu" terimi artık NO'nun biyolojik aktivitesindeki azalma ile eş anlamlı olarak kullanılmaktadır.

Nitrik Oksid küçük mol ağırlıklı, kararlı bir yapı göstermeyen, yarılanma ömrü birkaç saniye olan, renksiz, serbest radikal özelliğine sahip bir gazdır. Bir gaz olarak küçük yapısı ve nötral yükünden dolayı reseptöre bağlı olmaksızın hücre membranlarından kolayca geçerek hedef hücrelerin içine girebilir. Çiftleşmemiş bir elektrona sahip olması nedeniyle bir serbest radikal özelliğindedir. NO oksijen ve süperoksit radikali ile ayrıca demir, bakır, mangan gibi geçiş metalleri ile reaksiyonlaşabilir. Nitrik Oksid başlıca vazodilatasyon, lökosit adhezyonu inhibisyonu, vasküler düz kas hücre proliferasyonunun inhibisyonu, vasküler düz kas hücre migrasyonunun inhibisyonu, trombosit agregasyonu inhibisyonu, nörotransmisyon, immun yanıt regülasyonu gibi önemli fonksiyonlarda rol oynar.

Nitrik Oksid sentezi özellikle endotel ve sinir hücreleri başta olmak üzere trombositler, lökositler, düz kas hücreleri gibi farklı hücrelerde Nitrik Oksid sentaz (NOS) olarak adlandırılan bir grup enzim etkisiyle L-arginin aminoasidinden gerçekleştirilir. NOS iki monomerden oluşan (Oksijenaz ve redüktaz) dimer bir yapı gösterir. Genel reaksiyon L-argininden nitrik oksid oluşturmak üzere birbirini takip eden iki monooksijenaz reaksiyonudur. Reaksiyon esnasında elektronların enzim yapısı içerisinde redüktazdan oksijenaza transferi için kalmodulin molekülüne gereksinim vardır. Ayrıca kosubstrat olarak oksijen ve NADPH, kofaktör olarak tetrahidrobiopterin, FAD, FMN ve hem gereklidir. Nitrik oksid sentazın başlıca üç izoformu vardır.

- 1- Nöronal NOS (NOS I yada NOS nNOS)
- 2- İndüklenebilir NOS (NOS II yada iNOS)
- 3- Endotelial NOS (NOS III yada eNOS)

İlk olarak 1990 senesinde nöronal NOS izolasyonu beyinden elde edilmiş, 1991 senesinde ise makrofajlardan indüklenebilir NOS ve aortik endotelial hücrelerden endotelial NOS

izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Tüm izoformlar NO sentezi için kalmodulin proteinin bağlanmasına ihtiyaç gösterir. Bu izoformlardan eNOS ve nNOS enzimleri kalmodulin bağliayabilmek için hücre içi kalsiyum düzeyinde artışa gereksinim duyar. Buna karşılık iNOS aktivitesi kalsiyumdan bağımsızdır. iNOS düşük kalsiyum düzeylerinde kalmodulini yüksek afinite ile bağliayabilir.

Endotelde eNOS tarafından sentezlenen NO damar düz kas hücrelerine girerek hücre içi guanilat siklaz enzimini aktive eder ve guanozinmonofosfat (cGMP) yapımını artırır. Hücre içi düzeyi artan cGMP kalsiyum konsantrasyonunu azaltarak düz kaslarda gevşemeye neden olur.

Endotel vasküler homeostazın sağlanmasında çok önemli fonksiyon gören endokrin bir organdır. İntima tabakasında tek katlı bir yapı oluşturan endotel hücreleri kan dolaşımının komponentleri ve vasküler düz kas hücreleri arasında seçici bir bariyer teşkil eder. Endotelin diğer önemli fonksiyonları arasında vazoaaktif maddelerin yapımı ve salgılanması, damar düz kas hücrelerinin tonüsünün ayarlanması, koagülasyon ve fibrinolitik olaylarda düzenleyici rol oynaması, imünolojik olaylarda etkin olması gibi önemli olayları sayabiliriz. Endotelyal tabakada meydana gelebilen fiziksel yada biyokimyasal hasarlar endotel kaynaklı gevşetici ve konstrüktör maddeler arasındaki dengeyi bozar. NO gibi vasküler koruyucu ve gevşetici moleküllerin yapım ve fonksiyonlarında azalma olurken endotelin-1, tromboksan, serotonin gibi vazokonstrüktörlerin konsantrasyonun artış olur. Bu durum trombus oluşumunu artırırken düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunu kötü yönde etkiler. Günümüzde endotelin bu fonksiyon bozukluğu NO yetersizliği ile eş anlamlı olarak kullanılmaktadır. Yapılan çeşitli deneysel ve klinik çalışmalar endotelyal NO bioaktivitesindeki azalmanın gelecekteki aterosklerotik gelişmeler için çok önemli bir gösterge olabileceğini

desteklemektedir. Endotelyal NO'dan yararlanım basit olarak molekülün yapım ve yıkımı arasındaki denge ile ilişkilidir. Bu denge üzerinde etkili çeşitli faktörler söz konusudur. Bunları genel olarak incelediğimizde iki ana mekanizmada toplayabiliriz.

1-eNOS ekspresyonu ve aktivitesinin inhibisyonu

2-Reaktif oksijen türleri tarafından NO tüketimi

İnsan eNOS geni yedinci kromozom üzerindeki 26 eksondan oluşur. Yapılan çeşitli klinik genetik incelemeler farklı eNOS gen polimorfizmlerini ortaya koymuştur. Bunlardan özellikle iki tanesinin aterosklerotik koroner arter hastalığı ile ilişki olabileceği üzerinde durulmaktadır. Birincisi ekson yedideki G894T değişimidir. 298. pozisyondaki glutamatın aspartada dönüşümü ile sonuçlanır. Diğer ise promotör bölgedeki -786T/C dönüşümüdür. Bu genetik polimorfizmlerin etkileri üzerine çalışmalar devam etmektedir. Elde edilmiş sonuçlar halen gelişkilidir.

eNOS fonksiyonları üzerine etkili diğer bir faktör substrat ve kofaktör düzeyindeki değişimlerdir. L-arginin NO iletiminde eNOS enzimi için çok önemli bir substratdır. 1990'ların başında araştırmacılar kolesterolce zengin diyetle beslenen deney hayvanlarında ve aterosklerozlu hastalarda endoteryal vazodilatör cevahım iyileştirilmesinde akut ve kronik L-arginin sağlanmasının önemini gösterdiler. Son dönemde endoteryal NO üretiminin regülasyonunda, substrat olarak L-arginin kullanan arginaz eziminin eNOS ile yarışmasının potansiyel önemi artmıştır. Memelilerde tip-1 ve tip-2 olmak üzere iki tip arginaz vardır. Tip-1

sitoplazmada lokalize olup yoğun olarak karaciğerde bulunur. Buna karşılık tip-2 mitokondrial bir enzim olup karaciğer dışı dokularda yoğunlaşmıştır. Tip-2 endotelial NO üretiminin regülasyonunda primer bir rol oynar. Araştırmalar arginaz-2 enziminin ekspresyonunda yada aktivitesindeki artışın endotel dis fonksiyonu gelişiminde rol oynayabileceğini göstermiştir. ADMA (Asymmetric Dimethylarginine) proteinlerdeki metillenmiş arginin kalıntılarının proteolizi ile doğal olarak oluşan bir moleküldür. ADMA arginin ile yarışarak NO üretiminde eNOS inhibisyonunda rol oynar. ADMA düzeylerindeki artışın endotel dis fonksiyonunda önemli rol oynayabileceği çeşitli çalışmalarda ileri sürülmüştür.

Tetrahidrobiopterin eNOS fonksiyonu için elzem bir kofaktördür. eNOS tarafından normal endotelial NO üretimi tetrahidrobiopterin konsantrasyonunun optimal düzeyde olmasına bağlıdır. Tetrahidrobiopterin sentezindeki azalmanın mekanizması açık olamamakla birlikte bazı araştırmacılar artan oksidatif stressin bu azalmaya yol açabileceğini ifade etmektedir.

Ayrıca eNOS'un kaveolin-1, Hsp90, dynamin-2, NOSIP (nitric oxide synthase interacting protein) gibi bazı özel proteinlerle olan etkileşiminde enzimin aktivitesi üzerinde rol oynar.

Serbest radikaller son yörüngelerinde bir yada daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan, kimyasal olarak çok aktif zararlı moleküllerdir. Radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron çıkması ile veya bir elektron ilavesi ile oluşurlar. Endotelial hücrelerde serbest radikallerin düzeyindeki artış endotel disfonksiyonunun önemli nedenlerinden birini teşkil eder. Hücre içinde serbest radikal üretiminin nedeni olan çeşitli kaynaklar mevcuttur. Bunların içinde en önemli iki kaynak NADPH oksidaz ve ksantin oksidazdır. Bir diğer önemli serbest radikal kaynağı eNOS enziminin kendisidir. eNOS enzimi L-arginin yada tetrahidrobiopterin düzeylerinin eksikliğinde NO yerine süperoksit üretimine neden olur. NO serbest radikallerle reaksiyonlaşabilme özelliğine sahiptir ve bu da onun bioaktivitesinde azalmaya neden olur.

Kaynaklar

1. Kawashima S, Yokoyama M. Dysfunction of endothelial nitric oxide synthase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:998-1005.
2. Yang Z, Ming XF. Recent Advances in understanding endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Clinical Medicine & Research.* 2005;4:53-65
3. Naseem KM. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. *Molecular aspects of medicine.* 2005;26:33-65
4. Napoli C, Nigris F, Ignarro SW, Pignatelli O, Sica V, Ignarro L. Nitric oxide and atherosclerosis: An Update. *Nitric Oxide.* 2006;15:265-279
5. Davignon J, Granz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004;109:III27-III32
6. Lerman A, Zeiher AM. Endothelial function: cardiac events *Circulation* 2005;111:363-368
7. Halcox JP, Shenke WH, Zalos G, Mincemoyer R, Prasad A, Waclawiw MA, Nour KR, Quyyumi AA. Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circulation* 2002;106:653-658
8. Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 29-38
9. Yetik G, D. Catravas J. Nitric oxide and the endothelium: History and impact on cardiovascular disease. *Vascular Pharmacology* 2006;45: 268-276
10. Torun E, Bayram F. Endokrin bir organ olarak endotel ve endotelinin hipertansiyondaki rolü. *Erciyes Tıp Dergisi* 2004; 26: 126-131

MOLECULAR BIOMIMETICS: GEPI – NEW GENERATION PEPTIDES AS BUILDING BLOCKS IN TECHNOLOGY AND MEDICINE

MEHMET SARIKAYA

Department of Materials Science and Engineering, University of Washington, GEMSEC,
Roberts Hall, Box 352120, Seattle, WA 98195, Fax: 206-543-6381,

sarikaya@u.washington.edu

Abstract

Physical and chemical functions of organisms are carried out by a large number of proteins through predictable and self-sustaining interactions. In Nature, biomolecule-material interaction is accomplished via molecular specificity and high efficiency leading to the formation of functional molecular constructs. With the recent developments of nanoscale engineering in physical sciences, and the advances in molecular biology, we are now able to combine genetic tools with synthetic nanoscale constructs, and create a hybrid methodology, molecular biomimetics. Here, we genetically select and design peptides with specific binding to and assembly on functional solid materials and use them as nucleators, catalyzers, growth modifiers, molecular linkers and erector sets, fundamental utilities for nano- and nanobio-technology. We will focus on fundamental issues in genetic design, molecular recognition, and assembly of peptides and practical implementation in biosynthesis and fabrication towards molecular and nano-imaging, sensing (diagnostics), and tissue regeneration.

The research is supported by NSF-MRSEC, USA-ARO-DURINT, and NIH programs.

1. M. Sarikaya & C. Tamerler et al., Nature-Mater., 2(3) 577 (2003)..
2. M. Sarikaya & C. Tamerler et al., Ann. Rev. Mater. Res. 34, 373 (2004).
3. C. Tamerler & M. Sarikaya, Acta Biomaterialia, 3, 289 (2007).

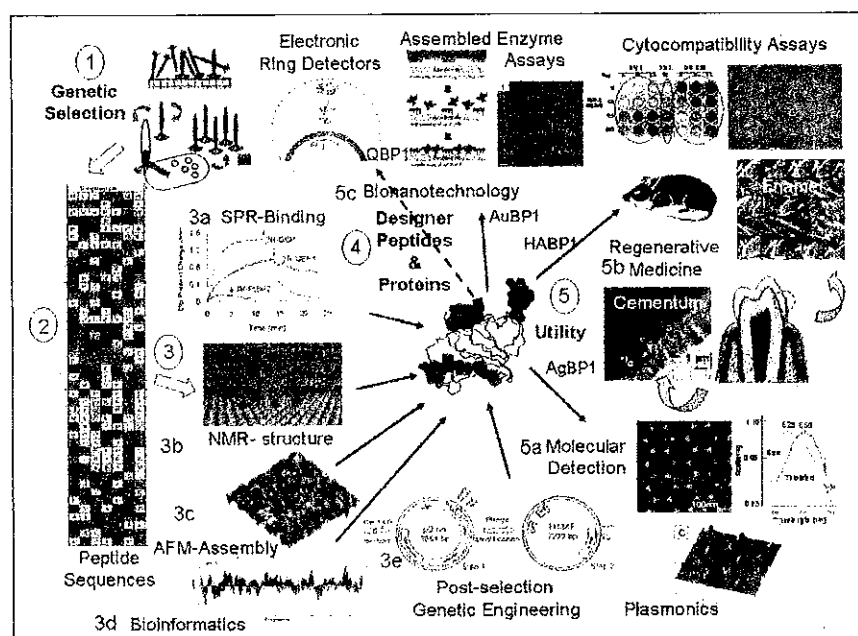


Figure 1 – Major research and applications steps in molecular biomimetics that include selection, molecular characterization, and novel design of peptides and their utility in bionanotechnology and medicine.

GENETIC TAILORING OF INORGANIC-BINDING PEPTIDES FOR BIONANOTECHNOLOGY

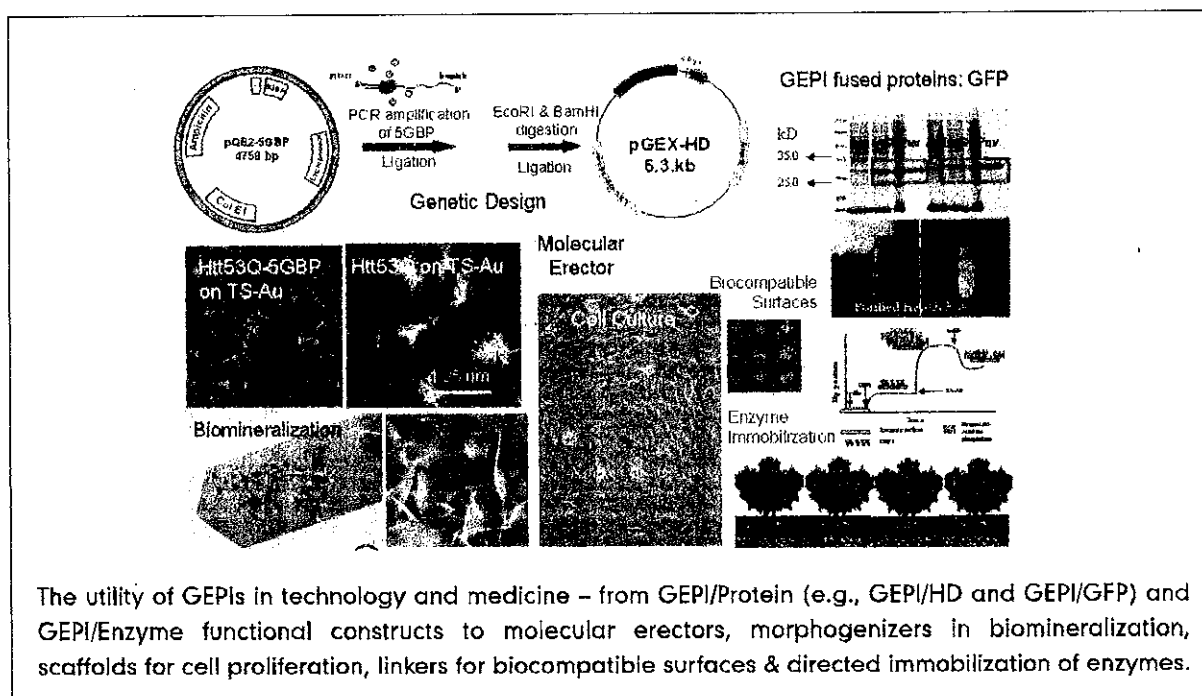
CANDAN TAMERLER 1,2*

1 MOBGAM and Molecular Biology-Genetics, Istanbul Technical University, Istanbul,
2 Genetically Engineered Materials Science and Engineering Center, an NSF-MRSEC,
*MSE and #Microbiology, University of Washington, Seattle, WA 98195, USA

tamerler@itu.edu.tr & candan@u.washington.edu

In Nature, high selectivity and precise organization in biological systems lead to control of functions. Biological molecular building blocks, in particular proteins and peptides, in addition to lipids and polysaccharides, play a major role in biological design for controlling assembly of materials from the nanometer to the macroscale. In a cross-disciplinary approach at the confluence of chemistry, materials, molecular biology and genetics, we utilize peptides and protein constructs as molecular building blocks in synthesizing, assembling, and fabricating materials systems for applications in engineering and in medicine. In this multidisciplinary approach, we first genetically select and then tailor inorganic binding peptides towards specific functions, as molecular linkers, couplers and growth modifiers. We use computational and experimental tools to understand peptide molecular recognition of solids, kinetics of their binding and assembly. Finally, we utilize genetically engineered peptides for inorganics as molecular building blocks in practical molecular and nano-engineering applications, for example, via peptide/protein constructs, by bridging the gap between materials and biological paradigms. The presentation will give an overview of the approaches carried out in our groups, present examples in the science and implementation of bionanotechnology.

Acknowledgements: We would like to thank our students, post-doctoral researchers, and collaborators for invaluable contribution with their results, discussions, and ideas. The research is supported by NSF/MRSEC, ARO-DURINT, and TR-SPO programs.



MİKROTUBUL İLİŞKİLİ PROTEİNLER VE NÖRODEJENERASYON

Dr. ARZU KARABAY

Hücre iskelet sistemi, nöron morfolojisinin temel belirleyicisidir ve nöronların gelişimi ve stabilitesi için esastır. Hal böyle iken, Alzheimer gibi pek çok nörodejeneratif hastalığın hücre iskelet sistemindeki anormallikler ile karakterize edilmesi gayet doğaldır.

Nöronların en karakteristik yapısal özelliği aksonal ve somatodendritik kompartmanlara ayrılmış olmasıdır ve hücresel iskelet sistemi bu özelleşmiş yapının kararlılığında kritik bir rol oynamaktadır. Örneğin Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların tartışmasız teşhisi hücre iskelet sistemindeki değişikliklere dayanılarak yapılmaktadır.

Hücre iskelet sistemindeki bu anormallikler histopatolojik olarak belirleyici olmakla birlikte bu değişikliklerin hastalık sürecindeki rolü çok net anlaşılamamıştır. Nörodejeneratif hastalıkların gelişimi sırasında hücre iskelet proteinlerindeki anormalliklerin nöronların dejenerasyonuna neden olan ana faktörü mü temsil ettikleri, yoksa başka yollarla dejenere olan nöronlarda bu anormalliklerin bir yan tesir mi olduğu hala bilinmemektedir. Bir başka deyişle, "hücre iskeletindeki değişiklikler sadece bir yan etki ve teşhiste kullanılan belirteçler midir, yoksa nöron ölümlerinde merkezi rol oynayan, terapötik yaklaşımlar için önemli hedefleri mi temsil etmektedir", hala net olarak anlaşılmamıştır.

Hücre iskelet sisteminde hastalığa bağlı değişiklikler farklı hücre iskelet elemanlarının iştirakine göre üç grup anomaliler olarak sınıflandırılabilir. Alzheimer, Frontotemporal demans ve Parkinson gibi hastalıklar, mikrotubul ilişkili tau proteinin translasyon sonrası modifiye edilmiş bir formunu içeren inklüzyonlar ile karakterizedir. ALS gibi diğer bazı hastalıklarda ise nörofilament ağında ciddi yapısal farklılaşmalar gözlemlenmektedir. Huntington gibi diğer bazı hastalıklar ise mikrotubul yapısındaki düzensizlikler ile karakterizedir.

Nörofilament ve tau proteinlerinin birikimi geniş spektrumdaki sporadik ve ailesel pek çok nörodejeneratif hastalıkta ortak bir özellik gibi görünmektedir. Bu inklüzyonların birikimi ise nöronların yapısal özelliklerinin kararlılığı için önemli bir mekanizma olan aksonal transporttaki aksaklıklar sonucu oluşmaktadır. Aksonal transport hücre iskelet sistemi üzerinden olmaktadır. Hücre iskeleti, nörona yapısal destek sağlamakla birlikte aynı zamanda dinamik olup hücrenin fizyolojik ihtiyaçlarına göre gereken değişimlerine cevap vermektedir. Dolayısı ile nöronlarda hücre içi transport sisteminde oluşacak bir problem aksonal transportu etkileyeceğinden nöron dejenerasyonuna yol açabilecektir. Sinyal iletim yollarında meydana gelebilecek bir aksaklık bile pek çok yolağın birbiri ile etkileşime girmesi sureti ile domino etkisi göstererek hücre için ölüme gidecek bir strese, yani nörodejenerasyona sebep olabilecektir.

HÜCRE DIŞI SERBEST DNA VE MOLEKÜLER TANI UYGULAMALARI

Doç. Dr. N. LALE ŞATIROĞLU - TUFAN

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, DENİZLİ

Doğru, güvenilir, invaziv olmayan, ucuz ve kolay uygulanabilen moleküler tanı yöntemlerinin klinik rutinde olası kullanımını sağlamak amacıyla pek çok araştırmacı yoğun olarak çalışmaktadır. 1948 yılında Mandel ve Metais tarafından nükleik asitlerin periferik kanda serbest olarak bulunduğu keşfedilmesine rağmen, ancak 1960-1970 yılları arasında romatoid artrit ve sistemik lupus eritematosus gibi bazı otoimmün hastalıklar ve çeşitli kanser olgularında, sağlıklı kişilere göre daha fazla miktarda serbest DNA taşıdıkları belirlenmiştir. Uygun şartlarda planlanıp uygulandığında kesin ve yüksek hassasiyette sahip olan polimeraz zincir reaksiyonu tekniğinin gelişimi ile çok az miktarda doku/kan veya vücut sıvısı kullanılarak farklı patolojik olaylarda meydana gelen genetik değişiklikler 1980 ve 1990'lı yıllarda kolayca tespit edilebilir hale gelmiştir. Artan miktarda serbest DNA/RNA'nın varlığı, kanser ve enfeksiyon hastalıklarında tarama, tanı, prognoz, ilaç cevabının takibi, sağ kalım, gizli hastalık takibinde kullanılabilir. Periferik maternal kanda bulunan fetal DNA varlığı başlıca Rh uyuşmazlıkları, çeşitli kromozomal bozukluklar, cinsiyet tayini gibi prenatal tanı ve ayrıca çeşitli gebelik komplikasyonlarının takibinde yön verici olabilir. Halen, dolaşımda bulunan hücre dışı serbest DNA/RNA'nın etiyolojisi, karakteristiği, kararlılığı, sağlamlığı ve farklı patolojik durumlardaki değişkenliği hakkında pek çok cevaplanamamış soru bulunmaktadır. Ancak, nükleik asit temelli moleküler tekniklerin kullanımı ile plazma, serum ve diğer vücut sıvılarından kolayca elde edilen genetik materyalin invaziv olmayan, basit ve güvenilir yöntemlerle hızlı takibinin yapılabilmesi çok önemlidir. Bu tekniklere ek olarak, fonksiyonel bir yaklaşım olan proteomik profillemenin eklenmesi hastalıkların daha geniş kapsamlı olarak değerlendirilmesinde çok büyük katkıları olacaktır.

Kaynaklar:

1. Mandel P, Metais P. Les acides nucleiques du plasma sanguin chez l'Homme. C R Acad Sci Paris 1948; 142:241-3.
2. Tan EM, Schur PH, Carr RI, Kunkel HG. Deoxyribonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. J Clin Invest 1966; 45:1732-40.
3. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. Lancet 1997; 350,485-487.
4. Hahn S, Zhong XY, Burk MR, Troeger C, Holzgreve W. Multiplex and realtime quantitative PCR on fetal DNA in maternal plasma: a comparison with fetal cells isolated from maternal blood: in circulating DNA in plasma. Ann NY Acad Sci 2000; 906,148-152.
5. Ziegler A, Zangemeister-Wittke U, Stahel R. Circulating DNA: a new diagnostic gold mine? Cancer Treatment Reviews 2002; 28: 255-271.
6. Tong Yu-Kwan, LoYM. Diagnostic developments involving cell-free (circulating) nucleic acids. Clinica Chimica Acta 2006; 363: 187-196.
7. Gormally E, Caboux E, Vineis P, Hainaut P. Circulating free DNA in plasma or serum as biomarker of carcinogenesis: Practical aspects and biological significance. Mutation Research 635 2007; 105-117.

HASTALIKLARIN MOLEKÜLER TEMELLERİ VE TEDAVİSİ**BEYAZIT ÇIRAKOĞLU**

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

Organizmalarda tüm işlevlerin moleküler temellere dayandığı ve moleküllerdeki defektlerin işlev sorunlarına yol açarak hastalıkları ortaya çıkardığı geçen yüzyılın ortalarından bu yana bilinmektedir. İnsan Genomu Projesi çevresinde gelişen genomiks, transkriptomiks, proteomiks gibi yeni araştırma alanlarındaki çalışmalar hastalıkların moleküler temelini aydınlatılmasına önemli katkılar sağlamışlardır. Geliştirilen modern tekniklerle hastalıkların moleküler temelini tanıması ve klasik ilaçlar yerine geçmeye başlayan yeni moleküler tedavi ve özellikle nanotıp uygulamaları günümüzde giderek artarak tıbbın önünde yeni ufuklar açmaktadır.

KASPAZLA-KIRILMIŞ SİTOKERATİN 18 (M30 ANTİJEN)'İN ONKOLOJİDE ÜMİT VERİCİ YENİ ROLÜ

Doç. Dr. ENGİN ULUKAYA

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, BURSA

Birbiri yerine kullanılması tam olarak doğru olmasa da, programlanmış hücre ölümü olarak da bilinen apoptozis, kanser ilaçlarıyla da indüklenebilen bir hücre ölüm şeklidir. Epitel kökenli hücrelerdeki apoptozisin önemli karakteristik özelliklerinden birisi, sitokeratin 18 içeren hücre iskeletinin hasarlanmasıdır. Hücreler apoptozise gittiklerinde sitokeratin 18, apoptozise özgü enzimler olan kaspazlar tarafından 238 ve 396. aa pozisyonlardan kırılır. Kırılma sonrasında, apoptozise özgü yeni (novel) bir epitop oluşur. Kaspazla kırılmış sitokeratin 18 (M30 Antijen) apoptotik hücreler tarafından kan dolaşımına salınır.

Oluşan yeni epitop M30 antikor olarak isimlendirilen bir antikor tarafından tanınır. ELISA testi kullanılarak, serumda bulunan M30 antijen miktarı belirlenebilir. Böylece, kanser hastalarında tedavi öncesi ve sonrası M30 antijen ölçümü yapılarak tedavinin etkinliği hakkında tedaviden 24 – 48 saat sonra fikir edinmek mümkün olabilmektedir.

Akciğer kanserli hastalarda yaptığımız ve literatürde ilk olan bir çalışmada (Ulukaya et al, 2007), M30 antijeninin kemoterapinin uygulanmasını takiben 48 saat sonra istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı bulunmuştur. Benzeri şekilde, grubumuzun yaptığı bir başka çalışmada da (Demiray et al, 2006), M30 antijeninin meme kanserli hastalarda tedavi etkisiyle arttığı saptanmıştır. Ayrıca, tedavi öncesi (bazal) M30 antijen düzeylerinin hastanın prognozunu tahmin ettirici bir parametre olduğu bulunmuştur. Apoptozise özgü bu yeni serum belirtecinin klinikte kanser hastalarının tedavisinin ve prognozunun izlenmesinde faydalı bir parametre olabileceği görülmektedir. Özellikle tedavinin etkinliğinin 24 – 48 saat gibi çok erken bir zamanda belirlenebilecek olması, onkoloğun etkisiz bir tedaviyi erkenden etkili bir tedavi ile değiştirmesine olanak sağlayabilir. Bu olanağın onkoloji pratiğinde sağlayacağı yarar çok büyüktür.

MOLEKÜLER EVRİM

Prof.Dr. ERGUN PINARBAŞI

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji AD, SİVAS

Evrimciler için DNA teknolojisindeki devrim büyük bir kazanımdır. Bu kazanımın en önemli etkeni de DNA'nın doğal yapısının evrimsel bir tarihe sahip olmasıdır. Bu tarih incelendiğinde farklı organizmalar arasındaki çeşitli genlerin DNA dizileri karşılaştırılabilmekte ve organizmaların akrabalıklarıyla ilgili bir canlının morfolojisinin bizlere anlatamadığı bilgilere ulaşılabilmektedir. Ancak DNA'nın kendisi de dağınık parçalı bir tarihe sahiptir. Bu nedenle de organizma evrimi ile ilgili çizdiğimiz resim genomdaki değişikliklerin etkisini de göz önüne almazsak bizleri yanılgıya düşürür.

Moleküler evrimin 2 genel yaklaşımı vardır; DNA'dan yola çıkarak organizmaların evrimini yada farklı organizmalardan başlayarak DNA'nın evrimini çalışmak.

Her iki yaklaşımın temelinde örnekten süreci ortaya çıkarmak yatmaktadır. Buradaki temel sorunlardan biri organizma ve DNA evrimlerinin her ikisi için ortaya çıkardığımız resim DNA süreçlerinin genom içinde oluşturduğu değişikliklerle değişebiliyor olmasıdır; yani genom akışkandır ve onu akışkan yapan süreçler evrimcilerin ilgi odağı olmuştur. Dolayısıyla moleküler evrim doğal DNA tarihi olarak da adlandırılabilir.

Bu tarih büyük bir patlamayla başladı (Big Bang) ve Milyarlarca yıl önce gerçekleşen bu patlamanın ardından dünya yaşanılacak bir yer değildi. Volkanik patlamalar, asit yağmurları, yok denecek kadar oksijen ve UV ışığından koruyacak ozon tabakası henüz oluşmamıştı. Atmosferde var olan tek şey gazlardı: amonyak, metan, hidrojen ve karbon dioksit. Şimşeklerle etkileşen bu gazlar okyanusa geri dönüp oradaki sıcak nedeniyle tekrar buharlaşıp atmosfere dağıldılar. Bu döngü sürdükçe atmosferde hidrojen siyanür, formaldehit ve asetaldehit gibi basit organik bileşikler oluşturmaya başladılar ve tekrar okyanusa geri dönerek ezogelin çorbasını andıran moleküler bir çorba oluşturdular. Çorba içerisindeki moleküler trafik öylesine yoğun ki her molekül her an yüzlercesine dokunup kimi tensel uyumsuzluk nedeniyle birbirinden kaçarken, kimileri bugünün popüler deyimleriyle ruh ikizlerini buldular ve birkaç amino asit ile birlikte diğer organik asitleri oluşturdular. Daha sonraları da nükleotid, şeker ve diğer organik moleküller yani hayatın tüm yapıtaşları oluştular. Bu patlamayla oluşan ezogelin çorbasını andıran moleküler çorbanın içerisinde bir gün gerçek Ezogelin'in evrimleşeceğini bugün yaşayan ve geçmişte yaşamış en küçük canlı bile hayal edebilirdi?

Uzun yılları alan bu süreçte birçok canlı ve birçok genom evrimleşti. Genomlar arttıkça genom savaşları da beraberinde geldi. Her organizma daha rahat bir yaşam arıyordu ve demokrasi kavramı canlılar arasında yerleşik bir kavram değildi. Başka genomlara saldırmaya ve istila etmeye başladılar. Virus saldırıları o kadar yoğun ki belki de başka bir canlıya bağımlı olarak yaşamayı istemiyorlar, başka hücrelerde olan onlarda olmayan bir şeyi arıyorlardı. Bu arayış sırasında da girdikleri hücreleri işgal altında tutup kimi zaman onlardan bir parça alıp, kimi zaman da kendilerinden bir parça bırakıp terk ediyorlardı.

Bu saldırılara uzun süre karşı koyamayan hücreler ilk zaferlerini bakterilerin restriksiyon-modifikasyon sistemleriyle aldılar. Kendi DNA'sını metilleyip faj DNA'sını parçalayıcı enzimleriyle yok ettiler ve ilk ilkel immün sistemin temellerini attılar. Ancak viruslar bu savunma sistemini aşacak yolu SPR fajları aracılığıyla buldular. Dünyadaki yaşam bu savaşlarla sürerken bakteriler bu kez baş edemediği düşmanla birlikte yok olma yolunu seçerek belkide o günün koşullarında bugünün apoptozisini andıran mcr (methylated cytosine restriction) sistemini geliştirdiler.

Çok uzun yıllara yayılan bu süreçte bir yandan genom, bir yandan besin savaşları, değişen iklim ve her şeye rağmen yaşamak içgüdüğü ile dünya farklı türler ve yaşamlara ev sahipliği yapmaya devam etti. Artan enerji gereksinimi ve giderek bollaşan oksijenli yaşama uyum sağlayabilmek için anaerob organizma ile aerob bir organizma işbirliğine girip bu değişen koşullara ayak uydurmayı başardılar (endosimbiyoz).

Ezogeline giden yolculukta bundan yaklaşık 4.5 milyon yıl önce iki ayağı üzerinde durabilen ve Lucy adı verilen doğu Afrika insanı geçmişin tüm genomlarından miras aldığı DNA'sı ile evrimleşti ve o günden bu güne en çok merak ettiğimiz sorulara bugün bile yanıt arar olduk. Kimiz? Nereden geldik? Nasıl yaşadık? Nasıl değiştik? İşte moleküler evrim DNA'larımıza kendi tarihi boyunca yazılan bu savaşların, işgallerin, yengilerin, yenilgilerin, elde ettiğimiz savaş ganimetlerini ve yenilgi kalıntılarını da içeren bu DNA tarihinin incelenmesidir.

SÖZLÜ SUNUMLAR

ATENÜE SALMONELLA ARACILI GEN TEDAVİSİ AMAÇLI OLUŞTURULAN SUŞLARDA PLASMİD KARARSIZLIĞI PROBLEMLERİ VE MUHTEMEL ÇÖZÜM ÖNERİLERİ

D.AYDIN 1, A. GÜNEL-ÖZCAN 2, G. ESENDAĞLI 1, N. MENAGER 3, M. OĞUZ GÜÇ 4, E.
KANSU1, D. GÜÇ 1

1 Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji AD, ANKARA, TÜRKİYE

2 Kirikkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, KIRIKKALE, TÜRKİYE

3 Cambridge Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi, Cambridge, İNGİLTERE

4 Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, ANKARA, TÜRKİYE

Amaç: Atenüe bakteri suşlarının gen tedavisinde töröpatik gen aktarım aracı olarak kullanılması son yıllarda diğer gen tedavisi yöntemlerine alternatif olarak ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada, Fare IL-18 ve CD40L genlerini taşıyan rekombinant plazmidler oluşturuldu ve atenüe *Salmonella typhimurium* aroB (STaroB) suşuna aktarıldı. Rekombinant plazmidleri taşıyan suşun kanser immünogen tedavisinde kullanılma amacı ile stabilitesi ve fonksiyonelliği araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: CD40L geni PMA-Ionomycin veya PHA-LPS ile uyarılmış Balb/c fare splenositlerinden ve IL-18 geni lipopolisakkaridle uyarılmış Balb/c fare aderan periferik kan mononükleer hücrelerinden RT-PCR metodu ile amplifikasyonları sağlandı. Bioaktif IL-18 proteini elde etmek amacıyla, overlap extension metodu ile Interferon γ sinyal ve matür IL-18 sekanslarından oluşan hibrid IL-18 molekülü oluşturuldu. IL-18 ve CD40L ayrı ayrı pTarget ve pcDNA3 memeli ekspresyon vektörlerinin CMV promotorları altına klonlandı. Rekombinant plazmidler atenüe STaroB suşuna elektroporasyon ile aktarıldı. CMV promotorları altındaki IL-18 ve CD40L'nin ekspresyonlarını göstermek amacıyla, NIH/3T3 fare fibroblastlarına ve HEK293 hücrelerine (insan embriyonik böbrek hücre hattı) katyonik lipozomlar kullanılarak plazmidlerin transfeksiyonları yapıldı. pTarget vektöründeki IL-18 ve CD40L ekspresyonları sırasıyla ELISA ve immünfloresan boyama ile, pcDNA3 vektörlerindeki IL-18 ve CD40L ekspresyonları RT-PCR ile saptandı. Daha sonra, rekombinant pcDNA3 plazmidlerini taşıyan STaroB inbred Balb/c farelere intravenöz yolla verildi.

Sonuçlar ve Tartışma: pTarget-IL18 ve pTarget-CD40L rekombinant plazmidlerinin in vitro stabilitesi çok düşük bulunurken pcDNA3-IL18 ve pcDNA3-IL18 rekombinant plazmidleri stabil bulundu. In vitro ortamda stabil olan plazmidlerin ise hepsinin in vivo stabilitesi %1' in altındaydı ve, farelerin karaciğer ve dalaklarında IL-18 ve CD40L mRNA ekspresyonu tespit edilemedi. Plazmid kararsızlığına yol açan muhtemel nedenler ve plazmid stabilitesini geliştirmeye yönelik öneriler sunumda tartışılacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Salmonella typhimurium* aroB, gen tedavisi, IL-18, CD40L.

Destekleyen Kurumlar: TÜBİTAK, proje numarası: SBAG-2493 ve TÜBİTAK BAYG NATO-A2 Yurt Dışı Araştırma Burs Ödülü.

BOR MİNERALİNİN PROSTAT KANSERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ: TOPLUMA DAYALI ÇALIŞMA

**M. KORKMAZ 1, T. MÜZEZZİNOĞLU 2, M. LEKİLİ 2, N. NEŞE 3, S. BAKIRDERE 4, Y. ASLAN 4,
O. YAVUZ ATAMAN 4**

1 Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji AD, VAN

2 Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Üroloji AD

3 Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi Patoloji AD, MANİSA

4 Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Kimya Bölümü, ANKARA

Amaç: Bor mineralinin prostat kanser insidansı üzerine olası etkisinin topluma dayalı olarak araştırılması.

Yöntem ve Gereç: Hedef kitleyi Balıkesir-Bigadiç yöresine bağlı, içme suyunda bor konsantrasyonu 2 mg/L veya üzerinde olan İskele nahiyesi, Osmanca, Yeniköy ve Yolbaşı köylerinde yaşayan 40 yaş üstü erkek bireyler oluşturmaktadır. Kontrol grubunu ise yine aynı yöreye bağlı sudaki bor konsantrasyonu 2 mg/L nin altında olan Çağış nahiyesi, Hamidiye, Çömlekçi köylerinde yaşayan bireyler oluşturmaktadır. Öncelikle bor bölgesinden (grup 1) 235 ve kontrol grubundan (grup 2) 259 kişinin anamnez ve öyküleri alındı, Prostat Spesifik Antijen (PSA) düzeyleri ölçüldü. Günlük bor alımları, her iki bölgeden kreatinin klirensleri uygun olan rastgele seçilmiş toplam 63 kişinin 24 saatlik idrarlarından ICP-OES yöntemi ile hesaplandı. Her iki bölgede PSA düzeyi >2,5 ng/mL olanlara (n=98) transrektal ultrason eşliğinde (TRUS) prostat biyopsisi (PBx) önerildi ve işlemi kabul eden 36 (grup 1=20, grup 2=16) olguya (%37) PBx uygulanarak örnekler histopatolojik olarak incelendi. Biyopsi için başvuran hastaların fizik muayeneleri yapıldı. Hiçbir olguda biyopsiye bağlı komplikasyon gözlenmedi.

Sonuçlar ve Tartışma: Kanser saptanan tüm hastaların gleason skorları 3+3/6 idi. Çalışma grubunda kanser+PIN oranı %20, kontrol grubunda %25 bulundu (P=0.514). Sonuçta iki grup arasında PSA düzeyleri açısından farklılık saptanmadı (P=0.901). Ancak prostat boyutları çalışma grubunda anlamlı olarak daha küçük bulundu. (P=0.005)

CANLI DONÖRDEN BÖBREK TRANSPLANTASYONUNA HAZIRLANAN HASTALARDA SİTOKİN GEN POLİMORFİZMİNİN REJEKSİYONLA İLİŞKİSİ

**Y. SEYHUN 1, J. MYTILINEOS 2,3, A. TÜRKMEN 4, F. OĞUZ 1,
Ç. KEKİK 1, F. AYDIN 1, M. ÇARİNİ**

1 İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

2 Inst. of Immunol., Univ. of Heidelberg, Heidelberg, Germany,

3 Transf. Med.&Imm. Univ. of Ulm, Ulm, Germany,

4 İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Nefroloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

AMAÇ: Böbrek transplantasyonu, son dönem böbrek yetersizliği tanısı ile izlenen hastalarda uygulanan bir tedavi yöntemidir. İmmün sistem hücreleri arasındaki etkileşim, sitokin adı verilen moleküller aracılığıyla gerçekleşir. Sitokinler, hücrelerin aktivasyonunda rol oynadığı gibi inhibisyonunda da rol oynayabilir. Sitokin üretimi, sinyal iletiminden sonra protein sentezi ile gerçekleşir. Bu nedenle, sitokin gen bölgesindeki polimorfizmler, sitokin üretimini ve sonuçta verilecek immün yanıtı etkileyebilir. Bu çalışmada transplante edilen organa karşı verilen immün yanıtta önemli rol oynayan sitokinlerin genetik polimorfizmlerinin, rejeksiyon ile ilişkisi araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Böbrek transplantasyonu gerçekleştirilen 90 hastanın ve 150 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunun sitokin gen polimorfizmleri (SGP) incelendi. Hasta grubu, rejeksiyon saptanan hastalar (R; n:19) ve rejeksiyon saptanmayan hastalar (NR; n:71) olarak iki gruba ayrıldı. Rejeksiyon tanısı klinik izlem, kreatinin düzeyi ve idrar miktarındaki değişikliklerin izlenmesi ve gerektiğinde biyopsi ile kanıtlanması sonucunda konulmuştur. Hastalar 18 ay süre ile kreatinin düzeyleri ile takip edilmiştir. SGP 10 farklı sitokin (IL-1a, -1b, -2, -4, -6, -10, -12, TGF-b, IFN-g), iki farklı sitokin reseptörü (IL-1R, -4Ra) ve bir reseptör antagonisti (IL-1RA), PZR-SSP yöntemi ile incelenmiştir. Sonuçlar gruplar arasında Fisher kesin olasılık testi ile değerlendirildi.

SONUÇLAR: IL-2 TT/TG haplotipi, rejeksiyon atağı saptanan hastalarda NR ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek sıklıkta bulundu ($p<0.0001$; 0.0007). IL-2 GG/GG ve GG/TT haplotipleri ise NR grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p:0.032$; 0.007).

TARTIŞMA: IL-2'nin yüksek düzeyde üretimini sağlayan polimorfizmlerin R grubunda, düşük üretimini sağlayan polimorfizmlerin ise NR grubunda anlamlı bulunması literatür ile uyumludur. SGP incelenmesi, graft kaybını önlemek amacıyla ileride rutin uygulamalar arasına girebilecektir.

DNA TAMİR (XPD, XRCC1) ve GLUTATYON S-TRANSFERAZ (GSTT1, GSTM1) GEN POLİMORFİZMLERİ İLE PRİMER AÇIK-AÇILI GLOKOM ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ

**B. BATAR 1, M. GÜVEN 1, A. ÖZAYDIN 1, M. ÜNAL 2, K. DEVRANOĞLU 3,
A. SARICI 3, N. TAMÇELİK 3**

1 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

2 Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD, ANTALYA

3 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD, İSTANBUL

Ozet: Primer açık-açılı glokom (PAAG) periferel görme kaybıyla sonuçlanan nörodejeneratif bir hastalıktır. Nörodejeneratif hastalıklardaki moleküler değişikliklerin ve genetik faktörlerin anlaşılmasındaki ilerlemeler, oküler doku hastalıklarının patolojisinde oksidatif DNA hasarlarının ve detoksifikasyon enzim değişikliklerinin önemli rol oynadığını ortaya koymuştur.

Amag: Çalışmamızda DNA tamirinin iki farklı mekanizmasında (NER ve BER) rol oynayan XPD (kodon 751) ve XRCC1 (kodon 399) gen polimorfizmleri ile antioksidan savunma sisteminde görevli GSTT1 ve GSTM1 gen polimorfizmlerinin PAAG gelişimindeki rollerini araştırdık.

Yöntem: XPD kodon 751 ve XRCC1 kodon 399 polimorfizmlerini PCR-RFLP (Polimeraz Zincir Reaksiyonu - Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi), GSTT1 ve GSTM1 gen polimorfizmlerini ise PCR yöntemi ile saptadık.

Bulgular: 144 PAAG hastasını ve 121 sağlıklı kontrolü içeren çalışmada, XRCC1-Arg399Gln ve XPD-Lys751Gln gen polimorfizmleri açısından PAAG hastaları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, genotip ve allel sıklığı dağılımında istatistiksel olarak herhangi bir fark gözlenmedi. GSTT1 ve GSTM1 gen polimorfizmleri açısından PAAG hastaları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, GSTM1 pozitif kişilerin sıklığı PAAG hasta grubunda (%78,5) kontrol grubundan (%55) anlamlı derecede yüksek olarak tespit edildi ($p < 0,001$, OR=2,93, %95CI=1,66-5,20). GSTT1 null kişilerin sıklığı PAAG hasta grubunda (%48,7) kontrol grubundan (%18,2) anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0,001$, OR=4,25, %95CI= 2,33-7,81).

Sonuç: Çalışmamızda XPD ve XRCC1 gen polimorfizmlerinin PAAG gelişimi için risk faktörü oluşturmadığını, fakat çalışmamızın diğer bölümünde GST polimorfizmi açısından incelediğimiz GSTM1 pozitif ve GSTT1 null genotiplerinin ise PAAG oluşumu için genetik risk faktörü oluşturduğunu tespit ettik.

EGE BÖLGESİNDEKİ 88 PRE-LINGUAL İŞİTME KAYBI OLGUSUNDA GJB2 (CX26) GENİNDEKİ MUTASYON TÜRLERİ VE SIKLIĞI

S. TÜMER 1, O. ALTUNGÖZ 1, G. KIRKIM 2, B. ŞERBETÇİOĞLU 2

1 Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD

2 Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kulak-Burun-Boğaz AD, İşitme-Konuşma-Denge Ünitesi, İZMİR.

sait.tumer@deu.edu.tr

Amaç: Yaklaşık 1000 yenidoğanda 1 sıklıkla gözlenen pre-lingual işitme kaybı en yaygın sensorinöral kusurdur. Bu olguların % 50-60'ında işitme kaybı genetik etkenlerden kaynaklanmakta ve non-sendromik, konjenital, sensorinöral işitme kaybında connexin-26 (GJB2) gen mutasyonlarının birincil olarak tutulum gösterdiği bilinmektedir. Bu çalışma kapsamındaki 88 pre-lingual işitme kayıplı olguda GJB2 genindeki ve mitokondriyal genomdaki mutasyon türlerinin ve sıklıklarının saptanması amaçlanmıştır. Ayrıca, toplumumuzda GJB2 geninin ikinci ekzonundaki tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP) saptamak için işitme kaybı olmayan bireylerden oluşan çalışma evreninde DNA dizi analizi yapılmıştır.

Gereç ve yöntem: Çalışmaya İzmir ve çevresindeki 74 bağımsız ailede, doğuştan duyu yitimi olan 88 indeks olgu ve birinci derece yakınları (kardeş ve ebeveynler) dahil edildi. İşitme kaybı odyolojik ölçümlerle belirlendi. Tüm probandlarda GJB2 geninin ikinci ekzonu PCR ile çoğaltılarak DNA dizi analizi yapıldı. Ayrıca, işitme kaybı olmayan popülasyondan seçilen 171 bireyde GJB2 geninin kodlayan bölgesindeki polimorfizmler DNA dizi analizi ile incelendi. Mitokondriyal DNA'da gözlenen A1555G ve A7445G nokta mutasyonlarını saptamak için ilgili mutasyon lokuslarını kapsayan genomik bölge PCR ile çoğaltıldı ve sırasıyla, Alw26I ve XbaI enzimleri ile kesim analizi yapıldı.

Sonuçlar: Olgu grubunun %26.6'sında mutasyon, %7.96'sında polimorfizm belirlendi. Olgu grubunda 35delG (%18.2), G380A (%2.3), A88G (%1.1), 247delTTC (%1.1), T269C (%1.1), 299delAT (%1.1), 358delGAG (%1.1) mutasyonları ve G79A (%5.68), G457A (%1.14), C570T (%1.14) tek nükleotid polimorfizmleri saptandı. Mitokondri genomunda yapılan çalışmada mutasyon belirlenmedi. Kontrol grubunda dokuz SNP %15.8 sıklıkta belirlendi. G79A (%5.3) ve G457A (%4.7) en sık gözlenen polimorfizmler olarak saptandı.

Tartışma: Bu çalışma Ege Bölgesi'ndeki işitme kaybı olgularında yapılan ilk rapor edilmiş mutasyonel analizdir. Türkiye'nin farklı bölgelerinde ve çeşitli ülkelerde yapılan benzer çalışmalara paralel olarak, GJB2 genindeki 35delG mutasyonunun kojenital, sensorinöral işitme kaybında en yüksek prevalansla gözlemlendiği saptanmıştır. Ancak, olguların büyük çoğunluğunda GJB2 geninin tutulum göstermediği saptanmıştır (% 74.6). İşitme kaybının moleküler epidemiyolojik özelliklerini daha kapsamlı olarak aydınlatmak ve diğer genetik risk etmenlerinin katkısını tanımlamak için bu alanda daha çok sayıda çalışmaya gereksinim vardır. Gelecekteki çalışmalardan elde edilmesi beklenen veriler, bu morbiditesi yüksek duyu kusurunun prenatal ve/veya neonatal olarak saptanıp önlenmesi bakımından önem taşımaktadır.

FHIT GENİNDEKİ SEKANS VARYASYONLARININ GLİOBLASTOMA MULTİFORME İLE İLİŞKİSİ

G. ÇEÇENER 1, B. TUNCA 1, Ü. EGELİ 1, A. BEKAR 2, Ş. TOLUNAY 3, K. AKSOY 4

1 Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD

2 Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroşirurji AD

3 Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD

4 Acıbadem Sağlık Grubu, Nöroşirurji Merkezi, BURSA

Amaç: Beyin tümörleri arasında en sıklıkla görülen Glioblastoma Multiforme (GBM), hızlı gelişir ve hastalar çoğunlukla kötü prognoza sahiptir. Bu nedenle GBM gelişiminde prognostik ve diagnostik değeri olan biyolojik marker'ların değerlendirilmesi, GBM gelişimini belirlemek ve tedavi sürecini planlamak için önemlidir. Tümör baskılayıcı genlerin ve onkogenlerin klonlanması ve tanımlanması GBM gelişiminin biyolojik mekanizmasının aydınlatılabilmesi için katkı sağlamaktadır. Bu çalışmamızda, GBM tümörlerinde, önemli bir tümör supressör gen olan FHIT geni varyasyonlarının varlığı ve GBM gelişiminde rollerinin araştırılmasını amaçladık.

Gereç ve Yöntem: 63 GBM vakasında intronik primerler kullanılarak FHIT geninin kodlanan bölgesine ait olan 5-9. ekzonları SSCP ve DNA Dizi Analizleri ile araştırıldı.

Sonuçlar: GBM vakalarında FHIT geninde % 22.2 (14/63) oranında 3 farklı sekans değişimi belirlendi. Bunlardan ilki, literatürde ilk kez tanımlanan kodon 49'daki G→C değişimidir (7/63; %11.1). Diğerleri ise; IVS8-17 T→ A dönüşümüne neden olan intronik sekans değişimi (3/63; %4.8) ve kodon 88'deki sessiz tipteki C→T değişimidir (4/63; %6.4).

Tartışma: GBM vakalarında FHIT geninde belirlenen bu değişimler, GBM'in moleküler sürecinin açıklanmasında katkı sağlar niteliktedir. Ayrıca bu çalışma, uluslararası literatürde FHIT gen varyasyonlarının GBM ile ilişkisini değerlendiren ilk çalışmadır.

HİSTON DEASETİLİZ İNHİBİTÖR AKTİVİTESİNİN FLOROMETRİK YÖNTEMLE GÖSTERİLMESİ

G. BORA 1, D. DAYANGAÇ - ERDEN 1, P. AYHAN 3, K. KELEKÇİ 4, S. DALKARA 2,
A. S. DEMİR 3, H. ERDEM - YURTER 1

1 Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya AD,

3 Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, ANKARA

4 Kadir Has Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, İstatistik ve Bilgisayar Bilimleri Bölümü,
İSTANBUL

Amaç: Histon deasetilaz enzimleri (HDAC) histonlardan asetil grubunu çıkartarak kromatinin sıkı paketlenmesini sağlamakta ve transkripsiyonu baskılamaktadır. Son yıllarda, HDAC'ları inhibe edebilen bileşikler tanımlanmış, hücre bölünmesini durdurucu, apoptoz ve farklılaşmayı indükleyici etkilerinin olduğu, ayrıca gen ekspresyonunu %2-5 oranında değiştirdikleri gösterilmiştir. Bu nedenle HDAC inhibitörleri (HDACi) kullanılarak çeşitli kalıtsal hastalıkların/kanserin tedavisine yönelik araştırmalar başlatılmıştır. Çalışmamızda, hücre dışı, florometrik bir ön tarama sistemi kullanılarak HDACi aktivitesine sahip olduğu bilinen inhibitörlerle birlikte dört aday bileşiğin inhibisyon aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: İnhibitör etkisi olduğu bilinen TSA, FBA, NaFBA, NaBA ve aday olarak düşünülen (BİL 1 (2-fenil-vinil boronik asit), BİL 2 (3-morfolin-propen-sülfonik asit), BİL 3 (gallik asit), BİL 4 (4-kinolin karboksilik asit))'ün aktiviteleri "HDAC İnhibitör İlaç Tarama Kiti" kullanılarak araştırılmıştır. Tüm bileşikler HeLa çekirdek özütüne 11.7-5000 μ M konsantrasyon aralığında uygulanmış, inhibisyon aktiviteleri gösterilmiş ve etkinlikleri karşılaştırılmıştır.

Sonuçlar: Florometrik okumalar sonucu elde edilen değerlerde TSA: %92,8 ($p = 0,004$), NaBA: %29,6 ($p = 0,03$), FBA: %25,5 ($p = 0,0279$) ve NaFBA: %24,8 ($p = 0,0103$) oranında anlamlı bir azalma saptanmıştır. Aday bileşiklerde ise BİL 1: %9,5 ($p = 0,2606$), BİL 2: %2,2 ($p = 0,9339$), BİL 3: %46,5 ($p = 0,0048$), BİL 4'ün ise %11,2 ($p = 0,9968$) oranında azalma gözlenmiştir.

Tartışma: Floresans değerlerdeki azalma HDAC aktivitesindeki azalmayı dolayısıyla inhibisyonun gücünü göstermektedir. Analizlerimiz inhibisyon aktivitesi en yüksek bileşiğin TSA, sonra sırasıyla NaBA, FBA ve NaFBA olduğunu, aday bileşiklerin inhibisyon aktivitelerinin ise bilinen inhibitörlerden daha fazla olmadığını göstermiştir. Ayrıca aktivitenin doza bağlı olarak arttığı saptanmıştır.

*TÜBİTAK tarafından desteklenmektedir (Proje no 105G014).

İNFERTİL HASTALARDA, GSTM1 VE GSTT1 POLİMORFİZMLERİ VE VARİKOSEL ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ANALİZİ

S. AYDOS 1, M. TAŞPINAR 1, A. SUNGUROĞLU 1, K. AYDOS 2

1Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD

2 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kısırlık Araştırma Merkezi, ANKARA

Amaç: Spermatik kordun pampiniform pleksunun bir dilatasyonu olan Varikosel, erkek infertilitesinin tedavi edilebilen bir nedenidir. Önceki çalışmalar, varikoselin, azalmış seminal plazma antioksidan kapasitesi ve spermde Reaktif Oksijen Türlerinin(ROS) artmış seviyesi ile ilişkili olduğunu önermektedir. İnsan spermatoza ve seminal plazması, ROS ile ilişkili hücresel hasarı önlemek ve ROS'u ortadan kaldırmak için çeşitli antioksidan sistemlere sahiptir. Oksidatif stresin insana ait çok sayıda durumun etiyolojisinin altında yatan bir mekanizma olduğuna inanılmakta ve varikoselden etkilenmiş hastalarda ki sperm bozukluğunda önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir. İnsan spermi küçümsenmeyecek miktarda Glutathione S-Transferase (GST) içermektedir ve bu enzim ROS'un sperme olan toksisitesini azaltmaktadır. GSTM1 ve T1 izoenzimleri GST ailesinin üyeleridir ve çeşitli kimyasal karsinojenlerin detoksifikasyonunda olduğu gibi oksidatif strese karşı korunumda da önemlidirler. Bu çalışmadaki amacımız varikoseli olan infertil hastalarla GSTM1 ve T1 genetik polimorfizmleri arasındaki ilişkinin var olup olmadığını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya, varikoseli ve idiopatik infertil tanısı olan 32 erkek birey ve varikoseli olmayan ancak infertil olan 44 erkek birey dahil edilmiştir. Polimorfizmlerin genotiplendirilmesinde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) metodu kullanılmıştır.

Sonuçlar: Varikoseli olan 32 infertil hastanın %62,5'inde GSTM1 negatif ve %25'inde GSTT1 negatif genotip saptanmıştır. Varikoseli olmayan 44 erkek infertil hastanın %52,3'ünde GSTM1 negatif ve %18,2'sinde GSTT1 negatif genotip saptanmıştır.

Tartışma: Eldel edilen farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı olmasada, biz varikoseli olan hastalarda GSTM1 negatif olma durumu daha ağırlıklı olmak üzere, GSTM1 ve GSTT1 negatif genotiplerini varikoseli olmayanlara göre daha fazla oranda saptadık.

KAN KÖK HÜCRE NAKLİ SONRASI KİMERİZM DURUMU İLE GRAFT VERSUS HOST HASTALIĞI VE NÜKS İLİŞKİSİ

Y. ÖĞRET 1, E. S. Oğuz 1, S. KALAYOĞLU-BEŞİŞİK 2, S. ANKA 3, D. TUĞCU 3, N. GÜRSES 2,
G. ÖZTÜRK 3, D. SARGIN 2, M. ÇARİN 1

1 İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD

2 İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD. Hematoloji BD KİT Ünitesi

3 İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD KİT Ünitesi

Giriş: Mitolojide kafası ve boynu aslan, vücudu keçi ve kuyruğu yılan benzeyen yapıda bir canlının adlandırılması olan kimera sözcüğü tıp dilinde, aynı veya farklı türde diğer bir canlıdan köken alan herhangi bir hücre topluluğunun bir arada bulunması, farklılaşması ve işlev görmesi yerine kullanılmaktadır. Kan kök hücre transplantasyonu (KHT)'dan sonra kimerizm ise, alıcıya ait olmayan lenfohematopoetik hücrelerin varlığını ifade eder. Lenfohematopoetik hücrelerin tamamen verici kaynaklı tespitinde tam kimerizm (TK), hem alıcı hem de verici kaynaklı olarak tespit edilmesi halinde karışık kimerizm (KK) söz konusudur. Kimerizm değerlendirilmesinde eritrosit fenotiplemesi, immünglobulin allotiplemesi, FISH ve DNA polimorfizmleri (RFLP, VNTR, STR analizleri) kullanılmaktadır.

Amaç: KHT sonrası ortaya çıkan olgun kan hücrelerin (engrafman; yamanma) kaynağını belirlemek, yamanma durumu ile KHT sonrası klinik seyirde graft versus host hastalığı (GVHH), nüks ve sağ kalım ilişkisini göstermeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: 2004 - 2007 yılları arasında hematolojik hastalığı nedeniyle allojenik KHT yapılmış 53 hastada STR analizi ile kimerizm araştırıldı. 159 örnek değerlendirildi. KHT öncesi DNA, alıcı ve vericinin çevre kanından elde edilip saklandı. KHT sonrası DNA, engrafmanı nitelendirmek ya da klinik seyri belirlemek amacıyla çevre kanı ya da kemik iliğinden elde edildi. DNA multiplex PCR yöntemi ile amplifiye edildi ve STR analizi yapıldı (Applied Biosystems AmpF[®]STR[®] Identifier[®] PCR Amplification Kit).

Sonuçlar: KHT (n=53) hastada azaltılmış dozda hazırlama rejimini takiben yapılmıştı. İlk kimerizm analizi KHT sonrası ortalama gün (15-28) bakıldı. İlk analiz ile TK, hastaların 48'inde (%87.5), KK ise 5'inde (%12.5) saptandı. TK saptanmış hastaların n=17'sinde GVHH gelişti. GVHH gelişmesi sırasında hastaların hepsinde TK mevcuttu. Tam veya karışık kimerizm durumunun GVHD üzerine istatistiksel olarak etkisi olmadığı saptandı.

Nüks n=9 (%17) hastada gelişti. Nüks sırası kimerizm değerlendirildiğinde hastaların 3'ünde hala TK ve 2'sinde KK mevcuttu. Nüks TK saptanmış hastaların %12.5'inde, KK saptanmış hastaların ise %60'ında gözlemlendi (p=0.03).

Tartışma: KHT sonrası TK tespit edilmiş hastalarda GVHH, KK gelişmiş olgularda ise nüks gelişme riski yüksektir. Öte yandan nüks durumunda hala verici kaynaklı hücrelerin tespit edilmesi, hematolojik habis hastalıklarda nüks habercisi kimerizmin düzenli aralıklarla izlenmesinin duyarlılığının zayıf olduğunu ancak verici kaynaklı hematopoezin idamesine yönelik immunoterapi planını yönlendirici olabileceğini göstermektedir.

KOLOREKTAL KANSERLİ BİR TÜRK POPULASYONUNDA CTLA-4 VE CD28 GENLERİ POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

F. DİLMEÇ, A. UZUNKÖY, A. ÖZGÖNÜL, F. AKKAFA

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genel Cerrahi AD, ŞANLIURFA

Amaç: Kolorektal kanseri (KRK) büyük bir sağlık problemidir. Sitotoksik T lenfosit ile ilişkili antijen-4 (CTLA-4) ve CD28 genleri, immün yanıtın başlayıp tamamlanmasında, T hücrelerine sırasıyla negatif ve pozitif sinyalleri sağlayan reseptörleri kodlarlar. Bu genlerdeki polimorfizmler, onların fonksiyonlarını etkileyebilir. Bu çalışmada, CTLA-4 geni +49A>G (exon 1), -318(C>T) (promotor), ve CD28 geni IVS3+17T>C (intron 3 pozisyon +17) oranlarını ve kolorektal kanserindeki rollerini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Bu polimorfizmlerin genotiplemesi, 218 Türk bireyinde (56 kolorektal kanserli ve 162 sağlıklı kontrol) PCR-RFLP metodu ile yapıldı.

Sonuçlar: CTLA-4 geni +49 GG (%1.8 karşı %6.8, OR=0.250, p=0.305) ve -318 TT (%0 karşı %0.6, OR=1.006, p=1.000) genotipleri ve CD28 geni IVS3+17CC (%8.9 karşı %3.7, OR=0.2411, p=0.155) genotipleri kanserli ve sağlıklı bireyler arasında istatistiksel olarak anlamsız bulundu. Biz aynı zamanda CTLA-4 geni +49 G alleli (%18.8 karşı %20.1, OR=0.920, p=0.891) ve -318 T alleli (7.1% vs. 4.3%, OR=1.653, p=0.314) ile CD28 geni IVS3+17 C alleli (%25.9 karşı %19.1, OR=1.353, p=0.139) oranları, sağlıklı ve kanserli bireyler arasında istatistiksel olarak bir fark oluşturmadığını bulduk.

Tartışma: Türk populasyonunda bu polimorfizmler ile kolorektal kanser riski arasında herhangi bir ilişki yoktur.

Anahtar Kelimeler: Genetik polimorfizm, CTLA-4 geni, CD28 geni, kolorektal kanser, PCR-RFLP

KORONER ARTER HASTALARINDA TRANSKRİPSİYON FAKTÖRÜ MEF2A GEN MUTASYONLARININ TARANMASI

N. ERSÖZ 1, M. HEPDOĞRU 1, İ. CAN 2, H. ARIKOĞLU 1, F. PAYDAK 1,
H. GÖK 2, A. ARIBAŞ 3

1 Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD

2 Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kardiyoloji AD

3 Konya Numune Hastanesi Kardiyoloji Bölümü, KONYA

Amaç: Koroner arter hastalığı (KAH), genetik ve çevresel faktörlerin birbirlerini etkilemesiyle oluşan multifaktoriyel bir hastalıktır. KAH ve onun önemli komplikasyonu olan miyokard infarktüsü (Mİ) ile ilgili genetik faktörlerin ortaya çıkarılması, hastalığın patogenezi açısından önemlidir. Bu hastalıkla ilgili olduğu düşünülen ilk aday gen miyosite spesifik enhanser faktör 2 A (MEF2A) genidir. Bu gen, kasa spesifik gen olarak tanımlanan ve daha sonra koroner arter endotelinde de yüksek oranda ifade edildiği tespit edilen transkripsiyon faktör gen ailesi MEF2'nin bir üyesidir. MEF2A genindeki mutasyonların, KAH'ın gelişimi ve Mİ geçirme riskinin ortaya çıkmasında önemli olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda, koroner arter hastaları ve Mİ geçiren bireylerde, MEF2A gen mutasyonlarının görülme sıklığının belirlenmesi ve KAH'ın gelişimi ile ilişkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma grupları Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kardiyoloji ABD ve Konya Numune Hastanesi Kardiyoloji Bölümlerinin hastalarından seçildi. Çalışmaya yaşları birbirleriyle uyumlu, koroner anjiyografi yapılmış, koroner arterlerinde % 70 ve üzerinde darlık saptanıp KAH teşhisi konan ve Mİ geçirmiş 128 hasta ile koroner arterleri normal, ailesinde KAH olmayan, 42 sağlıklı birey alındı. Her iki gruptan alınan kanlardan biyokimyasal tetkikler (LDL, HDL, TG) yapıldı. Genomik DNA, standart prosedürlere göre periferik kandan izole edildi. Primerler, MEF2A geninin 7. ve 11. ekzonunun nükleotid dizileri dikkate alınarak tasarlandı. Hedef bölgeler PZR tekniği ile çoğaltıldı ve tek zincirli konformasyonel polimorfizm (SSCP) yöntemi ile tarandı. Farklı göç profili gösteren örnekler dizi analizine gönderildi. Çalışmamız S.Ü. Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirildi.

Sonuçlar: PZR-SSCP analizi sonuçlarında MEF2A geninin 7. ekzonunun, 1 kontrol bireyi dışındaki tüm hasta ve kontrol bireylerinde aynı genotipe sahip olduğu ve homozigotluk gösterdiği gözlemlendi. MEF2A geninin 11. ekzonunun PCR-SSCP analizi sonuçlarında ise hasta ve kontrol grubunda yüksek derecede heterojenlik belirlendi.

Tartışma: MEF2A geninin 11. ekzonunda gözlenen heterojenliğin, diğer çalışmalarda da rapor edildiği gibi, değişen sayıdaki üçlü tekrar dizilerinin neden olduğu allelik yapıdan kaynaklandığı düşünülmektedir. SSCP analizinde belirlediğimiz farklı göç profili gösteren örneklerin dizi analizi sonuçları ile KAH'nın diğer risk faktörleri arasındaki ilişki istatistiksel yöntemlerle değerlendirilip, MEF2A genindeki değişikliklerin KAH ve Mİ ile herhangi bir ilişkisinin olup olmadığı ortaya konmaya çalışılacaktır.

KORONER ARTER HASTALIĞINDA HEMOSTATİK DEĞİŞİMLER

**Ç. B. GÜREL 1, T. ULUTİN 1, N. DOMANIÇ 2, H. SÖNMEZ 3, S. SÜER 3,
H. EKMEKÇİ 3, E. KÖKOĞLU 3, P. AKIN 2, V. A. VURAL 2**

1 İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD

2 İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kardiyoloji AD

3 İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, İSTANBUL

Amaç: Endotel hücreleri, trombositler, koagülasyon proteinleri ve fibrinolitik sistemin hemostatik sürece katkısı iyi bilinmektedir. Bu sürecin aktivasyonu esnasında hemostatik değişimi gösteren pek çok moleküler belirtecin arttığı da gösterilmiştir. Biz bu çalışmada serum lipoprotein (a) ve plasma trombosit faktör 4, Beta tromboglobulin, trombin-antitrombin kompleksi, fibrinopeptit A, D-Dimer, doku plasminojen aktivatörü ve plasminojen aktivatör inhibitörü, fibronektin düzeyleriyle, TAFI düzeylerini koroner arter hastalarında inceledik.

Gereç ve Yöntem: Kardiyoloji bölümünden elde edilen perifer kan hasta örnekleri incelendi. Bu hastalar anjiyografik olarak incelenmiş hastalardı. Çalışma 58 hasta ve 76 kontrolde ELİSA yöntemi ile gerçekleştirildi.

Sonuçlar: Söz konusu hemostatik sistem belirteçlerinin hemen hepsi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Sonuç: Bu bulgular bize koroner arter hastalarının kontrole göre koagülabilitede artış, fibrinolitik sistemde artış tarzında belirtiler gösterdiğinin ve anılan moleküler belirteçlerin klinik önemi olduğunu vurgulamıştır.

KRONİK KAS DEJENERASYONU VE YENİ HAYVAN MODELLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU ÇALIŞMALARI

Ç. KOCAEFE

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, ANKARA

Genetik kökenli kas hastalıkları ve diğer kronik sürekli kas hastalıkları kas dejenerasyonu tablosu ile sonlanmaktadır. Kas dejenerasyonu, kas liflerinde atrofi ve doku mimarisi özelliklerinin kaybı ile gözlenmektedir. Dejenerasyonun en önemli iki bulgusu kas dokusunun yerini bağ dokusu ve yağ hücrelerine bırakmasıdır. Doku dejenerasyonu, aynı zamanda bir kronik doku şekillenmesi sürecidir. Bu dejenerasyonun moleküler mekanizmaları bilinmemektedir. Kas dejenerasyonunun önlenmesi ya da tamiri için süreçte rol oynayan yolların ve mediyatörlerin anlaşılması gereklidir. Her ne kadar kas dejenerasyonuna neden olan genetik hastalıkların çeşitli hayvan modelleri varsa da, insanda gözlenen patolojik tabloyu tüm yönleri ile temsil eden ve kronik sürecin moleküler düzeyde incelenebileceği bir model yoktur.

Kas dokusunun denervasyonu, dokuda hızlı atrofi gelişimine ve fibroze neden olan bir durumdur. Benzer bir şekilde kas dokusunun hareketsizleştirilmesi, kas atrofisine ve fibroze neden olmaktadır. Yapığımız çalışmalarda, sıçanlarda achilles tendonuna uygulanan tenotomi sonucunda hareketsizleştirilen soleus ve gastrocnemius kaslarının zaman içinde insanda gözlenen kronik kas dejenerasyonu morfolojik bulgularını sergilediği gösterilmiştir.

Bu yeni kas dejenerasyonu modelinin moleküler düzeyde karakterizasyonu için kas atrofisi sürecinde dokunun hareketsizleştirilmeye verdiği tamir cevabını incelenmiştir. Bunun için, miyogenik regülatör faktörlerin (MRF) ekspresyon düzeylerine bakılmıştır. Ayrıca, kas dokusunda bulunan, doku tamiri ve idamesinde görevli olan kas öncülü "satellit" hücreleri immün-afinite yöntemi ile izole edilerek satellit hücre aktivasyonu belirleyicilerini gen ekspresyonu düzeyinde karakterize edilmiştir.

Geliştirilen bu yeni hayvan modeli, daha önce göstermiş olduğumuz yağ hücrelerinin yeniden programlanarak kas dokusuna dönüştürülebilmesi yaklaşımının denenmesi için bir model oluşturmaktadır. Kronik dejenerasyonu tetikleyen mediatörleri tanımlamak ve kas hasarının patogenezinde rol oynayan yolların aydınlatılması amacıyla bu dokularda yüksek ölçekli transkriptom analizi uygulanacaktır.

KÜÇÜK HÜCRE DIŞI AKCİĞER KANSERLERİNDE EGFR MUTASYONLARI BİYOLOJİK ETKİLERİNİ ANTİ APOPTOTİK YOLAKLAR AKT VE STAT3 ÜZERİNDEN GERÇEKLEŞTİRMEKTEDİRLER

H. AKCA ^{1, 2}, M. TANI ¹, J. YOKOTA ¹, H. BAĞCI ²

¹ National Cancer Center Research Institute, Tokyo 104-0045, Japan and
² Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Denizli 20017, Turkey

Özet: Amaç: Son günlerde küçük hücre dışı akciğer kanserlerinde (NSCLCs) özellikle de adeno karsinomlarda EGFR geninin yaklaşık olarak %20 oranında mutasyona uğradığı gösterilmiştir. EGFR mutasyonlarının adenokarsinomanın öncül lezyonu olan atypical adenomatus hyperplasia (AAH) de de bulunduğu açıklanması, EGFR mutasyonlarının çok adımlı olan akciğer kanseri gelişiminde erken evrelerle ilişkili olduklarını göstermektedir. Fakat EGFR tirozin kinaz mutasyonlarının biyolojik etkileri hala açık değildir. Biz bu çalışma ile, EGFR (delE746-A750) delesyon mutasyonunun down stream ve biyolojik etkilerini göstermeyi amaçladık

Gereç ve Yöntem: Biz bu çalışmada Akciğer kanserlerindeki EGFR mutasyonlarının patogenik ve biyolojik önemlerini açıklamak amacıyla iki farklı yaklaşıma başvurduk. Birincisi; ERBB ailesi reseptörlerinin ve ERBB ailesi majör down stream proteinleri olan Akt, p44/42 MAPK ve STAT3'ün ekspresyonu ve fosforilasyonu 17 farklı hücre dizisinde quantitative real time RT-PCR ve western blot analizleriyle araştırıldı. Diğerinde ise, EGFR eksprese etmeyen NSCLS hücre dizisi PC13'ün kullanıldığı transfeksiyon çalışmalarıdır. Bu çalışmalarda PC13 hücre dizisine wild tip ve mutant EGFR retroviral infeksiyon yöntemiyle kalıcı olarak aktarılmıştır. Böylece, sadece wild tip EGFR ve sadece Mutant EGFR eksprese eden hücre modeli yaratmış olduk. Bu model hücreleri kullanarak mutant ve wild tip EGFR ekspres eden akciğer hücrelerindeki biyolojik fenotip ve EGF sinyal iletimi arasındaki farklılıkları açıklamaya çalıştık

Sonuç: Bizim tarafımızdan PC13 hücresinde yaratılan wild tip ve mutant EGFR ekspresyonu sadece mutant EGFR transfekte edilen hücrelerde EGF uyarımı olmaksızın EGFR'ın kendisi, AKT, ve STAT3'ün serum çekilmesinden 24 saat sonra bile oldukça yüksek oranda fosforile olduğunu gösterdi. serum içermeyen kültür şartlarında mutant EGFR transfekte edilenlerin sağ kalım zamanları uzarken wild tip transfekte edilenlerde uzamadı. Bu sonuçlar, çok düşük EGF konsantrasyonlarında bile AKT ve/veya STAT3 yolaklarının aktivasyonu yoluyla mutant EGFR eksprese eden hücrelerin hayatta kalabileceklerini göstermektedir. Bu sebepten dolayı EGFR mutasyonundan kazanılan bu spesifik özellik çok safhali akciğer kanseri gelişiminde önemli bir adım olabileceğine inanıyoruz.

LİMB GİRDLE KAS DİSTROFİLERİNDE CAPN3 MUTASYONLARININ SAPTANMASI

H. GÜNDEŞLİ 1, B. BALCI 1, B. TALİM 2, H. TOPALOĞLU 3, P. DİNCER 1

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,

1 Tıbbi Biyoloji AD

2 Pediatrik Patoloji AD

3 Pediatrik Nöroloji AD, ANKARA

Amaç: Otozomal resesif limb-girdle müsküler distrofi (LGMD2) grubunda bulunan kalpainopatiler (LGMD2A), proksimal limb kaslarının simetrik atrofisi ve yüksek serum kreatin kinaz düzeyi ile karakterize edilmektedir. LGMD2A, kasa özgül bir proteaz olan kalpain-3 proteinini kodlayan kalpain-3 (CAPN3) genindeki mutasyonlar sonucunda ortaya çıkmaktadır. CAPN3 geni 15. kromozomda bulunmakta ve 24 ekzon içermektedir. Birçok ülkede yapılan araştırmalarda LGMD2 grubu içerisinde özellikle kalpainopatilerin yüksek prevalansta bulunduğu tesbit edilmiştir. Türkiye'de de 1995-2007 yılları arasında üniversitemize gelen 103 LGMD2 hastasının %42.7'si kalpainopati tanısı almıştır. Bu sonuca dayalı olarak LGMD2A grubunda CAPN3 gen mutasyonlarının tanımlanması ve hastaların klinik alt grup tanısının kesinleştirilmesi hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: 1995-2007 yılları arasında LGMD2A tanısı almış 42 hasta öncelikle yüksek sıklıkta görülen 550delA mutasyonu açısından ARMS-PCR ile taranmıştır. Bu mutasyonu taşımayan veya heterozigot formda taşıyan hastalar CAPN3 geninin mutasyon görülme sıklığı yüksek olan 10 ekzonu (ekzon 1, 4, 5, 7, 10, 11, 13, 19, 21 ve 22) için DNA dizi analizine alınmıştır.

Sonuçlar: Yapılan çalışmada 1995-2006 yılları arasında LGMD2A tanısı almış 29 hastanın 21'inde dokuz bilinen ve altı yeni mutasyon tanımlanmıştır. 2006-2007 yılları arasında analiz edilen 13 hastanın altısında ise dört bilinen ve iki yeni mutasyon tespit edilmiştir.

Tartışma: Elde edilen sonuçlara göre en sık görülen mutasyonlar c.550delA (%30) ve c.1469G>A (%7)'dir. Ayrıca mutant alellerin %32'si ekzon 4'te ve %24'ü ekzon 5'te yoğunlaşmıştır. Buna göre, LGMD2A kas distrofisinin moleküler tanısında belirtilen tarama yöntemi etkin olarak kullanılabilen ve hastaların %64'üne CAPN3 mutasyonları açısından yanıt verebilmektedir.

MEME KANSERİ GELİŞİMDE BİR RISK FAKTÖRÜ OLARAK P53 ARG72PRO POLİMORFİZMİ

M. AKKİPRİK, Ö. SÖNMEZ, H. KAYA, U. ABACIOĞLU, B. M GÜLLÜOĞLU, A. ÖZER

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Patoloji, Radyasyon Onkolojisi ve Genel Cerrahi Bölümleri, İSTANBUL

Amaç: Meme kanseri tüm dünyada kadınlarda sık görülen bir kanser türüdür. p53 geni kodon 72 bölgesinde meme kanseri dahil birçok kanser türünde yaygın olarak görülen bir polimorfizm taşımaktadır. Bu çalışmanın amacı, p53 geni Arg72Pro varyantı ile meme kanseri riski arasındaki ilişki ve bu polimorfizm ile hastaların klinik verilerinin korelasyonunu incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 95 meme kanserli hasta ve hasta yaşları ile uyumlu, ailesinde kanser hikayesi olmayan 107 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Hastalardan alınan parafine gömülü doku blokları, kontrol grubundan ise periferik kandan DNA izolasyonları yapılmıştır. Spesifik primerler kullanılarak çoğaltılan p53 kodon 72 bölgesi BstU1 restriksiyon enzimi ile kesilerek oluşan DNA fragmanları incelenerek genotip tayini yapılmıştır.

Sonuçlar: p53 genotipinin dağılımında hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. Homozigot Pro alel frekansı hasta grubunda %21, kontrol grubunda ise %11 olarak bulunmuştur. Homozigot Arg alel taşıyıcılığı ise hastalarda %26, kontrol grubunda %43 olarak tespit edilmiştir. Yapılan risk analizleri sonucunda, prolin alel taşıyıcılığının (Pro/Pro ve Pro/Arg) Arg alel homozigot taşıyıcılığına (Arg/Arg) kıyasla 2.11 kat artmış bir meme kanseri riski ve ilişkili olduğu gözlenmiştir (2.11, %95 CI, 1,16-3,83, p=0.013). Diğer yandan, Arg72Pro polimorfizmi ile yaş, Er ve PgR statüsü, evre ve aile hikayesi arasında bir ilişkiye rastlanmıştır.

Tartışma: Sonuç olarak, p53 geni üzerindeki Arg72Pro polimorfizminin meme kanseri gelişimi için önemli bir risk oluşturduğu düşünülmektedir.

MEME KANSERİ TEDAVİSİNDE HİPERTERMINİN ÖNEMİ

S. NUMANOĞLU, Ç. B. AVCI, S. YILMAZ, Z. ÖZLEM DOĞAN, C. GÜNDÜZ

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İZMİR

Amaç: Meme kanseri bayanlarda en yaygın görülen kanserdir ve DNA tamir mekanizmalarındaki mutasyonlar en önemli nedenlerinden biridir. Oksidatif stres organizmada üretilen serbest radikallerin hücredeki çeşitli moleküllerle reaksiyona girmesi sonucu hasar oluşumu ve antioksidan savunma arasındaki dengenin serbest radikaller yönünde bozulması durumudur. DNA tamir mekanizmaları ve antioksidan savunma sistemi, bu hasarı yok etme yönünde çalışmaktadır. Hipertermi fizyolojik ısının normalin üstünde olması durumudur ve mutasyonlara serbest radikallerin oluşumuna, apoptozise ve DNA zincir kırılmalarına neden olmaktadır. Bir kemoteröpatik ilaç olan Doksorubisin'in etki mekanizması topoizomeraz enzimi replikasyon için DNA sarmalını açıldıktan sonra topoizomeraz II enzimini stabilize eder ve böylelikle DNA'nın tekrar katlanması engellenir; replikasyon durdurulur. Çalışmamızda, Doksorubisinin ve Doksorubisin+hiperterminin MCF7 hücrelerinde oluşturduğu anti proliferatif etkinin nedenlerinin DNA ve gen ekspresyon düzeyinde araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda, meme kanserine model olarak MCF-7 (İnsan göğüs adenokarsinom hücre hattı) hücreleri kullanılmıştır. Doksorubisin grubunda hücreler 3 gün boyunca Doksorubisinin IC50 dozuna maruz bırakılmış, Doksorubisin+Hipertermi grubu ayrıca başlangıçta 10 dakika 44°C sıcaklığa maruz bırakılmıştır. Doksorubisin uygulanmayan grup kontrol grubu olarak alınmıştır. Sitotoksik etki Tripkan Mavis boyası ve XTT yöntemleriyle, apoptozis ise apoptotik DNA ladder yöntemi ile değerlendirilmiştir. Oluşturulan hipertermi modeli üzerinden oksidatif stresin ölçümü amacıyla Comet yöntemi uygulanmıştır. p53, MDM2 ve PIK3CA gen ekspresyonlarına etkisi için total RNA izole edilmiş ve Real-Time Online Revers Transkriptaz RT-PCR kullanılarak kantite edilmiştir. Gliseraldehit fosfat dehidrogenaz gen (housekeeping gen) ekspresyonuna oranlanarak rölatif ekspresyon oranları saptanmıştır.

Bulgular: Doksorubisinin IC50 dozu 72. saatte 10 µM olarak belirlenmiştir. Apoptozis'in 24. saatte Doksorubisin'de, 48. saatte Doksorubisin+Hipertermide belirgin olarak arttığı saptanmıştır. Doksorubisin ve Doksorubisin+Hipertermide gruplarındaki p53 ve MDM2 gen ekspresyonları kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur. p53 ekspresyonu Doksorubisin 72. saatte kontrole göre % 62, Doksorubisin+Hipertermi grubunda ise % 99 azalma saptanmış MDM2 ekspresyonlarında her iki grupta % 99 ve % 92 ve PIK3CA ise % 100 oranında azalma saptanmıştır.

Sonuçlar: Elde edilen bulguların ışığında meme kanserinin tedavisinde hipertermi uygulamasının tedavinin başarı şansını arttırabileceğini ve hipertermi uygulamasının lokal olarak gerçekleştirebileceğini düşünmekteyiz.

MESANE KANSERİ PROGNOZUNDA PIK3CA, EGFR, HTERT, P53 VE GSTT1 EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

S. YILMAZ 1, Ç. B. AVCI 1, S. DEMİRYOĞURAN 2, Z. Ö. DOĞAN 1,
B. TURNA2, S. NUMANOĞLU 1, O. NAZLI 2, C. GÜNDÜZ 1

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi 1 Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 2 Üroloji AD, İZMİR

Amaç: Ürogenital sistemde en çok rastlanan malinitelerden ikincisi olan mesane kanseri, erkeklerde rastlanan kanser ölümlerinde dördüncü sırada yer almaktadır. Tümörögenezde tümör supresör genler ve onkogenler önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Fosfatidilinositol 3-kinaz' ın p110 α-katalitik alt ünitesini kodlayan PIK3CA, kanserde bir onkogen olarak gösterilmiştir. Epitelial büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve geç evre invaziv ürotelial karsinomlar arasında güçlü bir korelasyon bulunmakta ve EGFR sinyalleşmesinin tümör progresyonunda rol oynadığı düşünülmektedir. İnsan telomeraz revers transkriptaz (hTERT) geni, insan telomeraz protein bileşenlerini kodlamakta ve birçok neoplazmda, artmış telomeraz aktivitesi kötü prognoz ile ilişkilendirilmektedir. Hücre döngüsünü düzenleyen p53, aynı zamanda bir tümör baskılayıcı gendir. Glutasyon S-transferaz (GST)' ların bir üyesi olan Glutasyon S-transferaz T1 (GSTT1), polimorfik bir sitozolik enzimdir ve azalan katalitik aktivitesi, kanser artışı ile ilişkilendirilmiştir. Çalışmamızda, mesane kanserinde tümör progresyonunda rol oynayan tüm bu genlerin ekspresyon seviyelerini tümör tanısı almış olgularda değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Mesane kanserli 11 olgunun (2K, 9E) ve 4 (3K, 1E) kontrol grubunun sabah idrar örneklerinden total RNA izole edildi. Tümör supresör ve onkogenlerin ekspresyonu Taqman yöntemi ile Real-Time Online Revers Transkriptaz RT-PCR kullanılarak kantite edildi. Gliseraldehit fosfat dehidrogenaz gen (housekeeping gen) ekspresyonuna oranlanarak rölatif ekspresyon oranları saptandı.

Bulgular: Kontrol grubunun yaş ortalaması $42,00 \pm 18,28$ ve olgu grubunun ise $69,27 \pm 6,20$ dir. Mesane kanserli olgulardan 1 olgu G1/Ta, 8 olgu G2/T1 ve 2 olgu G3/T2 dir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PIK3Ca %55,66 ($p < 0,05$), EGFR % 89,95 ($p < 0,05$), GSTT1 % 5,76 ve p53 %26,04 oranında genlerin ekspresyonlarında azalma belirlendi. hTERT gen ekspresyonu kontrol grubunda hiç saptanmazken olgu grubunda hTERT gen ekspresyonu 1090 rölatif oranda, yüksek bir değerde saptandı.

Sonuç: PIK3Ca ekspresyonu, over ve servikal kanserlerde artarken ilginç olarak mesane kanserinde anlamlı bir azalma saptanmıştır. Artmış hTERT ekspresyonunun kanser tanısında bir biomarker olarak değerlendirilebileceğini ve GST enzimlerinin azalan aktivitesinin, mesane kanserinin prognozunda karsinogenlerin yetersiz detoksifikasyonunu gösterebileceğini düşünmekteyiz.

MESANE KARSİNOMLU HASTALARDA FISH ANALİZİ İLE TANI VE TAKİP**F. S. PALA 1, M. KAPLAN 2, K. TABAKÇIOĞLU 1, İ. H. ATAKAN 2, O. İNCİ 2, Ç. ALGÜNEŞ 1**

1 Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD

2 Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji AD, EDİRNE

Amaç: Mesane kanserli hastaların tanı ve takibinde sitolojik yöntemler, NMP22-A, BTA gibi tümör belirleyici proteinlerin analizi veya biopsi örneklerinde patolojik veya Flow sitometrik inceleme gibi çeşitli yöntemler kullanılmakla birlikte bu yöntemler için örnek almadaki zorluklar, ya da yöntemlerin duyarlılıklarının sınırlı olması bu konuda çalışan araştırmacıları yeni teknikler aramaya yöneltmiştir. Bu konuda en son geliştirilen yöntem mesane karsinomuna özel anöploidilerin (+3, +7, +17 ve -9p21) FISH yöntemi ile analizidir. Diğer yöntemlerle pozitif sonuç elde edilmediği durumlarda, Pozitif FISH sonucu mesane kanserinin reküransına veya üriner bölgedeki diğer organlarda üretrada, böbrekte ve/veya prostatta yeni bir kanserin gelişmekte olduğuna işaret ettiğini gösteren çalışmalar vardır. Bu nedenle sadece tanıda değil, hastanın takibinde de son derece faydalı olacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada mesane kanserini belirlemekte kullanılan diğer yöntemlerde daha önce pozitif veya negatif sonuç alınmış hastalarda FISH analizi yapılarak yöntemin, karsinomu ve/veya reküransını belirlemedeki duyarlılığı araştırıldı.

Yöntem: Mesane karsinomlu olduğu tarafımızca bilinmeyen, 26 üroloji hastasından alınan idrar örneklerinde mesane karsinomuna spesifik anöploidiler (+3, +7, +17, -9p21) FISH yöntemiyle belirlendi.

Bulgular: 26 hastadan 21'inde pozitif sonuç elde edildi. 5 hastada anöploidi gözlemlenmedi. Analizden sonra yapılan karşılaştırmada pozitif ve negatif sonuçlar, patoloji sonuçları ile uyumlu bulundu. Takipteki hastalarda anöploidi sayısında düşüş ve/veya negatif sonuç gözlemlendi.

Sonuç: FISH yöntemi ile anöploidi değerlendirmesinin, mesane karsinomlu hastaların tanı ve takibinde kullanılmaya uygun bir yöntem olduğu görülmektedir. Ayrıca, örnek almanın kolay olması, hızlı sonuç elde edilebilmesi ve hastaların takibinde ve reküransların belirlenmesinde de başarılı olması nedeniyle diğer tümör belirleyici yöntemlere göre daha avantajlıdır.

METABOLİK SENDROM VE GLUKOKORTİKÖİD RESEPTÖR GENİ BCLİ VE TTHİİİİ POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Z. KAYA, M. AKKİPRİK, C. ARAL, S. ÇAĞLAYAN, G. ÖZİŞİK, M. ÖZATA, A. ÖZER

Marmara Üniversitesi, Tıp Fak., Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL
GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Endokrinoloji Servisi, İSTANBUL

Amaç: Metabolik sendrom, diyabet, glukoz tolerans bozukluğu,abdominal obezite, hipertrigliseridemi /HDL kolesterol düşüklüğü, albuminüri veya hipertansiyon kriterlerinden en az ikisinin bir arada bulunması ile karakterize bir hastalıktır. Bozulmuş glukokortikoid hormon aksiyonu metabolik sendromun etiyolojisine katkıda bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, metabolik sendromlu hastalarda glukokortikoid reseptör geni Bcll ve Tthllll varyantlarının görülme sıklığını ve muhtemel ilişkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya alınan 53 metabolik sendrom tanılı hasta ve 90 sağlıklı birey GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Endokrinoloji servisi tarafından sağlanmıştır. Hasta ve kontrol grubundan alınan periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu ve ardından PZR-RFLP yöntemi ile genotip analizleri yapılmış, gruplar arasındaki dağılım farkı SPSS programında ki kare testi ile değerlendirilmiştir.

Sonuçlar: Bcll polimorfizmi kapsamında hasta grubunda; 22 (%41.5) doğal tip, 24 (%45.3) heterozigot ve 7 (%13.2) polimorfik genotip tespit edilmiş olup kontrol grubunda ise bu oranlar sırasıyla 48 (%53.3), 38 (% 42.2) ve 4 (%4.4) olarak tanımlanmıştır. Buna karşın Tthllll polimorfizm dağılımı ise hasta grubunda; 24 (%45.3) doğal tip, 25 (%47.2) heterozigot ve 4 (%7.5) polimorfik varyant gözlemlenmiş olup kontrol grubunda ise bu oranlar sırasıyla 36 (%40), 42 (%46.7) ve 12 (%13.3) olarak tespit edilmiştir. Her iki polimorfizmin varlığı ile metabolik sendrom arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Tartışma: Glukokortikoid reseptör geni 2. intron üzerindeki Bcll ve promotor bölgesindeki Tthllll varyant taşıyıcılığının metabolik sendrom ile ilişkili olmadığı gözlenmiştir. Çalışma hasta ve kontrol potansiyeli genişletilerek devam etmektedir.

OLİGODENDROSİT MİYELİN GLİKOPROTEİN (OMGP)'NİN NF1 İLE İLİŞKİLİ ÖĞRENME GÜÇLÜKLERİNDEKİ ROLÜ

Y. K. TERZİ 1, S. OĞUZKAN 2, A. KUZPINAR 1, B. ANLAR 3, E. BAKAR 3, Ş. AYTER 1

Amaç: Toplumda öğrenme güçlüğü (ÖG) %1-15 sıklıkla görülmekle birlikte Nörofibromatozis tip 1 (NF1) hasta grubunda bu oran %50'lere çıkmaktadır. NF1, 4000 kişide bir görülen otozomal dominant bir hastalıktır. NF1 geninde yer alan mutasyonlar tanımlanabilmekle birlikte genotip fenotip ilişkisi hala kurulamamaktadır. NF1'de gözlenen klinik heterojenitenin ortaya çıkmasında modifiye edici genlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Oligodendrosit miyelin glikoprotein (OMGP) geninin, NF1 hastalarında görülen öğrenme güçlüğü fenotipinin gelişmesinde etkili olabilecek bir aday modifiye edici gen olduğu ileri sürülmektedir. OMGP geni, NF1 geni içinde intron 27b'de yerleşiktir. Bu çalışmada, OMGP'nin NF1'de gözlenen ÖG fenotipi üzerindeki modifiye edici etkisini incelemek için OMGP geni ve 5'UTR bölgesi analiz edildi.

Gereç ve Yöntem: Çalışma grubu öğrenme güçlüğü olan ve olmayan NF1 hastaları ve sağlıklı kontrol grubundan oluşmuştur. Öğrenme güçlüğü, "Wechsler Intelligence Scale for Children-Revised" (WISC-R) testi uygulanarak saptandı. OMGP geni ve 5'UTR bölgesini analiz etmek için DNA dizi analizi yöntemi kullanıldı.

Sonuçlar: Yedi NF1 hastasında OMGP62 polimorfizmi tanımlandı. Bu polimorfizm, öğrenme güçlüğü olan ve olmayan NF1 hastalarında ve sağlıklı kontrol grubunda incelendiğinde allelerin dağılımı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P=0,447$). OMGP geninde ve 5'UTR bölgesinde başka bir değişiklik tanımlanamadı.

Tartışma: Literatürde OMGP genindeki mutasyonlar ile diğer bilişsel problemler arasında ilişki olduğunu gösteren bilgiler bulunmaktadır. OMGP geni, NF1 için aday modifiye edici gen olarak kabul edilmesine rağmen bizim sonuçlarımıza göre OMGP geninin NF1'de görülen öğrenme güçlüğü fenotipi üzerinde modifiye edici bir etkisi yoktur.

PI3K/AKT/MTOR SİNYAL İLETİ YOLAĞININ HEPATOSELLULAR KARSİNOMA HÜCRELERİNDE HÜCRE DÖNGÜSÜ KONTROLÜNDEKİ ROLÜ

I. KUNTER 1, N. ATABEY 1, E. ERDAL 1

1 Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, İZMİR

Amaç: Hepatoselüler karsinogenez sürecinde pleiotrofik büyüme faktörlerinin, reseptörlerinin ve bunların uyardığı diğer sinyal ileti yollarında rol alan moleküllerin çok önemli rolü vardır. Son yıllarda yapılan araştırmalar PI3K sinyal ileti yolağının hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptozdan korunma, tümörögenез ve anjiogenez gibi birçok biyolojik süreç ile ilintili, önemli bir hücre içi düzenleyici olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada hepatoselüler karsinoma (HCC) hücrelerinin proliferasyonunda PI3K sinyal ileti yolağının rolünün anlaşılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: HCC hücre dizilerinde PI3K sinyal iletimini bloklamak için LY294002 kullanıldı. PI3K aktivitesinin inhibisyonu, hem bazal hem büyüme faktörü ile uyarılmış koşullarda Ser 473 den fosforile Akt protein düzeyinin azalması ile Western blot yöntemi kullanılarak gösterildi. Hücre döngüsü analizleri FACS ile gerçekleştirildi..

Sonuçlar: Bu çalışmada , PI3K aktivitesi inhibisyonunun hepatoselüler karsinoma hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği ve hücre döngüsünü G1 fazında durdurduğunu gösterdik. Bu değişime CDC2 ekspresyonunda, Rb proteinin Ser 608 den fosforillenmesinde ve cdc 2 nin Thr 14 ve Tyr 15 den fosforillenmesinde azalma eşlik ederken, CDK4 ekspresyonu etkilenmedi. Akt inhibisyonu aynı zamanda mTOR un Ser 2448 den fosforilasyonunu azaltırken, MAPK aktivasyonunu değitirmedi.

Tartışma: HCC hücrelerinde PI3K/Akt/mTOR sinyal yolağı, hücre döngüsünün G1 de ilerlemesini Rb proteininin fosforilasyonunu değıştirerek düzenlemektedir.

PRENATAL TANIDA SAPTANAN İLAVE MARKER KROMOZOMLAR (SSMC): PREVALANS VE KROMOZOMAL KÖKEN

O. ALTUNGÖZ, S. TÜMER, E. AY, Ş. ÇAKMAKOĞLU, Ö. AY, F. PARALI, Ç. ERESEN, M. SAKIZLI

Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, İZMİR

oguz.altungoz@deu.edu.tr

Amaç: İlave küçük marker kromozom (sSMC) veya yapısal yönden anormal ilave kromozom (ESAC) terimleri konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle kökeni tam belirlenemeyen, yapısal olarak heterojen bir grup olan anormal ilave kromozomlar için kullanılmaktadır. Bu çalışmada, sSMC kromozomlarının kökeninin tüm kromozom DNA kütüphanesi (wcp) kullanarak çoklu renk floresans in situ hibridizasyon (FISH) yöntemiyle belirlenmesi ve prenatal tanıdaki prevalansının saptanması hedeflemiştir.

Gereç ve Yöntem: Çeşitli endikasyonlar ile laboratuvarımıza gelen 5619 amniyosentez olgusunda in situ kültür yöntemi ve GTG bantlama uygulanarak konvansiyonel sitogenetik analiz gerçekleştirildi. sSMC kromozomu saptanan olgularda, marker kromozomun kökenini belirlemek için çoklu renk wcp-FISH yöntemi uygulandı.

Sonuçlar: 5619 amniyosentez olgusunun 4'ünde (% 0.071) sSMC (ESAC) kromozomu saptandı. Bu olguların karyotipleri aşağıda verilmiştir.

Olgu 1; 46,XX[9]/47,XX,+ESAC[8]/48,XX,+2,+ESAC[2],

Olgu 2; 46,XX[63]/47,XX,+ESAC[10]

Olgu 3; 47,XX,+ESAC[22]

Olgu 4; 47,XY,+ESAC[64].

Üçüncü olgudaki marker kromozomun 15 no'lu kromozomun perisentromerik bölgesinden türediği wcp-FISH analizi ile saptandı. Bu olgudaki parental karyotip analizi sonucunda marker kromozomun maternal olarak kalıtıldığı gösterildi. Diğer olgulardaki marker kromozomlar parental karyotiplerde gözlenmedi. IV no'lu olgudaki de novo marker kromozomun wcp21 probu için kısmi pozitif olduğu saptandı.. Marker kromozomu taşıyan hücre klonlarının yetersiz olması nedeniyle mozaik olgularda FISH çalışması yapılamamıştır.

Tartışma: Yalnızca morfolojik analizle ilave "mar" kromozomların kökeninin çözülmesi genelde mümkün değildir. De nova olgularda, risk tayini ve genetik danışma için kökenin belirlenmesi gerekli olabilmektedir. Bu ve diğer çalışmalar familyal ilave "mar" kromozomu olgularında reproduktif riskin düşük olduğunu göstermektedir.

PROSTAT KANSERİ GELİŞİMİNDE GLUTATYON S-TRANSFERAZ GEN AİLESİNİN ÖNEMİ

R. ÖZEL¹, N. TOPÇUOĞULLU¹, B. KOSOVA¹, Ç. ÇAL²

¹ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD

² Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD, İZMİR

Amaç: Prostat kanseri erkeklerde en sık görülen kanser olup, kanserin yol açtığı ölüm nedenleri arasında akciğer ve kolon kanserlerinden sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Hastalığın gelişiminde etnik farklılıkların yanında ileri yaş, yaşam tarzı, beslenme, bozulmuş androjen metabolizması gibi çeşitli çevresel ve genetik faktörlerin rol oynadıkları bilinmesine karşılık, ardındaki moleküler mekanizmalar günümüzde daha tam olarak ortaya konulamamıştır. Prostat kanseri gelişiminde rol oynadıkları tartışılan genlerden bazıları Glutatyon S-Transferaz (GST) gen ailesine üyedirler. Çalışmamızda Türk erkeklerinde bazı GSTP1, GSTM1 ve GSTT1 gen polimorfizmlerinin yaygınlıklarını ve prostat kanseri gelişimi üzerindeki etkilerini ortaya koymayı amaçladık.

Gereç Ve Yöntem: Çalışma grubumuz Kasım 2005 - Aralık 2006 döneminde Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na başvurup, klinik olarak prostat kanseri teşhisi konulan 54 olgudan; kontrol grubu ise 57 sağlıklı gönüllü olgudan oluşmaktaydı. GSTP1Ile105Val, GSTP1Ala114Val, GSTM10 ve GSTT10 gen polimorfizmleri olguların periferik kan örneklerinden izole edilen DNA'lardan, hızlı ve güvenilir bir metot olan gerçek-zamanlı PCR ile araştırılmıştır.

Elde edilen veriler ki-kare sonucu ile elde edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma: Sonuçlarımıza göre çalışma ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Çalışmamızda bu gen polimorfizmlerin toplumumuzdaki yaygınlıkları diğer ülkeler ile karşılaştırılmış ve prostat kanseri ile ilişkilerinin çelişkili olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle, daha anlamlı sonuçlar elde edebilmek için olgu sayısının artırılması ve GST gen polimorfizmlerinin prostat kanseri ile ilişkilendirilmiş diğer gen polimorfizmler ile birlikte değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

PROSTAT KANSERİNDE PLAZMA SERBEST DNA' NIN DÖRT PROB İLE KANTİTASYONU

Z. Ö. DOĞAN 1, Ç. B. AVCI 1, S. DEMİRYOĞURAN 2, S. YILMAZ 1, B. TURNA 2, S. NUMAOĞLU 1, O. NAZLI 2, C. GÜNDÜZ 1

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi 1Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 2Üroloji AD, İZMİR

Amaç: Prostat kanseri erkeklerde en fazla tanı konulan neoplazmdır ve kansere bağlı mortalitede ikinci sıradadır. Kan dolaşımında iki çeşit DNA bulunmaktadır. Biri lökositlerdeki DNA diğeri ise hücre dışı serbest DNA'dır. Serbest DNA'nın apoptoz ya da nekroz sonucu dolaşıma katıldığı düşünülmekte ve genellikle kanserli olguların serum ve plazmalarında yüksek oranda bulunmaktadır. Tümör DNA'sının tüm karakteristikleri serbest DNA'da da bulunmaktadır. Dolaşımdaki DNA'nın kantitatif tayini yeni tümör belirteci olarak geliştirilen noninvaziv bir yöntemdir.

Çalışmamızda, prostat kanseri tanılı olgularda plazma serbest DNA düzeylerinin, insan telomeraz revers transkriptaz (hTERT), Y kromozomuna spesifik bölge (SRY), Siklooksijenaz 2 (COX-2) ve Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) gen bölgelerinin kopya sayılarının kantitasyonu ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda prostat kanseri tanılı / ön tanılı 30 olgudan 8 ml EDTA'lı kandan plazma ayrılmış ve ayrılan 3 ml plazmadan serbest DNA izole edilmiştir. Serbest DNA'nın kantitasyonu Real time kantitatif PCR LightCycler cihazında TaqMan sistemi 5' ekzonükleaz metoduna göre logaritmik faza girdikleri geçiş noktasına (Cp) göre hTERT, SRY, COX-2 ve GAPDH genlerinin kopya sayıları belirlenmiştir. Çoğaltılan bölge büyüklükleri hTERT için 98 bp, SRY 137 bp, COX-2 826 bp ve GAPDH 226 bp'dir. Kantitasyon analizi ile saptadığımız kopya sayıları Lo ve ark. larının geliştirdiği çevirim formülü kullanılarak ml'deki kopya sayısına ve sonrasında pg/ml'ye çevrilmiştir.

Bulgular: Prostat kanseri tanısı veya ön tanısı almış 30 olgunun yaş ortalaması $61,00 \pm 7,91$ (42 - 79, median 60) dir. Olguların PSA ortalaması $12,42 \pm 10,06$ ve TNM sınıflandırmasına göre; 7 olgu T2a, 11 olgu T2b, 6 olgu T3a, 4 olgu T3b ve 1 olgu T4Mb'dir. Olguların serbest plazma DNA'sı hTERT gen bölgesine göre ortalaması $413,68 \pm 1.366,83$ ng/ml (3,5 - 7.590,00 ng/ml, median 106,43 ng/ml), SRY gen bölgesine göre ortalaması $173,08 \pm 589,79$ ng/ml (0,36 - 3.267,00 ng/ml, median 33,43 ng/ml) ve GAPDH gen bölgesine göre ise ortalaması $338,73 \pm 926,23$ ng/ml (0,21 - 4.785,00 ng/ml, median 16,86 ng/ml) olarak saptanmıştır. GAPDH ile hTERT arasında % 84,7 GAPDH ile SRY arasında % 87,9 ve hTERT ile SRY arasında ise % 98,6 oranında anlamlı bir korelasyon saptanmıştır ($p < 0,05$). Serbest plazma DNA miktarları ile tümör evreleri, PSA ve gleason skoru arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. COX-2 gen bölgesi kantitasyonu gerçekleştirilememiş ve Nested PCR uygulanarak 16 olgu pozitif bulunmuştur.

Sonuç: COX-2 gen bölgesini 826 bp'lik büyük bir bölge olarak belirlemize rağmen kantite edemememizin nedeni apoptozda oluşan DNA fragmentasyonun 100-600 bp arasında beklenmesidir, bu bizim bulgularımız ile koreledir ve serbest plazma DNA'nın büyük bir kısmının apoptoz sonucu dolaşıma geçtiğini desteklemektedir. Prostat kanserinde, serbest DNA yönteminin 4 farklı prob ve geniş seriler ile "cut-off" değerlerinin belirlenmesi yoluyla tanı değerinin artacağına inanmaktayız. Yöntemin geçerliliğinin gösterilmesiyle prostat kanserinde tanıya yardımcı bir non-invaziv yöntemin uygulamaya geçirilebileceğini düşünmekteyiz.

PROSTAT KANSERİNDE PSA GEN EKSPRESYONU İLE CYP17 , ER alfa POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ

H. TIĞLI, N. DALAY

İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü

Amaç: Prostat kanseri erkeklerde en sık görülen kanser tiplerinden biri olup kansere bağlı ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer alır. PSA geninin ekspresyonu steroid hormonların kontrolü altındadır. Steroid hormon üretiminde önemli bir fonksiyona sahip olan CYP 17 geninin 5' promotör bölgesinde meydana gelen TC polimorfizminin prostat kanser riskini arttırdığı düşünülmektedir. Östrojen reseptör (ER) geninin 1. eksonundaki kodon 10 TC polimorfizminin de prostat kanseri için risk faktörü olabileceği bildirilmektedir. Çalışmamızda PSA gen ekspresyonu ile CYP17 ve ER gen polimorfizmlerinin muhtemel etkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda prostat kanserli ve selim hiperplazili (BPH) hastalar ile sağlıklı erkeklerden oluşan kontrol gruplarından DNA ve RNA izole edildi. Polimorfik bölgeler PCR-RFLP ile, PSA gen ekspresyonu ise nested PCR ile incelendi. Sonuçlar 2 testi ile değerlendirildi.

Sonuçlar: Prostat kanserli 131 hastanın 44'ünde (%33.6) PSA ekspresyonu gözleildi. BPH'li hastaların 44 (%72)'ünde PSA gen ekspresyonu görülmezken, 17 (%27) 'sinde pozitif sonuç elde edildi. Kontrol grubunda ise sadece 3 (%7) kişide pozitif sonuç bulundu. Prostat kanserli hastaların sonuçları kontrol grubu ile kıyaslandığında fark anlamlıdır (2=12, p= 0.0005). Ayrıca ekspresyon gözlenen hastalarda tedavi sonrası metastaz varlığı ekspresyon gözlenmeyenlerle karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklı bulundu (2=16.8, p= 0.00003).

Prostat kanserli hastalarda ER10C polimorfik allelinin görülme sıklığı, sağlıklı kontrol grubuna kıyasla ($2=4.56, p=0.03$) anlamlı ölçüde yüksek bulunurken BPH'liler ile kıyaslandığında anlamlı fark görülmeydi.

CYP 17 gen polimorfizmi açısından incelenen prostat kanserli, BPH'li ve sağlıklı kontroller arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Tartışma: Sonuçlarımız PSA gen ekspresyonunun metastaz açısından yüksek risk ile, ER10C allelinin de prostat kanser riski ile yakından ilişkili olduğunu göstermektedir.

PS-1, IL1A VE VDR GENİ POLİMORFİZMLERİ İLE ALZHEİMER HASTALIĞI İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

E. DURSUN 1, D. GEZEN - AK 1, Ö. UYSAL 2, T. ERTAN 3, B. BİLGİÇ 4, H. GÜRVİT 4, M. EMRE 4, E. EKER 3, F. ENGİN 3, S. YILMAZER 1

İstanbul Üniversitesi

1 Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyoistatistik BD;

3 Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Psikiyatri AD, Geropsikiyatri BD;

4 İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, Davranış ve Hareket Bozuklukları Birimi, İSTANBUL

Amaç: Alzheimer hastalığı (AH) yaşlılarda sıkça görülen bilişsel yetersizliklerin başlıca sebebidir. Hastalık, ilerleyen hafıza kaybı ve bilişsel fonksiyonlardaki azalma ile tarif edilir. AH, genellikle yaşlılarda görülmekle birlikte ailesel şekilleri genç bireylerde de saptanmaktadır. Presenilin-1 (PS-1) geni intron 8 polimorfizmi ve İnterlökin 1 alfa (IL1A) geni promotör bölgesi polimorfizmi (-889) geç başlangıçlı Alzheimer hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. Vitamin D reseptör (VDR) geni ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Biz bu çalışmada IL1A, PS-1 ve VDR genotipleri ile AH arasında ilişki olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza altmış iki adet geç başlangıçlı Alzheimer hastası ve hastalarla yaş paralellliği gösteren kırk sekiz adet sağlıklı kontrol dahil edildi. PS-1 ve VDR tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP) belirlemek üzere PCR ve RFLP teknikleri, IL1A genotiplerini belirlemek için ise PCR-CTPP yöntemi kullanıldı.

Sonuçlar: Hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında PS-1 ve IL1A genotip dağılımlarının ki kare testine göre anlamlı bir fark göstermediği belirlendi (sırasıyla, $p=0.3$ ve $p=0.5$). Gruplar, VDR geninin Apa I genotipleri açısından karşılaştırıldığında ise Aa genotip sıklığının hastalarda kontrollere oranla belirgin bir şekilde arttığı saptandı ($p=0.01$). VDR geni Aa genotipi, taşıyan hasta ve kontroller IL1A genotipleri açısından karşılaştırıldığında ise hastalarda IL1A "CC" genotipinin istatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte daha sık görüldüğü saptanmıştır (hastalarda %70, kontrollerde %41).

Tartışma: Bir ön çalışma niteliğindeki sonuçlarımız, Alzheimer hastalığında VDR geni Aa genotipi ile PS-1 ve IL1A genlerinin AH için risk faktörünü arttırdığı ileri sürülen genotipleri arasında anlamlı bir ilişki ortaya koymamıştır.

PSİKİYATRİK OLGULARDA BEYİN-KAYNAKLI NÖROTROFİK FAKTÖR VE KATEKOL-O-METİLTRANSFERAZ GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

B. TEZCANLI 1, E. ALTINTOPRAK 2, B. KAYAHAN 2, B. VEZNEDAROĞLU 2, H. COŞKUNOL 2, N. TOPÇUOĞLU 1, B. KOSOVA 1

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
1 Tıbbi Biyoloji AD ve 2 Psikiyatri AD, İZMİR

Amaç:Poligenik kalıtım gösteren psikiyatrik hastalıklardan şizofreni, bipolar bozukluk ve alkolizmin patofizyolojisinde Beyin-Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) ve Katekol-O-Metiltransferaz (COMT) genlerindeki değişikliklerin rol oynadıkları düşünülmektedir. BDNF nörotrofini nöronal yaşam ve fonksiyonalliteden sorumluyken, COMT enzimi beyin nörotransmitterlerinden katekolaminin metabolizmasında görev alır. Çalışmamızda BDNF ve COMT genlerindeki polimorfizmlerinin toplumumuzdaki yaygınlıklarını ve bazı psikiyatrik hastalıklarla ilişkilerini değerlendirmeye çalıştık.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya 66 sağlıklı kontrol ve DSM-IV kriterleriyle tanı almış 63 şizofreni, 10 bipolar bozukluk, 44 alkol bağımlısı olgu dahil edildi. Olgular PCR-RFLP metoduyla normal, heterozigot ve polimorfik olarak genotiplendirildi. İstatistiksel analizler 2 testle gerçekleştirildi.

Bulgular: Şizofrenik, bipolar, alkol bağımlısı olgular ve kontroller BDNFVal66Met genotip ve haplotip dağılımları açısından karşılaştırıldıklarında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). COMTVal108/158Met için karşılaştırıldıklarında ise şizofreni ve alkol bağımlısı olgular ile kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanırken (genotip ve haplotip: $2=26,187$, $p<0,001$ ve $2=24,358$, $p<0,001$; $2=31,926$, $p<0,001$ ve $2=34,503$, $p<0,001$), bipolar olgular için saptanmadı ($p>0,05$). Şizofrenik ve alkol bağımlısı olguların BDNF/COMT bileşik genotip-haplotip dağılımları yine kontrol olgulara göre yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu: VV/MM bileşik genotipi için sırasıyla $2=26,775$, $p<0,001$ ve $2=32,223$, $p<0,001$; V/M bileşik haplotipi için $2=28,980$, $p<0,001$ ve $2=33,180$, $p<0,001$.

Sonuç-Tartışma: Sonuçlarımıza göre COMTVal108/158Met polimorfizmi toplumumuzda şizofreni ve alkol bağımlılığının gelişiminde etkilidir; bipolar grubunda etkili bulmamamızın nedeni düşük olgu sayısı olabilir. İncelediğimiz hastalıklarla BDNFVal66Met polimorfizmi arasında bir ilişki saptanmadı. BDNFVal66Met polimorfizminin başka topluluklarda ilgili psikiyatrik hastalıklarla ilişkili bulunmuş olması etnik farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle, BDNF ve COMT gibi genlerdeki değişikliklerin psikiyatrik hastalıkların gelişimleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi her toplum için ayrı olarak gerçekleştirilip değerlendirilmelidir.

PYRİN-SİVA İLİŞKİSİNİN İNFLAMASYONDAKİ ROLÜ

B. BALCI PEYNİRCİOĞLU 1, N. RICHARDS 2, D. GUMUCİO 2, E. YILMAZ 1

1 Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, ANKARA

2 Michigan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Hücre ve Gelişimsel Biyoloji AD, MICHIGAN

Amaç: Ailevi Akdeniz ateşi (AAA) hastalığı geni, MEFV, pyrin adı verilen, inflamasyonda önemli olduğu düşünülen proteini kodlamaktadır. Bugüne kadar ASC ve PSTPIP1 isimli iki protein, 'pyrin ile ilişkili protein' olarak saptanmıştır. Bu çalışmanın amacı bir diğer 'pyrin ile ilişkili protein' olan Siva ve Pyrin arasındaki ilişkinin belirlenmesi ve bu ilişkinin inflamasyondaki rolünün aydınlatılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Pyrin ile ilişkili proteinlerin saptanabilmesi için, pyrinin yem olarak kullanıldığı maya-2-hibrit sistemi deneyleri yapıldı. Pyrin-Siva interaksiyonunun gösterilmesi ve bu interaksiyonda önemli protein domainlerinin belirlenebilmesi için immünpresipitasyon deneyleri yapıldı. Pyrin ve Siva proteinlerinin hücresel lokalizasyonları immunflorasan boyama ile analiz edildi ve bu interaksiyonun apoptoz üzerindeki etkisi DNA fragmentasyon deneyi ve akim sitometri kullanılarak araştırıldı.

Sonuçlar: Maya-2-hibrit deneyleri sonucunda, Siva, pyrin ile ilişkili bir protein olarak saptandı. İmmünpresipitasyon deneyleri ile, pyrinin hem Siva-1 hem de Siva-2'ye bağlandığı gösterildi. Bu deneyler sonucunda ayrıca, MEFV geninde ekzon10, Sivada ise ekzon1'in interaksiyon için önemli olduğu gösterildi. İmmunflorasan mikroskopi ile, pyrin ve siva-2'nin transfekte hücrelerdeki hücresel dağılımına bakıldığında, bu proteinlerin stoplazmada özellikle stres fibrilli benzeri yapılar üzerinde ve hücre membranında birlikte lokalize olduğu görüldü. Bu ilişkinin hücre ölümü üzerine etkisi araştırıldığında; Pyrin, Siva-1 ve Siva-2'yi kodlayan vektör kasetleri ile değişik kombinasyonlarda ko-transfekte edilen hücrelerde, hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunamadı.

Tartışma: Maya-2-hibrit sistemi ile izole edilen Siva'nın, pyrinle interaksiyona giren bir protein olduğu IP ve IF deneyleri ile doğrulandı.

Pyrin proteini üzerinde, AAA mutasyonları açısından hotspot bir bölge olan ekzon10'nun kodladığı domainin interaksiyonda önemli olduğunun gösterilmesi, Pyrin-Siva ilişkisinin AAA patogenezi açısından önemli olabileceğine işaret etmektedir.

Q-FEVER TANISI KONMUŞ HASTALARDA KIRIM-KONGO VİRÜSÜ VE Coxiella burnetii KO-ENFEKSİYONU

M. YILMAZ 1, E. AKGÜN 1, G. DÖNMEZ 1, E. G. GÜNEŞ 1, M. BAKIR 2, E. PINARBAŞI 1

1 Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Bakteriyoloji & Enfeksiyon Hastalıkları AD, SİVAS

Amaç: Çalışmamızda, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi İntaniye Kliniği' ne kas ağrısı, baş ağrısı, kusma, öksürük, ateş, purpura, lökopeni, trombositopeni vb. bulgularla kabul edilen hastalarda, hastalığa neden olan ajanı bulmayı amaçladık. Bu klinik bulguların Q-fever'a benzerliği nedeniyle, dikkatimizi iki hastalık ajanı; C. burnetii ve CCV üzerine yoğunlaştırdık.

Gereç ve Yöntemler: C. burnetii DNA'sı ve Kırım-Kongo RNA'sı, Nested ve RT-PCR metodları kullanılarak, kliniğine başvuran 80 hastanın kan ve serum örneklerinden izole edilmiştir. **Sonuçlar;** 80 hastanın 15'inde C. burnetii pozitif, ve 62 hastada Kırım-Kongo virüsü pozitif ve 3'ünde her iki hastalık etkeni pozitif bulunmuştur.

Tartışma: Bu rapor, CCHF ve C. burnetii ko-enfeksiyonunu gösteren ilk rapordur. Bu çalışma Q-fever bulguları olan hastaların Kırım-Kongo virüsü ve C. burnetii enfeksiyonu yönünden de kontrol edilmesi gerektiğini ileri sürmektedir.

SPİNAL MÜSKÜLER ATROFİ HASTALIĞININ MULTİPLEKS-PCR YÖNTEMİ İLE TANISI

A. İ. GÜZEL 1, H. KASAP 1, F. KOÇ 2, Ö. HERGÜNER 3, S. KOCATÜRK SEL 1, A. PAZARBAŞI 1, D. ONATOĞLU 1

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
1 Tıbbi Biyoloji,
2 Nöroloji,
3 Pediatrik Nöroloji AD, ADANA

Amaç: Spinal Musküler Atrofi (SMA) beyin sapı ve omuriliğin ön boynuz hücrelerinin (motor nöronların) dejenerasyonundan ileri gelen nöromusküler hastalıklardan biridir. Genetik bağlantı çalışmaları ile kromozom 5q13 bölgesinde SMA ile ilişkili olan 3 gen saptanmış ve bu genlerin birbirine ters yönde uzanan telomerik ve sentromerik kopyaları olduğu belirlenmiştir. Bu genlerden biri olan SMN (Survival Motor Neuron) geni telomerik (SMN 1) kopyasındaki ekzon 7 ve 8 delesyonu SMA hastalığının tanı kriteri olarak kabul edilmektedir. SMN1'deki ekzon delesyonları yaygın olarak PCR-RFLP yöntemi kullanılarak tespit edilmektedir. Bu çalışmada ise bahsedilen delesyonlarının allel spesifik primerler kullanarak multipleks-PCR yöntemi ile belirlenmesi hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: SMN1 ve SMN2 genlerinin ekzon 7 ve ekzon 8 bölgelerindeki 1'er nükleotitik farklar dikkate alınarak SMN1 geni ekzon 7 ve 8 bölgelerine spesifik primerler hazırlanmıştır. PCR koşullarının kontrolü amacıyla da üçüncü bir gen bölgesi (retinablastoma) çoğaltılmıştır. Reaksiyonda hot-start Taq DNA polimeraz kullanılmış olup ürünler %10'luk poliakrilamit jelde elektroforezi yapıldıktan sonra EtBr ile boyanarak değerlendirilmiştir.

Sonuçlar: PCR-RFLP yöntemiyle çalışılmış olan 150 hasta 50 sağlıklı kontrole ait sonuçlar, multipleks-PCR ile de %100 uyumlu olarak elde edilmiştir. PCR-RFLP ve Multipleks-PCR yöntemleri kıyaslandığında, multipleks-PCR yönteminin daha hızlı, pratik ve daha ekonomik olduğu tespit edilmiştir.

Tartışma: Maliyet ve pratiklik dikkate alındığında Multipleks-PCR yönteminin SMN1 geni ekzon 7 ve 8 delesyonlarının tespitinde alternatif bir yöntem olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Diğer taraftan, bu yöntemle taşıyıcı tespitine yönelik çalışmalarımız da devam etmektedir.

TİP 2 DİYABETLİ HASTALARDA ENDOTELYAL NİTRİK OKSİD SENTAZ GLU298ASP VARYASYONU

B. BAYOĞLU 1, M. ERSÖZ 2, P. ÇAĞATAY 3, Ç. ÇİFTÇİ 4, B. SÜSLEYİCİ DUMAN 1

1 İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD

2 İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Laboratuvarı

3 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyoistatistik BD

4 İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji AD, İSTANBUL

burcubayoglu@gmail.com

Amaç: Endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) Glu298Asp polimorfizmi endotelyal fonksiyon bozukluğuna sebep olarak tip 2 diyabet (T2DM) için risk faktörü oluşturur. Amacımız, T2DM gözlenmiş hastalarda eNOS Glu298Asp genotip (Glu/Glu, Glu/Asp, Asp/Asp) sıklıklarının belirlenmesi, genotiplerin insülin ilişkili fenotipler ve serum lipidleri üzerindeki etkilerini saptamaktır.

Yöntemler: Çalışma, T2DM tanısı konmuş 115 hasta ve T2DM olmadığı belirlenen 68 sağlıklı kontrol ile yapıldı. eNOS genotipleri PZR ve RFLP yöntemleri ile saptandı.

Bulgular: eNOS Glu298Asp genotipleri, insülin ilişkili fenotipler ve serum lipid parametreleri açısından karşılaştırıldı. eNOS Glu298Asp genotip sıklıkları Glu/Glu, Glu/Asp, Asp/Asp için T2DM grubunda sırasıyla %13.0, %37.4, %49.6; kontrol grubunda ise %16.2, %42.6, %41.2 olarak belirlendi. Çalışma grupları arasında eNOS Glu298Asp genotip sıklıkları açısından istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı. Açlık kan şekeri, insülin, HbA1c, insülin direnci, hepatik insülin hassasiyeti (HIS) ve β hücre indeksi (HOMA) düzeyleri T2DM ve kontrol grupları karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ($p < 0.001$). T2DM grubunda Asp/Asp genotipine sahip kişilere ait HIS düzeyleri Glu/Glu genotipine sahip hastalara oranla düşük bulundu. Asp/Asp genotipli kontrollerde insülin ve HOMA düzeyleri Glu/Glu'ya kıyasla düşük bulundu. Asp/Asp genotipli T2DM kişilerde visceral obezite Glu/Glu genotipli hastalara kıyasla yüksek bulundu. T2DM grubunda eNOS Glu298Asp polimorfizminin lipid düzeyleri üzerine etkisi saptanmazken, kontrol grubunda Asp/Asp genotipli kişilerde Glu/Glu genotipine kıyasla daha düşük oranda serum apoB düzeyleri tespit edildi ($p < 0.05$).

Sonuç: Sonuç olarak, T2DM ve kontrol grupları arasında eNOS Glu298Asp genotip sıklıkları açısından istatistiksel anlamlı bir fark olmayışı ve sağlıklı kontrollerde Asp/Asp genotip sıklığının T2DM'li gruba benzer şekilde yüksek sıklıkta görülmesi Glu298Asp polimorfizminin T2DM ile ilişkili olmadığını düşündürmektedir.

TÜRK POPULASYONUNDA İNTERLÖKİN-1 B (-511) GEN POLYMORFİZMİNİN AKUT KORONER SENDROM İLE İLİŞKİLİSİ

A. ÇOKER 1 , A. ARMAN 2, O. SOYLU 3, A. YILDIRIM 3, T. TEZEL 3

1 Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

2 Marmara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi

3 Dr. Siyami Ersek Hastanesi, Kardiyoloji Bölümü, İSTANBUL

Amaç: Akut Koroner Sendrom (AKS) koroner arter plaklarında enflamasyona bağlı sabitsizlik olarak tanımlanır. AKS'yi tetikleyen enflammatuar sitokin adaylarından biri İnterlökin-1 (IL-1)'dir. Bu çalışmanın amacı Türk populasyonunda IL-1RN veya IL-1B (-511, +3953) gen polimorfizmleri ile AKS arasındaki ilişkinin incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Anjiyo sonuçlarına göre 264 AKS hasta (112 Stable Angina Pectoris (SAP), 152 Unstable Angina Pectoris (USAP)), 112 kontrol olarak gruplandırılmıştır. Tüm katılımcıların DNA'sı izole edilmiş ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) uygulanmıştır. IL-1RN genotipi PCR ürün uzunluklarına göre belirlenmiştir. IL-1B (-511 ve +3953) genotipleri için PCR ürünleri -511 için Ava I ve +3953 için Taq I kesim ürünlerinin uzunluklarına göre belirlenmiştir.

Sonuçlar: IL-1RN genotip veya IL-1RN allele ile ACS arasında belirgin fark yoktur. Ama IL-1B -511 C alleli ile USAP/ACS arasında belirgin farklılık bulunmuştur ($P=0.041$). Ayrıca, IL-1B (+3953) C/T polimorfizmi dağılımı USAP ile SAP hastaları arasında belirgin olarak farklıdır ($P=0.043$).

Tartışma: Bu sonuçlar göstermektedir ki, IL-1RN gen polimorfizmi AKS ile ilişkiye sahip değildir. Ama Türk populasyonunda IL-1B (-511) C alleli USAP'a eğilim için risk faktörü olabilir.

TÜRK TOPLUMUNDA METABOLİK SENDROM VE ACP1 POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

F. ÖZDEMİR 1, C. ARAL 1, M. AKKIPRIK 1, S. ÇAĞLAYAN 1, G. ÖZİŞİK 1,
M. ÖZATA 2, A. ÖZER 1

1 Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD
2 GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Endokrinoloji Servisi, İSTANBUL

Amaç: Metabolik sendrom, insülin direnci ile başlayan abdominal obezite, glukoz intoleransı veya diabetes mellitus, dislipidemi, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı gibi sistemik hastalıkların birbirine eklendiği yaygın mortalite ve morbidite nedeni olan bir endokrinopatidir. Asit fosfataz lokus 1 (ACP1); insülin reseptör aktivitesi, band 3 protein fosforilasyon durumu ve flavoenzim aktivitesinde önemli role sahip olan yüksek polimorfik enzimdir. ACP1 insülin reseptörünün defosforilasyonu ile insülin reseptörünü baskılar. Bu çalışmanın amacı, ACP1 genotiplerinin metabolik sendromla ilişkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Metabolik sendromlu 55 hasta ve 110 kontrol grubu GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Endokrinoloji servisinde takip edilerek çalışmaya dahil edildi. PCR ve RFLP çalışmaları ile ACP1 genotiplenmesi yapıldı. Ekzon 6 bölgesi Taq I enzimiyle, ekzon 3 bölgesi Hha I enzimiyle kesildi. Ekzon 6 bölgesi için kesim varsa A alleli, yoksa B ve C alleli, ekzon 3 bölgesi için kesim varsa A ve B alleli, kesim yoksa C alleli şeklinde genotiplenme yapıldı.

Sonuçlar ve Tartışma: Elde ettiğimiz ön bulgular ışığında; ekzon 6 bölgesi için 50 hasta ve 52 kontrol grubunun genotiplenmesi tamamlandı. Buna göre; hasta grubunda 8 vakada (%16) A alleli, 19 vakada (%38) heterozigot ve 23 vakada (% 46) ise B ve C alleli tanımlaması yapıldı. Kontrol grubunda ise 7 kişi (% 13,5) A alleli, 23 kişi (% 44) heterozigot ve 22 kişide (% 42,5) B ve C alleli taşıyıcısı olarak tanımlandı. Çalışma tüm metabolik sendromlu hasta ve kontrol grubunda ekzon 6 ve ekzon 3 bölgelerindeki polimorfizmlerinin tamamlanarak ACP1 genotiplerinin belirlenmesi için devam etmektedir.

TÜRKİYE'DE ÇEVRESEL BOR MARUZİYETİNDEKİ İNSANLARDAKİ OLASI DNA HASARININ COMET YÖNTEMİYLE DEĞERLENDİRİLMESİ

M. KORKMAZ 1, S. AYDIN 2, Ü. ÜNDEĞER 2, N. BAŞARAN 2

1 Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, VAN

2 Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmotoksikoloji AD, ANKARA

Amaç: Bu çalışmada bor madeni civarında yaşayan ve çevresel bora maruz kalan insanların periferik lenfositlerinde olası DNA hasarı, formamido pirimidin glikozilaz (Fpg)) proteini de kullanılarak alkali COMET yöntemiyle araştırılması hedeflendi.

Yöntem ve Gereç: DNA hasarı bor mineralince zengin alanda (Bigadiç-Balıkesir) yaşayan 38 kişide değerlendirildi ve bor sahasının uzağında yaşayan kişilerle karşılaştırıldı. Her iki maruziyet ve kontrol grupları 23 ile 73 yaşları arası (ortalama 51 ± 14) 15 erkek ve 23 kadından oluşmuştur. Çevresel olarak bora maruz kişilerle, onların kontrollerinde ve bu örneklerin H₂O₂ ve H₂O₂+Fpg uygulandıktan sonraki örneklerinde kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti ile değerlendirilen DNA hasarı bilgisayarlı görüntü analizi kullanılarak ölçülmüştür.

Tartışma ve Sonuç: Kuyruk yoğunluğunda istatistiksel önemli azalma ve kuyruk momentinde istatistiksel önemli olmayan azalma, maruziyet grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, bor maruziyetinin periferik lenfositlerde ilave DNA hasarını indüklediğini göstermiştir. Bora maruz kalan bireylerin H₂O₂ işleminden geçirilmiş lenfositlerinin kuyruk momenti ve kuyruk yoğunluğundaki önemli artışlar, bor maruziyetinin lenfositlerinde oksidatif DNA hasarı duyarlılığını artırabildiğini göstermiştir. Bor maruziyeti olan bireylerin lenfositlerine H₂O₂ ve H₂O₂+Fpg uygulamasını takiben meydana gelen DNA hasarının bu iki grup arasında farklı bulunmaması bor maruziyetinin DNA'nın oksidatif hasarı onarma kapasitesini etkilemediğini göstermiştir.

VARFARIN TEDAVISİNDE FARMAKOGENETİK TESTİN TÜRK TOPLUMUNDA UYGULANMASI

G. ÖNER ÖZGÖN, T. ULUTİN, N. BUYRU, U. ÖZBEK

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, İSTANBUL

Giriş ve Amaç: Terapötik aralığı dar olan Varfarin, tedavi esnasında bireylerarası çok farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklardan varfarin metabolizmasını, transportunu ve etki mekanizmasını etkileyen genlerin fonksiyonel varyantlarının sorumlu olduğu bilinmektedir. Bu çalışmanın temel amacı Türk toplumunda VKORC1, CYP2C9 ve MDR1 genlerinin polimorfizmlerinin varfarin dozu ile ilişkisini saptamaktır.

Metod: Stabil dozlarda varfarin alan hastalar (n=205) peşpeşe 3 vizit sonrasında çalışmaya kabul edildi. Kabul edilen tüm hastaların kullandıkları ilaçlar, var olan kronik hastalıkları, varfarin kullanılırken kanama veya emboli geçirme hikayeleri kaydedildi ve DNA örnekleri alınarak 205 kişilik DNA bankası oluşturuldu. Bu banka kullanılarak VKORC1, CYP2C9 ve MDR1 gen polimorfizmleri pyrosequencing metodu ile genotiplendirildi. Ortalama varfarin doz ihtiyacında genetik ve genetik olmayan bağımsız etkileri tanımlamak için regresyon analizi kullanıldı.

Sonuçlar: VKORC1 3673 polimorfizminin ortalama haftalık varfarin dozu ile ilişkisi GG genotipi için 43.18 mg/hafta, GA genotipi için 33.78 mg/hafta ve AA genotipi için 25.83 mg/hafta ($p<0.0001$) olarak saptandı. VKORC1 ve CYP2C9 varyantlarını taşıyan kişilerde %40 oranında daha az haftalık varfarin ihtiyacı olduğu belirlendi. VKORC1 3673 AA genotip ($p<0.0001$), VKORC1 3673 GA genotip ($p<0.0001$), CYP2C9 allelin 1 varyantı ($p<0.0001$), CYP2C9 allelin 2 varyantları ($p<0.0001$), MDR1 3435'in heterozigot varyantları ($p<0.036$), ve yaş ($p<0.0001$) düşük doz varfarinin birlikte olduğu değişkenler olarak saptandı.

Tartışma: Varfarinin hedef molekülünde ve varfarin metabolize eden enzimlerin genlerindeki polimorfizmlere ek olarak, ilaç etkileşimleri, yaş ve vücut yüzey alanının varfarin doz ihtiyacını tanımlamada önemlidirler.

VDR GENİ POLİMORFİZMLERİ VE ALZHEİMER HASTALIĞI

**D. GEZEN-AK 1, E. DURSUN 1, T. ERTAN 2, H. HANAĞASI 3, H. GURVİT 3,
M. EMRE 3, E. EKER 2, M. ÖZTÜRK 1, F. ENGİN 2, S. YILMAZER 1**

İstanbul Üniversitesi,

1 Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD

2 Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Psikiyatri AD, Geropsikiyatri BD

3 İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Bölümü, Davranış ve Hareket Bozuklukları Birimi, İSTANBUL

Amaç: Alzheimer beynin bütün bölümlerine yayılan nörodejeneratif bir hastalıktır. Hücre içinde ve dışında biriken maddeler ve bu biriken maddelerin oluşturduğu plaklar sebebiyle, hücreler ya tamamıyla yok olur veya büyük oranda fonksiyon kaybına uğrar. Bir çok çalışmada vitamin D'nin nörotrofin üretimini uyararak sinir sistemi üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak, vitamin D'nin, kalsiyum kanalları ekspresyonu üzerinde etkili olarak nöron kalsiyum dengesini düzenlediği ve bu şekilde de koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir. Vitamin D'nin bir nörotrofik faktör olan sinir büyüme faktörünün (NGF) ekspresyonu üzerindeki etkisi sinir hücresinin kaderinin belirlenmesinde rol oynamaktadır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada Alzheimer hastalarında vitamin D reseptör (VDR) genindeki Apal ve Taql polimorfizmini tespit etmeyi ve bu polimorfizmleri Alzheimer hastalığı arasındaki ilişkisini belirlemeyi amaçladık. Bu amaçla klinik olarak teşhisi konulmuş 104 Alzheimer hastasından ve kontrol olarak kullanılan hastalarla yaş paralelliği gösteren 109 sağlıklı kişiden kan örnekleri toplandı. Hastaların klinik teşhisleri DSM-IV kriterlerine göre konuldu. Tuz ile çöktürme yöntemi kullanılarak izole edilen DNA'larda Taq 1 restriksiyon enzimleri kullanılarak VDR geni Apal ve Taql polimorfizmleri saptandı.

Sonuçlar: Hasta ve kontrol grupları Taql genotipleri açısından karşılaştırıldıklarında sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.15$). Diğer taraftan Apal genotipleri açısından karşılaştırıldıklarında Aa genotipine sahip hasta birey sayısının aynı genotipe sahip kontrollere kıyasla ileri derecede anlamlı olduğu saptandı ($p=0.008$). Sonuç olarak Aa genotipinin AA taşıyan bireylere oranla Alzheimer Hastalığı riskini 2.3 kat arttırdığı saptandı. Ayrıca haplotip analizi sonucunda AT haplotipinin Alzheimer Hastalığına karşı koruyucu bir etkisinin olduğu gösterildi.

Tartışma: Bu sonuçlar Alzheimer Hastalığı oluşumunda veya ilerlemesinde vitamin D'nin de rol oynayabileceğini göstermektedir.

YENİDOĞAN STZ DİABET MODELİNDE PANKREATİK BETA HÜCRE REJENERASYONUNU KONTROL EDEN GENLERİN EKSPRESYONU

F. KAYA DAĞISTANLI, M. ÖZTÜRK

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi, İSTANBUL

Bu çalışmanın amacı, yenidoğan STZ diabet modelinde, erken dönemlerde β hücre rejenerasyonunu, insülin gen ekspresyonunu protein ve mRNA düzeyinde tespit etmek, pdx-1 ve sinaptofisin immünohistokimyasal boyaması ile adacık dışı hücrelerden kaynaklanan olası β hücrelerini tespit etmek, STZ uygulaması ile bozulan adacık düzeninin yeniden yapılanmasında, endokrin hücrelerin rolünü immünohistokimyasal boyama ile tespit etmek amaçlandı.

Çalışmada, her birinde 7 adet Wistar albino sıçanlardan oluşan yenidoğan yavru bulunan 8 grup oluşturuldu. 4 gruba doğumun 2. günü 100 mg/kg tek doz STZ uygulaması yapıldı ve gruplar sırasıyla doğumun 3., 5., 7. ve 10. günlerinde sağlıklı kontrol grupları ile birlikte dekapite edildiler. Alınan pankreas dokuları %10'luk formolde tespit edilerek parafine gömüldü. Doku kesitlerine digoksijenin işaretli insülin probu kullanılarak in situ hibridizasyon yöntemi, insülin, glukagon, somatostatin, sinaptofisin, pdx-1 antikorları kullanılarak immünohistokimyasal boyama yöntemi uygulandı. Elde edilen tüm sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

STZ uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre adacıkların küçüldüğü tespit edildi. Yd2-STZ diyabetik gruplarda (3,5,7,10) insülin mRNA sinyallerini içeren hücrelerin kapladığı alanın, insülin immün pozitif hücrelerin kapladığı alandan daha az olduğu görüldü. yd2-STZ gruplarında adacık içerisindeki immün pozitif pdx-1 hücrelerinin kontrol gruplara göre azaldığı ayrıca tüm deney gruplarında adacıklardaki tüm endokrin hücrelerin sinaptofisin ekspresyonu yaptıkları tespit edildi. STZ uygulanan gruplarda ekzokrin doku ve kanal epiteli içerisinde çok sayıda sinaptofisin immün pozitif hücrelere rastlandı.

Sonuç olarak, yd2-STZ modelinde, STZ'nin neden olduğu beta hücre hasarının en fazla görüldüğü günün yd-2 STZ 5 günlük grup olduğu ve 5. günden başlayarak 7 ile 10. günler arasında hızlı bir rejenerasyonun meydana geldiği, sinaptofisin ve pdx-1'in birlikte, olası öncül hücrelerin endokrin hücreye dönüşümünü tespit etmek için iyi birer belirteç olabilecekleri sonucuna varıldı.

Poster Bildiriler

POSTER BİLDİRİLER

BRCA1 VE BRCA2 DE YAYGIN OLARAK GÖRÜLEN 3 MUTASYONUN MEME KANSERLİ HASTALARDA TARANMASI

A. PAZARBAŞI 1, C. K. PARSAK 2, E. GÜRTUNÇ 1, M. KASAP , G. SAKMAN 2,
O. DEMİRCAN2.

1 Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD

2 Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi AD,ADANA

Amaç: Meme kanseri yatkınlık genleri olarak tanımlanan BRCA1 ve BRCA2, ailesel geçiş gösteren kalıtsal meme ve ovaryum kanserlerinin büyük bir çoğunluğundan sorumlu tutulmaktadır. BRCA1 genindeki 185DelAG, 5382 insC ve BRCA2 genindeki 6174DelT mutasyonları Ashkenazi Yahudilerinde diğer mutasyonlara göre daha yüksek sıklıkta (%62) görülmektedir. Bu çalışmada Türk toplumunda hasta birey ve birinci derece yakınlarında BRCA1 genindeki 185DelAG, 5382 insC ve BRCA2 genindeki 6174DelT mutasyonlarının taranması ve sıklığının belirlenmesi; aile hikayesi olan meme ve/veya ovaryum kanseri ve 50 yaşın altında aile öyküsü olmayan erken dönem meme kanseri ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç Yöntem: Çalışmada her bir mutasyon için biri common, biri mutanta özgü ve biri de wild-tip (yabani) olmak üzere üç allel-spesifik primer kullanılarak ARMS-PCR gerçekleştirilmektedir. Her bir mutasyon için pozitif kontrol kullanılmıştır.

Sonuçlar: 30'u ailesel geçiş gösteren, 68'i sporadik olan toplam 98 meme kanserli hastada BRCA1 ve BRCA2 genindeki bu 3 mutasyon taranmış ve hastalarımızın hiçbirinde bu mutasyonlara rastlanmamıştır.

Tartışma: Türk hastaları analiz eden tüm çalışmalar göstermiştir ki 5382 insC mutasyonu Türk hastalarda düşük oranda (3/255~%1) görülmektedir. Sonuç olarak çalıştığımız hasta grubunda taradığımız yaygın mutasyonlar bulunmamıştır. BRCA1 ve 2 genlerindeki mutasyon taramalarında öncelikle ailesinde 2 den fazla etkilenmiş birey bulunan ailelerin taranması ve taramaya BRCA1 5382 insC mutasyonu ile başlanması önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: BRCA1 , BRCA2, Meme kanseri, Menapoz

LÖSEMİLİ HASTALARIN MİTOJENLE UYARILMIŞ LENFOSİTLERİNDE BAZAL SEVİYEDE MİKRONÜKLEUS SIKLIĞI

Z. HAMURCU 1, H. DÖNMEZ - ALTUNTAŞ 2, T. ATIROĞLU 3, H. DEMİRTAŞ 2

1 Erciyes Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu,

2 Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

3 Pediatri AD, KAYSERİ

Amaç: Çeşitli lösemi tiplerinde, yapısal kromozom bozuklukları tanımlanmıştır. Mikronukleus tekniği, hem kromozom kırıklarını hem de kromozom kayıplarını ölçümünü sağlayan bir tekniktir. Çalışmamızda, hastalığı yeni teşhis edilmiş ve herhangi bir tedavi almayan 20 lösemili hastanın mitojenle uyarılmış lenfositlerinde bazal seviyede mikronukleus (MN) sıklığının incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Erciyes Üniversitesi İmmünoloji laboratuvarına başvuran hastaların tanıları akış sitometrik yöntemle belirlendi. 20 hastadan 4'üne akut lenfoblastik lösemi (ALL), 10'nuna akut miyeloid lösemi (AML) ve 6'sına da kronik lenfoblastik lösemi (KLL) tanısı kondu. Hastaların (n=20) ve kontrollerin (n=20) periferik kan örneklerinden Sitokinezis-Blok metoduna göre elde edilen binükleer hücrelerinde MN sıklıkları incelendi. **Bulgular:** Lösemili hastaların lenfositlerindeki bazal MN sıklıklarının ortalamaları: ALL'de $3,65 \pm 1,74$, AML'de $3,55 \pm 1,24$ ve KLL'de $3,03 \pm 1,05$ olarak bulundu. Üç farklı lösemi tipleri arasında MN sıklığı açısından istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunamadı ($p=0,503$). Bundan dolayı 3 tip lösemili hasta grubu tek bir lösemili hasta grubu olarak değerlendirildi. Lösemili hastaların lenfositlerinde bulunan bazal seviyedeki MN sıklığı, aynı yaş grubundan olan sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p=0,001$). Lösemili hastalarda MN frekansı ile yaş arasında herhangi bir ilişki bulunmazken ($r=0,050$; $p=0,835$), sağlıklı kontrollerde MN frekansının artan yaşla birlikte düzenli bir şekilde arttığı bulundu ($r=0,531$; $p=0,016$).

Sonuç: Bulgularımız, lösemili hastaların lenfositlerinde bazal MN sıklığının yüksek olduğunu göstermektedir ve bu hastalarda DNA tamir mekanizmasında hasarın ya da bozukluğun olduğuna işaret edebilir.

İNSAN SPORADİK MEME KANSERİNDE HİPOKSİ İLE İNDÜKLENEN FAKTÖR- 1 α (HIF-1α) GENİNDEKİ TEK NÜKTEOTİT POLİMORFİZMLERİ

İ. H. ÖNEN 2, İ. APAYDIN 1, E. KONAÇ 2, A. EKMEKÇİ 2, M. AKBABA 3, E. TEKİN 4

1 Gazi Ünivesitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji AD

2 Gazi Ünivesitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD

3 Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İI. Cerrahi Polikliniği

4 Gazi Ünivesitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi AD, ANKARA

Amaç: Tümör anjiyojenezi ile ilişkili olduğu gösterilmiş, Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1 α (HIF-1α) genindeki DNA dizi varyasyonları, genin hem ürün miktarında hem de aktivitesinde değişikliğe yol açabilmektedir. Bu çalışmada Türk toplumunda, HIF-1α geninin kodlama bölgesinde yer alan ekzon 12'de C1772T ve G1790A, ekzon 2'de C111A tek nükteotit polimorfizmleri ile sporadik meme kanseri gelişimi arasındaki ilişki araştırıldı. Bu üç polimorfizm sırasıyla prolin 582 serin, alanin 588 treonin ve serin 28 tirozin aminoasit değişimlerine neden olmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Genomik DNA 102 sporadik meme kanserli hastadan ve 102 sağlıklı kadın kontrolden izole edildi. Her üç HIF-1α gen bölgesi PCR metodu ile çoğaltılarak RFLP ve DNA dizi analizi yöntemleri ile genotipler belirlendi.

Sonuçlar: HIF-1α geninin C1772T ve G1790A polimorfizmlerinin dağılımının hastalar ve kontroller arasında anlamlı bir fark oluşturmamıştır ($P>0.05$). HIF-1α C111A polimorfizmi için, kontrollerde ve hastalarda bu genin CA ve AA varyantlarına rastlanmadı. C1772T polimorfizminin CC ve CT+TT genotipleri arasında çok değişkenli

regresyon analizi yapıldı. Bu iki genotip grubu arasında hastaların çalışmaya katılma yaşı, menarş yaşı, ilk doğum yaşı, toplam gebelik sayısı, vücut kütle indeksi, oral kontraseptif ve menopoz sonrası hormon kullanımı, ailedeki meme ve over kanser öyküsü, menopoz durumu,

histopatolojik karakteri, ooferektomi, sigara alışkanlığı ve alkol tüketimi gibi klinik-patolojik özellikler bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı ($P>0.05$).

Tartışma: Sonuçlarımız HIF-1α genindeki bu üç polimorfizmin sporadik meme kanseri risk yatkınlığında rolü olmadığını göstermiştir. Bu çalışma HIF-1α polimorfizmleri ile sporadik meme kanseri arasındaki ilişkiyi araştırıran ilk olgu-kontrol çalışmasıdır. Bu çalışma Gazi Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı'nca 01/2005-18 kod no'lu proje ile desteklenmiştir.

MESANE TÜMÖRLERİNDE K-RAS VE H-RAS GENİ EXON 1 KODON 12-13'DE MUTASYON TARAMASI

D. ALPTEKİN, M. İZMİRLİ, Y. BAYAZIT, H. Ü. LÜLEYAP, A.İ. GÜZEL, Z. TANSUĞ

Çukurova Üniversitesi, ADANA

alptekin@cuçeduçtr

Giriş; Gelişmiş ülkelerin çoğunda kanser ölümlerinin önemli nedenlerinden biri mesane kanserleridir. Mesane kanserinin oluşum nedenlerinin başında ise Ras proto-onkogen ailesindeki (H-ras, K-ras, N-ras) nokta mutasyonları gelmektedir. Bu genlerdeki mutasyonlarda çoğunlukla kodon 12, 13 ve 64'de (sırasıyla H-, K- ve N-ras) oluşmaktadır.

Amaç; Bu çalışmada mesane kanseri ile ras proto-onkogenlerinden K ve H ras genlerinin kodon 12 ve 13'deki mutasyonlarla ilişkisinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem; Mesane kanseri olan 22 hastanın mesanelerinden alınan ameliyat materyallerinden genomik DNA'sı izole edilerek K-ras geninde kodon 12 ve 13 için, H-ras geninde ise kodon 12 için PCR temeline dayalı RFLP (Restriction Fragment Leng Polimorfizm) tekniği ile mutasyon taraması yapıldı. K-ras geninde mutasyon varlığı/yokluğu ayrıca sekans analizi ile de test edildi. K-ras için çoğaltılan PCR ürünü kodon 12 ve 13 de mutasyon varlığını saptamak için Msp I (MBI Fermentas) enzimi ile kesildi. Ayrıca PCR ürünleri; içerisinde 0,5 g/ml Ethidium bromide bulunan %2'lik agaroz jelde Qiagen pürifikasyon kiti ile temizlenip kontrol elektroforezine tabi tutuldu. Her bir örnek Aplied Biosystem 377 otomatik DNA sekans cihazı ile analiz edildi. Örneklerle ait elde edilen dizi analizi sonuçları K-ras veri bankasından elde edilen referans diziye göre karşılaştırıldı. H-ras geni kodon 12 için ise sadece RFLP tekniği uygulandı. Çoğaltılan PCR ürünü (420bc) Msp I (MBI Fermentas) enzimi ile kesildi.

Sonuçlar ve Tartışma; Çalışmamızda kullanılan 22 mesane kanseri örneklerinde ras onkogenlerinden K-ras geninin 12. ve 13. kodonunda hem RFLP yöntemi, hem de sekans analizi ile mutasyon bulunamadı. H-ras geni kodon 12'de ise sadece RFLP yöntemi sonucunda 19 hastada mutasyona rastlandı. Ancak bulunan mutasyonların 3 tanesi homozigot iken 9 tanesinin heterozigot olduğu saptandı. Bu sonuçlara göre mesane kanserinin oluşumunda K-ras geninin sorumlu olmadığını, ancak H-ras geninin sorumlu olabileceğini düşünmekteyiz. Bizim bulgularımız yapılan çalışmalarla da uygunluk göstermektedir.

KERSETİNİN (3,3',4',5,7-PENTOHİDROKSİFLAVON), TELOMERAZ ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN MCF-7 HÜCRELERİNDE TAMOKSİFEN İLE KONTROLLÜ OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

A. HATİPOĞLU 1, A. BAŞARAN 1, M. DİKMEN 2, D. COŞAN 1, H. V. GÜNEŞ 1, İ. DEĞİRMENCİ 1

1 Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,
2 Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji AD, ESKİŞEHİR

abasaran@ogu.edu.tr

Kansere neden olan bir çok etken yanında, telomer boyu ve telomeraz aktivitesinde olan anomaliler de, diğer bazı kanser tipleriyle birlikte meme kanserinden de sorumludur. Meme kanserinin hormonal tedavisinde, tamoksifen etkin bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Bir flavonoid olan kersetin, kardiyovasküler koruma, antikanser ve antiviral aktivite gibi yararlı etkilere sahiptir.

Çalışmamızda, MCF-7 meme kanser hücre dizilerinde, kersetin ve tamoksifenin 10, 50, 100 M dozlarının telomeraz enzim aktivitesine olan etkilerini araştırdık. Telomeraz aktivitesi, TeloTAGGPLUS-PCR ELİSA kiti (Roche) kullanılarak belirlendi.

MCF-7 meme kanser hücrelerinde, kersetin ve tamoksifenin her üç dozunun kontrole göre telomeraz enzim aktivitesini, 48. ve 72. saatlerde anlamlı derecede düşürdüğü belirlendi. Bu düşüşte 100 M kersetinin 48., 10 M kersetinin ise 72. saatte daha fazla etkili olduğu tesbit edildi. 100 M tamoksifenin 48. yine 100 M ve ayrıca 50 M tamoksifenin 72. saatte daha etkin olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, son yıllarda üzerinde çokça çalışılan kersetin ve buna benzer flavonoidlerin, çalışmamızın sonuçlarında da görüldüğü gibi, MCF-7 meme kanseri ve diğer bazı kanserlerde kullanılabileceği ve dolayısıyla yeni tedavi yollarının gelişmesine katkıda bulunabileceği ümidindeyiz. Ancak bütün bunların kesinleşebilmesi için çok daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu da bir gerçektir.

*Bu proje Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

Tablo 1. 48. ve 72. saatlerde MCF-7 hücre dizilerinde telomeraz enzim aktivitesi

MCF-7 Meme Kanser Hücre Dizilerinde Telomeraz Enzim aktivitesi					
Gruplar	Dozlar (µM)	48. saat	72. saat	İstatistiksel Analiz (Grup içinde)	
				48. saat	72. saat
Control (C)		194.476±5.917	381.36±11.561		
Kersetin (Q)	10	20.534±0.967	1.854±0.755 ***	Q ₁₀ -Q ₅₀ n.s	Q ₁₀ -Q ₅₀ *** p<0.001
	50	16.580±1.280	6.707±0.563***	Q ₁₀ -Q ₁₀₀ ***	Q ₁₀ -Q ₁₀₀ ***
	100	12.712±1.073 **	11.150±2.355***	**p<0.01 Q ₅₀ -Q ₁₀₀ n.s	p<0.001 Q ₅₀ -Q ₁₀₀ *** p<0.001
Tamoksifen (T)	10	5.267±0.591	1.268±0.287	T ₁₀ -T ₅₀ n.s	T ₁₀ -T ₅₀ n.s
	50	4.724±0.688	0.830±0.142 **	T ₁₀ -T ₁₀₀ *p<0.05	T ₁₀ -T ₁₀₀ **p<0.01
	100	3.512±0.456*	0.251±0.090**	T ₅₀ -T ₁₀₀ n.s	T ₅₀ -T ₁₀₀ **p<0.01
İstatistiksel Analiz (Gruplar arasında)		C-Q ₁₀ p<0.001 C-Q ₅₀ p<0.001 C-Q ₁₀₀ p<0.001 C-T ₁₀ p<0.001 C-T ₅₀ p<0.001 C-T ₁₀₀ p<0.001	C-Q ₁₀ p<0.001 C-Q ₅₀ p<0.001 C-Q ₁₀₀ p<0.001 C-T ₁₀ p<0.001 C-T ₅₀ p<0.001 C-T ₁₀₀ p<0.001		
		Q ₁₀ -T ₁₀ p<0.001 Q ₅₀ -T ₅₀ p<0.001 Q ₁₀₀ -T ₁₀₀ p<0.05	Q ₁₀ -T ₁₀ n.s Q ₅₀ -T ₅₀ p<0.001 Q ₁₀₀ -T ₁₀₀ p<0.001		

MEME KANSERİNDE MMP-1 VE HER2 GENLERİNE AİT POLİMORFİZMLERİN KARŞILAŞTIRMALI OLARAK İNCELENMESİ

**M. ÖZTÜRK 1, D. GEZEN AK 1, E. DURSUN 1, F. KAYA DAĞISTANLI 1, P. ÇAĞATAY 2,
Ş. İLVAN 3, H. ÜNAL 4**

1 Tıbbi Biyoloji AD, 2 Biyoistatistik BD, 3 Patoloji AD, 4 Cerrahi AD, İstanbul Üniversitesi,
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İSTANBUL

Matriks metalloproteinazların (MMP) birçok tümör tipinde aşırı ekspresyonu saptanır. MMP1 geninin promotör dizisindeki polimorfizmin ((5'-GAA/T-3'/5'-GGAA/T-3')) MMP1'in ekspresyon düzeylerini etkilediği gösterilmiştir. HER2 nin aşırı ekspresyonu meme kanserinde prognostik öneme sahiptir. Bazı toplumlarda HER2'nin transmembran bölgesini kodlayan gen bölgesindeki polimorfizm (Ile655Val) ile meme kanserleri arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada HER2 ve MMP1 polimorfizmleri ile meme kanseri arasında ilişki olup olmadığı, her iki polimorfizmi birarada içeren hastalarda bu genlerin kanserin patogenezi üzerindeki etkileri araştırıldı.

Çalışma klinik ve patolojik olarak meme kanseri teşhisi konulan eş düzenli yaşlarda 90 meme kanseri hastası ve 95 sağlıklı bireyden oluşturuldu. Toplanan kan örneklerinden DNA izolasyonu gerçekleştirildi. MMP1 ve HER2 polimorfizmlerini belirlemek üzere polimeraz zincir reaksiyonu takiben sırası ile Alu1 ve Bsm1 restriksiyon enzimleri kullanarak RFLP yöntemi uygulandı.

MMP1 ve HER2 polimorfizmlerinin genotip dağılımlarının hasta ve kontrol gruplarında anlamlı bir fark bulunmadı. MMP1 ve HER2 genlerine ait genotiplerin hastalarında histopatolojik ve klinik parametreleri (tümör çapı, histolojik derece, aksillar lenf tutulumu, stromal reaksiyon, tümör tipleri, östrojen reseptörü, progesteron reseptörü gibi) üzerinde etkilerinin olmadığı tespit edildi. MMP1 polimorfik allellerini taşıyanlar birlikte değerlendirildiğinde progesteron reseptör yokluğu arasında anlamlı ilişki ($p < 0.05$) saptandı. Her iki polimorfizmi (MMP1 ve HER2) birlikte taşıyan 9 hastanın (9/60) histopatolojik ve klinik parametreleri ile polimorfik genotipler arasında ilişki saptanmadı. Ancak polimorfik genleri taşıyanların 6'sı (%66.7) yüksek histolojik dereceli invaziv duktal karsinoma sahipti.

Çalışılan hasta grubunda MMP1 ve HER2 polimorfizmlerinin her birinin meme kanseri için risk faktörü olmadığı, ancak heriki genin polimorfizmini taşıyan hastaların invaziv meme kanserinin ortaya çıkmasında etkili olabileceği sonucuna varıldı.

NON-HODGKİN LENFOMALI OLGULARDA p15INK4B PROMOTÖR BÖLGESİNDEKİ DNA METİLYASYONUNUN ARAŞTIRILMASI

P. EROĞLU 1, S. YALIN 1, M. S. SERİN 2, A. YALÇIN 3, B. HAZAR 4, S. TEZCAN 5, G. ASLAN 5, M. BERKÖZ1, V. G. GÜLER1

1 Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya AD

2 Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Mikrobiyoloji AD

3 Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Hematoloji BD, MERSİN

4 Adana Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Onkoloji Kliniği, ADANA

5 Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD, MERSİN

Giriş ve Amaç: DNA metilasyonu, memeli hücrelerinde gen ekspresyonunun kontrolünde önemli rol oynayan yaygın epigenetik modifikasyon olarak tanımlanmaktadır. Aberant DNA metilasyonu, CpG adacıkları olarak adlandırılan bölgelerde CpG dinükleotidlerindeki sitozinlerde gözlenir. Genlerin promotör bölgelerindeki DNA metilasyonu tümör supressör genlerin inaktivasyonunun esas mekanizması olarak ortaya çıkmaktadır. CpG adacıklarının aberant metilasyonu gen ekspresyonunun kaybı ile korelasyon göstermektedir. DNA metilasyonu, kanserin başlangıcı ve gelişimi ile ilişkili önemli bir moleküler markır olarak büyük bir potansiyel göstermektedir. Aberant promotör metilasyon farklı malignant hastalıklarda çeşitli genlerde tanımlanmıştır. Siklin bağımlı kinaz inhibitör (CDKI) geni p15INK4B, genetik değişimlerle sıklıkla inaktive edilmektedir. p15INK4B geninin inaktivasyonu hücre siklus kontrol kaybı ve tümör hücrelerinin aberant proliferasyonu ile ilişkilidir. Bu inaktivasyon farklı malignitelerde gerçekleşen bir olay olarak görülmektedir. Lenfoid doku kökenli hücrelerin malign neoplazileri olan lenfomaların etyopatogenezinde de DNA metilasyonunun önemli bir role sahip olabileceği düşünülmektedir.

Yöntemler: Bu amaçla hasta ve kontrol grubuna ait kan örneklerinde p15INK4B geninin promotör bölgesindeki muhtemel metilasyon durumu araştırılmıştır. Yaptığımız çalışmada, 65 Non-Hodgkin lenfomalı (NHL) hasta ile kontrol grubu olarak 40 sağlıklı birey değerlendirilmeye alınmıştır. Hasta grubunun 37'si erkek 28'si kadın, kontrol grubunun ise 36 erkek ve 4 kadındır. Çalışmada metilasyon spesifik polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanılmıştır.

Bulgular: Hastaların % 16'sında hipermetilasyon saptanmış, kontrol grubunda ise DNA metilasyonuna rastlanmamıştır.

Sonuç: NHL'lı hastalarda DNA metilasyonunun görülme sıklığı kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).

MYELOMONOSİTİK LÖSEMİ (U-937) HÜCRELERİNDE METİLPREDNİZOLONUN TERMİNAL FARKLILAŞMA ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

A. ÖZÇİMEN 1, M. ÇETİN 2

1 Mersin Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, MERSİN

2 Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatri AD, Pediatrik Hematoloji Ünitesi, ANKARA

Amaç: Bu çalışmada, U-937 (insan myelomonositik lösemi) hücrelerinde metilprednizolonun terminal farklılaşmasını değerlendirmek için, CD11-b ve CD68 hücre yüzey belirleyicileri ile analiz edilmeleri amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada, U-937 hücrelerine 10-6 M ve 10-3 M derişimlerde MP uyguladık.

Hücreler, MP uygulamadan önce ve sonra CD11-b ve CD68 hücre yüzey monoklonal antikorlar ile boyandılar ve akım sitometre cihazında analiz edildiler. Bütün deneyler 3 kez tekrarlandı ve sonuçlar +/- standart deviasyonu olarak değerlendirildi.

Sonuç: U-937 hücrelerinde MP'nin terminal farklılaşma etkisini akım sitometrik analiz yöntemiyle değerlendirdik. U-937 hücrelerinde, 10-3 M MP'nin 24 ve 48 saatlerde, CD11-b hücre yüzey belirleyicisinde azalan bir etkisini bulurken, CD68 hücre yüzey belirleyicisinde artan bir etkisini bulduk. Bu azalan ve artan etkiler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$) (K-S değeri > 0.20). **Tartışma:** Sonuç olarak, CD11-b hücre yüzey belirleyicisinin düşük, CD68 hücre yüzey belirleyicisinin yüksek çıkması, MP'nun U937 hücrelerini makrofaj yönünde terminal olarak farklılaştırdığını düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: Metilprednizolon, U-937, terminal farklılaşma, CD11-b, CD68, akım sitometre

İKİ YENİ BİLEŞİĞİN MRC-5 (FETAL AKCİĞER FİBROBLAST) VE A549 (KÜÇÜK HÜCRELİ AKCİĞER KARSİNOMA) HÜCRELERİNDE PROTEİN EKSPRESYONLARININ AKIM SİTOMETRİK OLARAK İNCELENMESİ

A. ÖZÇİMEN 1, J. LAWRY 2

1 Mersin Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, MERSİN

2 Sheffield Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kanser Çalışmaları Enstitüsü, SHEFFIELD-UK

Amaç: İki yeni bileşiğin MRC-5 ve A-549 hücrelerinde monoklonal antikorlar kullanılarak akım sitometri cihazında protein ekspresyonu üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır..

Gereç Ve Yöntem: Bu çalışmada MRC-5 ve A549 hücrelerine doz ve zaman bağımlı olarak yeni bir akridin (385D) ve yeni bir kuonolin (353D) bileşiği uygulandı. Hücreler inkübasyonu takiben protein ekspresyonlarını incelemek için, monoklonal antikorlar (p53, bcl-2, Ki67, c-erb-b2, c-myc, HLA-DR ve ICAM-I) ile işaretlendiler. Hücreler Akım Sitometri cihazında aldıkları flöresan boyanın yüzde oranlarına göre analiz edildiler.

Sonuçlar: Akım sitometrik inceleme sonucunda akridin uygulanan A549 hücrelerinde p53, c-erb-b2 ve c-myc protein ekspresyonlarında, kuonolin uygulanan A549 hücrelerinde ise p53 protein ekspresyonlarında düşüş gözlemlendi. Diğer antikorların düzeylerinde önemli bir değişim gözlenmedi ($p>0.05$).

Tartışma: C-myc protein ekspresyonundaki düşüş akridin bileşiğinin antiproliferatif etkisine işaret etmektedir. Bir growth faktör reseptör olan c-erb-b2 protein ekspresyonundaki düşüş ise dolaylı olarak hücre proliferasyonunun düzenlenmesindeki rolünün önemini vurgulamaktadır.

Ancak, p53 protein ekspresyonundaki düşüş anlamlı bulunmamıştır.

Anahtar Sözcükler: Akridin, kuonolin, MRC-5, A-549, protein expression, akım sitometre

YEDİ YENİ BİLEŞİĞİN A375 (MALIGNANT MELONOMA HÜCRE HATTI) HÜCRELERİNDE SİTOTOKSİSİTE VE HÜCRE DÖNGÜSÜ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

A. ÖZÇİMEN 1, J. LAWRY 2

1 Mersin Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, MERSİN

2 Sheffield Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kansere Çalışmaları Enstitüsü, SHEFFIELD-UK

Amaç: Yedi yeni bileşiğin A375 hücrelerinde Tripan Mavi Boyası ile sitotoksik ve Akım Sitometri ile DNA hücre döngüsü üzerindeki etkilerini değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada A375 hücrelerine doz ve zaman bağımlı olarak beş yeni akridin, bir yeni o-krezol ve 1 yeni kuonolin bileşiği uygulandı. Hücreler inkübasyonu takiben sitotoksik inceleme için, tripan mavi boyası ile boyandılar. Hücre döngüsü analizi için, DNA-hücre döngüsü belirleyicileri ile işaretlendiler. Hücreler Orthocyt Akım Sitometri cihazında G0/G1, S ve G2/M fazındaki yüzde oranlarına göre analiz edildiler.**SONUÇLAR:** Yedi farklı bileşikten bir akridine türevi olan 315D (3,6-dibiguanidil-akridinyum hidroklorid) nolu bileşik, sitotoksik ve hücre döngüsü açısından değerlendirildiğinde diğer bileşiklere göre daha etkili bulunmuştur ($p < 0.05$).

Tartışma: Bu bileşiğin farklı kanser serilerindeki (meme ve akciğer kanseri hücreleri) uygulamalarındaki etkilerde karşılaştırıldığında, bu bileşiğin kemoteröpatik bir ajan olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, in-vivo çalışmalarla da desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: Akridin A375, hücre döngüsü sitotoksiste, akım sitometre

VİNKRİSTİNİN UYARDIĞI APOPTOZİS ÜZERİNE FOLİK ASİT VE BETA-KAROTENİN ETKİLERİ

E. YURTCU 1, Ö. ÖZALP YÜREĞİR 2, F. İ. ŞAHİN 2

1 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

2 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, ANKARA

Amaç: Bir kemoterapötik ajan olan vinkristin, iç içlikçiklerinin oluşumunu hem neoplastik hem normal hücrelerde engellemektedir. Bu nedenle normal vücut hücreleri de istenmeyen etki olarak apoptozise girerler. Daha önce yapılan çalışmalarda farklı kemoterapötik ajanlarla uyarılan apoptozisin, ortama folik asit ve beta-karoten eklenmesi ile in vitro olarak geri dönüşümü gösterilmiştir. Bu çalışmada insan multiple myeloma hücre dizisi ARH77 ve insan kronik myeloid lösemi (KML) hücre dizisi K562 kültürlerinde vinkristinin uyardığı apoptozise folik asit ve beta-karotenin tek tek ve birlikte etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: İnsan multiple myeloma hücre dizisi ARH77 ve insan kronik myeloid lösemi (KML) hücre dizisi K562 standart hücre kültürü koşullarında üretilerek 24, 48 ve 72 saat süre ve 10-5M konsantrasyonda vinkristin ile muamele ederek apoptozis uyarılmıştır. Folik asit ve beta-karoten tek tek veya birlikte sırasıyla 10-3 ve 10-7 M konsantrasyonlarda eklenerek etkileri izlenmiştir. Her kültürden canlı hücre oranı belirlendikten sonra, en az 500 hücre apoptotik bulgular açısından analiz edilmiştir. İstatistiksel analizler iki oran z testi ile yapılmıştır.

Bulgular: ARH77 hücrelerinde vinkristinin indüklediği apoptotik hücre oranlarında folik asit ve beta-karotenin tek tek veya birlikte eklenmesiyle anlamlı azalma belirlenmemiştir ($p > 0.05$). K562 hücrelerinde ise 24 saat süreyle uygulanan vinkristinin indüklediği apoptozis hem folik asit hem de beta-karotenin tek tek veya birlikte eklenmesiyle istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır ($p < 0.05$).

Sonuç: Apoptotik etkilerin geriye dönüşü hedef hücre tipine ve metabolik aktivitesine ve aynı zamanda kemoterapötik ajanın kullandığı mekanizmaya bağlıdır.

VINKRİSTİNİN SURVİVİN İFADELENMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

E. YURTCU 1, F. B. ATAÇ 1, F. İ. ŞAHİN 2

1 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

2 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, ANKARA

Amaç: Survivin Apoptozis İnhibör Gen ailesinin bir üyesidir. Hücre bölünmesi, apoptozis ve strese hücrel yanıt gibi bir çok olayda rol oynayan mitotik bir proteindir. Temel işlevi normal hücre bölünmesinde mikrotübül instabilitesinin engellenmesi, neoplastik hücrelerde ise apoptozisin engellenmesidir. İfadelemesi çok sıkı kontrol altındadır. Multiple myelomada (MM) temel kemoterapi ajanlarından biri olan vinkristin, multiple myeloma hücrelerinde mikrotübül oluşumunu engelleyerek apoptozisi uyarmaktadır. Bu çalışmada, vinkristin uygulanmış MM hücrelerinde survivin ifadenmesinde oluşabilecek değişiklikleri incelemeyi amaçladık.

Gereç ve yöntem: İnsan multiple myeloma hücre dizisi ARH 77 standart kültür koşulları altında değişen konsantrasyonlarda (10-7- 10-11M) ve değişen sürelerde (24, 48, 72 ve 96 saat) vinkristine maruz bırakıldı. Survivin ifadenmesi kantitatif RT-PCR ile belirlendi. İstatistiksel olarak gruplar arası farklar iki oranz testi ile değerlendirildi.

Bulgular: 24 saat uygulama ile ifadenme artışı belirlenmedi. 48 saatlik uygulama sonrası görülen ifadenme artışı istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0.05$). 72 saat uygulama sonrasında sadece 10-7M konsantrasyonda anlamlı bir artış belirlendi ($p<0.05$). 96 saat uygulama sonrasında ise survivin ifadenmesinde artış belirlenmedi.

Sonuçlar: Vinkristin uygulanan hücrelerde, survivin ifadenmesine etkisi doza ve süreye bağımlıdır. Benzer sonuçlar promyelositik lösemi hücreleri ile de elde edilmiştir. Survivin ifadenmesinde büyük olasılıkla kompleks hücrel sinyaller işe karışmaktadır. Bu ve benzer in vitro çalışmalarla elde edilen sonuçların vinkristin içeren tedavi protokolleri için ışık tutabileceğini düşünmekteyiz.

PROSTAT KANSERLİ HASTALARDA ANDROJEN RESEPTÖRÜ GENİ G1733A POLİMORFİZMİ

S. GÜNEŞ 1, E. TAŞKIN 1, S. SARIKAYA 2, H. BAĞCI 1

1 Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

2 Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, SAMSUN

Prostat kanserinin gelişimi androjenlere bağlıdır ve bir transkripsiyon faktörü olan androjen reseptörü (AR) geni prostat kanseri riski için aday genlerden biridir. Çalışmamızda, androjen reseptörü geni polimorfizmi ile prostat kanseri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntemler: Çalışma kapsamında, 108 prostat kanserli hasta ve 109 benign prostat hiperplazili hasta kontrol grubu olarak incelendi. AR polimorfizmi, polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi yöntemi ile analiz edildi. Genotip ve allel frekansları hesaplanarak, prostat kanseri riski ile ilişkileri değerlendirildi.

Bulgular: AR geni GG genotipi prostat kanserli hastalarda kontrollere nazaran anlamlı derecede yüksek [OR (95%CI)=2.48 (1.05-5.97); P=0.023] bulundu. Gleason skoru ve AR geni polimorfizmi arasında fark gözlenmedi.

Sonuç: Bulgularımız, AR geni G1733A polimorfizmi ile prostat kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulunabileceğini göstermektedir.

DOĞAL TIROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRÜ GENİSTEİNİN İNSAN PROMYELOSİTİK LÖSEMİ HÜCRELERİ ÜZERİNE ANTİLÖSEMİK ETKİSİ

Ç. B. AVCI¹, Z. Ö. DOĞAN¹, S. YILMAZ¹, S. NUMANOĞLU¹, E. ŞAHİN², G. SAYDAM²,
C. GÜNDÜZ¹

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi 1 Tıbbi Biyoloji AD, 2 Hematoloji BD, İZMİR
cigir.blray@ege.edu.tr

Amaç: Genistein bir izoflavon olmakla beraber, soya besinlerinin içerisinde bulunan biyolojik bir bileşiktir ve doğal bir tirozin kinaz (TK) inhibitörüdür. TK lar tümörün genizde ana rol oynadıklarından, inhibisyonları hücre döngüsü arresti ve apoptozun stimülasyonu gibi TK - bağımlı hücresel yollarla ilişkili tümörün genizinin inhibisyonuna neden olmaktadır. Genisteinin antikanser etkisi, solid tümörlerden elde edilen çeşitli malign hücre tiplerinde ve hematopoietik malignansilerde deneysel olarak gösterilmiştir. Çalışmamızda antikanser özelliği solid tümörlerden köken almış çeşitli malign hücre kanser tiplerinde gösterilmiş olan genisteinin insan akut promyelositik lösemi (HL-60) hücrelerindeki antilösemik etkisinin altında yatan mekanizmaların gen ekspresyonu düzeyinde araştırılması hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Genisteinin HL-60 hücre hattındaki sitotoksik etkisinin belirlenmesi amacıyla hücreler, genistein dozları ile 72 saat boyunca muamele edilmiş ve etken madde verilmemiş hücreler kontrol grubu olarak alınmıştır.

HL-60 hücre hattı, %10 fetal sığır serumu (FBS) 100IU/ml penisilin ve 100mg/ml streptomisin içeren RPMI kullanılarak, 50mcM ve 75mcM genistein ile 72 saat boyunca muamele edilip 37°C'de, % 95 nemli ortamda % 5 CO₂'li etüvde inkübe edilmişlerdir. Çalışmaya 1x10⁵ hücre olacak şekilde başlanmıştır.

Hücre canlılığı tripan mavisi testi ile doz ve zamana bağlı olarak değerlendirilmiştir. Genisteinin sitotoksik etkisi XTT yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sitotoksikite testleri üç kez tekrarlanmıştır.

Kontrol ve etken madde verilmiş hücrelerden total RNA izole edilmiş ve COX-2, EGFR, hTERT, MDM2, PIK3CA, RUNX3 ve gliseraldehidofostat dehidrogenaz (GAPDH housekeeping gen) gen ekspresyonları Realtime online Revers Transkriptaz RT-PCR ile belirlenmiş ve GAPDH a oranlanarak ekspresyonların relatif oranları belirlenmiştir.

Bulgular: Genisteinin tripan mavisi hücre canlılığı testinde IC₅₀ dozu 48. saatte 50mcM olarak saptandı. Genisteinin sitotoksikitesi XTT ile değerlendirildiğinde 72. saatte 50mcM dozu % 7 ve 75mcM dozunun % 18 sitotoksik olarak saptandı. Gen ekspresyonları açısından HL-60 hücre hattında EGFR ve COX-2 gen ekspresyonları hiç saptanmamıştır. Genisteinin gen ekspresyonu üzerine etkisi relatif olarak değerlendirilmesi kontrolle karşılaştırıldığında, genisteinin 50mcM dozunun 72. saatte RUNX3 ve PIK3CA gen ekspresyonlarını belirgin olarak arttırdığı, MDM2 ekspresyonunu etkilemediği ve hTERT gen ekspresyonunu belirgin olarak düşürdüğü saptanmıştır. hTERT gen ekspresyonunun genistein tarafından lösemi hücrelerinde baskılanmasının gösterilmesi literatürde ilk olmaktadır.

Sonuç: Tümör süpresör gen olan RUNX3 ekspresyonunun artması ve onkogen olan hTERT ekspresyonunun genistein tarafından baskılanması nedeniyle genistein antilösemik bir ajan olarak değerlendirilmiştir ve kemoterapi ile eş zamanlı olarak uygulanmasının yeni bir kemoterapik yaklaşım olacağını düşünmekteyiz.

HEPATOKARSİNOGENEZİS'İN ERKEN DÖNEMİNDE DEMETOKSİVİRİDİN VE 1--HİDROKSİ -DEMETOKSİVİRİDİNİN ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİNE ETKİSİ*

M. C. ÜSTÜNER 1, İ. DEĞİRMENÇİ 1, H. ÖZDEN 2, K. ÇİVİ 3, İ. KIRAN 4

1Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 Anatomi AD, ESKİŞEHİR

3 İnegöl Devlet Hastanesi, Patoloji Laboratuvarı, BURSA

4 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, ESKİŞEHİR

custuner@ogu.edu.tr

Bu çalışmada, Sprague-Dawley türü sıçanların karaciğerinde tümör oluşumuna neden olan, dietilnitrozamin (DEN;İndükleyici) ve 2-asetilaminofloran (2-AAF;promotör) ile oluşturulan erken dönem hepatokarsinogeneziste, antitümör etkileri olduğu düşünülen demetoksiviridin (DMV) ve ondan türetilmiş 1--hidroksi- demetoksiviridin (1--hidroksi-DMV)'in antioksidan sisteme olan etkileri araştırıldı.

Deneyde kullanılan 2 aylık erkek sıçanlar 10 gruba ayrıldı ve bu gruplar sırayla; kontrol, zeytin yağı, dimetil sülfoksit (DMSO), DMV, 1--hidroksi-DMV, DEN, 2-AAF, DEN+2-AAF, DEN+2-AAF+DMV ve DEN+2-AAF+1--hidroksi-DMV olarak düzenlendi. Deneyin 5. haftasında, eter anestezisi altında sıçanların karaciğeri alındı. Karaciğer homojenatları hazırlanarak, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (Gpx) ile katalaz enzim aktiviteleri ve malondialdehit (MDA) düzeyleri belirlendi.

Elde edilen tüm bulgularda kontrole göre tümör oluşturuca ajanlar dışındaki gruplarda fark görülmezken, DEN+2-AAF verilen grupta daha önemli düzeyde olmak üzere DEN, 2-AAF verilen gruplarda farklılıklar gözlemlendi. Düzeltici etkisi olduğunu düşündüğümüz DMV ve 1--hidroksi-DMV ise MDA düzeyi dışında SOD % inhibisyonu, Gpx ve katalaz aktivitelerini artırarak, düzeltici etkisi olduğu ortaya kondu.

Sonuç olarak, her iki mantar metabolitin de erken dönem hepatokarsinogenezde antioksidan sistemi güçlendirici etkisi ortaya kondu.

* Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Araştırma Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

KARACİĞERDE TÜMÖR OLUŞMASINA NEDEN OLAN DİETİLNİTROZAMİN VE 2-ASETİLAMİNOFLORAN UYGULANMIŞ SIÇANLARA DEMETOKSİVİRİDİN VE 1--HİDROKSİ DEMETOKSİVİRİDİN'İN ETKİLERİ*

**M. C. ÜSTÜNER 1, İ. DEĞİRMENCİ 1, İ. KIRAN 2, H. ÖZDEN 3, D. ÜSTÜNER 4,
K. ÇİVİ 5, H.V. GÜNEŞ 1, A. BAŞARAN 1**

1 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü,

3 Tıp Fakültesi, Anatomi AD, ESKİŞEHİR

4 Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Eskişehir, 3İnegöl Devlet Hastanesi, Patoloji
Laboratuvarı, BURSA

custuner@ogu.edu.tr

Bu çalışmada, Spraque-Dawley türü sıçanların karaciğerinde tümör oluşumuna neden olan, dietilnitrozamin (DEN;indükleyici) ve 2-asetilaminofloran (2-AAF;promotör) ile oluşturulan erken dönem hepatokarsinogeneziste, antitümör etkileri olduğu düşünülen demetoksiviridin (DMV) ve ondan türetilmiş 1--hidroksi- demetoksiviridin (1--hidroksi-DMV)'in antioksidan sisteme olan etkileri araştırıldı.

Deneyde kullanılan 2 aylık erkek sıçanlar 10 gruba ayrıldı ve bu gruplar sırayla; kontrol, zeytin yağ, dimetil sülfoksit (DMSO), DMV, 1--hidroksi-DMV, DEN, 2-AAF, DEN+2-AAF, DEN+2-AAF+DMV ve DEN+2-AAF+1--hidroksi-DMV olarak düzenlendi. Deneyin 5. haftasında, eter anestezisi altında sıçanların karaciğeri alındı. karaciğer mikrosomları hazırlanarak, Western blot yöntemiyle CYP1A2 enzimlerinin ekspresyonu incelendi. Karaciğer doku preparatları H&E boyama yöntemi ile histopatolojik olarak ve immunohistokimyasal yöntem ile de Ha-Ras, GST-p ve Cx32 proteinleri yönünden değerlendirildi.

CYP1A2 ekspresyonu, kontrol grubuna göre 2. ve 3. gruplarda farklı bulunmadı, 4. grupta en az, 5. ve 10. gruplarda önemli, 6., 7., 8. ve 9. gruplarla ise çok önemli düzeyde farklı bulundu. Histolojik olarak; 1., 2., 3., 4. ve 5. gruplarda dejeneratif bulgular ve patolojik bozukluklara rastlanmazken, 6., 7. ve 8. gruplarda, 8. grupta daha fazla olmak üzere, hepatosit karyomegali, hepatosit sitomegali ve iltihabi hücre infiltrasyonu oluşumu gibi patolojik bozukluklar gözlemlendi. İmmunohistokimyasal olarak; Ha-Ras ve GST-p'nin 8.grupta arttığı, 9. ve 10. gruplarda düştüğü, Cx32'nin ise tüm gruplarda değişmeden kaldığı belirlendi.

Sonuç olarak, her iki mantar metabolitlerin de preneoplastik dönemde etkili olduğu ortaya kondu. Fakat bu sonucun daha da kesinleşebilmesi ve preneoplastik dönemi takip eden evrelerde ne gibi etkilerinin olabileceğini ortaya koyabilmek için, henüz çok yeni olan bu konuda, daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

* Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Araştırma Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

OVER KANSERLİ HASTALARDA MTHFR POLİMORFİZMİ, FOLAT, HOMOSİSTEİN DÜZEYLERİ VE APOPTOZA EĞİLİMLERİ

A.Ç.ÖZKILIÇ 1, M. CENGİZ 1, A. ÇETİN 2

1 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,
2 Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Doğum Kliniği, İSTANBUL

aozkilic@istanbul.edu.tr

Ozet: MTHFR, 5,10-metilentetrahidrofolatın 5-metiltetrahidrofolata redüksiyonunu katalizler. Bu ürün homosisteinden metiyonin sentezinde metil vericisidir. 5-metiltetrahidrofolat, plazma folatının primer formudur. MTHFR folat metabolizması, DNA sentezi ve tamirinde çok önemli bir role sahiptir. MTHFR C677T varyantında, alanin yerine valin kodlanır. MTHFR enziminin aktivitesindeki azalma homosisteinden metiyonine remetilasyonun azalmasına ve hiperhomosisteinemiye yolaçar, plazma folat düzeyi düşer. MTHFR C677T genotipiyle bağlantılı olarak plazma homosistein düzeyi intraselüler folat düzeyi hakkında belirteç görevi görür. Gen polimorfizmine bağlı olarak gelişen hiperhomosisteinemiyle beraber düşük folat tablosunun kanserogenezle ilişkili olabileceği bildirilmiştir.

Kontrol ve hastalardaki C677T polimorfizmi belirlenerek, MTHFR metabolizmasında rol oynayan homosistein, folat ve vitamin B12 düzeylerinin incelenmesi ve Comet deneyi aracılığıyla çeşitli evrelerdeki over kanserli hastalarda meydana gelen DNA hasarını göstererek, hastalığın patogenezinin aydınlatılmasına katkıda bulunmayı amaçlamaktayız.

Çalışmamızda 50 over kanserli hasta ve 54 kontrol grubu kullanıldı. MTHFR C677T polimorfizmini belirlemek için genomik DNA izolasyonu yapılarak, PZR yöntemiyle çoğaltıldı ve agaroz jel elektroforeziyle mutasyonlu bölgeler tespit edildi. Homosistein düzeyi Elisa, folat ve vitamin B12 düzeyleri de kemilüminesans yöntemleriyle tayin edildi. Over kanserli hastalarda meydana gelen DNA kırıkları Comet deneyi aracılığıyla gösterildi.

Sonuç olarak çalışmamızda MTHFR C677T polimorfizmi ile over kanseri arasında bir ilişki bulunamadı. Hasta ve kontrol grubunun homosistein, folat, vitamin B12 düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel bir anlamlılık tespit edilemedi. Bu durumun hasta sayımızın az olmasından, yaşam şartlarının iyileşmesine bağlı olarak besinlerle yeterli miktarda folat ve vitamin B12 alımından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda over kanserli hastaların grade'leri arttıkça DNA fragmentasyonunun da arttığı belirlendi. DNA kırıklarının oluşması, DNA metilasyonunda bir bozukluk olduğunu düşündürmektedir. MTHFR C677T polimorfizmi ile over kanseri arasında bir yargıya varabilmek için daha büyük serilerle çalışma yapılması gerektiği inancındayız.

TÜRK TOPLUMUNDA AURORA-A GEN POLİMORFİZMLERİ VE AKCİĞER KANSERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ

İ. DOĞAN 1, A. EKMEKÇİ 1, A. S. YURDAKUL 2, İ. H. ÖNEN 1, C. Öztürk 2, E. KONAÇ 1, A. ACAR 2, M. YALINAY ÇIRAK 3

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

2 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları AD,

3 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, ANKARA

iremd@gazi.edu.tr

Protein kinaz ailesinin bir üyesi olan Aurora kinazlar hücre bölünmesi sırasında, kromozom ayrılmasında, iğ ipliklerinin birarada bulunması ve düzenliliğinde, kromozomların yoğunlaşmasında ve sitokinezde yer alırlar. Aurora-A'nın kinaz fonksiyonu ve tümörün anöplal derecesi gende bulunan Phe31 ile ve Val57 ile polimorfizmleriyle değişebilir. Bizim amacımız Türk toplumunda bu genin kodon 31 ve 57'deki polimorfik değişimlerini ve akciğer kanseri ile ilişkisini ortaya çıkarmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Akciğer kanserli hastalarda Aurora-A genindeki polimorfizmleri saptamak için 2 grup oluşturulmuştur. Birinci grup, 80 adet ,yeni tanı alan akciğer kanserli hastalardan elde edilen kanlardan, İkinci grup ise 100 adet, ailesinde kanser öyküsü bulunmayan, sigara içmeyen ve yaş aralığı hastalarla uyumlu sağlıklı bireylerden alınan kanlardan oluşturulmuştur. Tam kandan genomik DNA izolasyonunun ardından, PZR yapılmış ve tüm örnekler DNA dizilim teknolojisiyle genotiplendirilmiştir.

BULGULAR: Sonuçlarımıza göre akciğer kanserli hasta ve kontrol grubunda Phe31 ile ve Val57 ile polimorfizmleri bakımından karşılaştırıldığında risk faktörü oluşturabilecek bir ilişki bulunmamıştır. Pearson's χ^2 p değerleri sırasıyla; 0,364 ve 0,480'dir ($P > 0.05$).

TARTIŞMA: Yapılan bazı özefagus, kolon, meme ve over kanseri çalışamalarında Phe31 ile ve Val57 ile değişimlerinin anlamlı olduğu ortaya koyulsada, çalışmamızda akciğer kanserli hastalarda Aurora A polimorfizmi alel frekansları arasında anlamlı bir değişim bulamadık. Akciğer kanserli grubunda olgu sayısının az olması bu etkinin ortaya çıkması için yetersiz kalmış olabilir. Bu nedenle grup genişletilerek çalışma devam edecektir.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı'nca 01/2006-01 Kod No.'lu proje ile desteklenmiştir.

VİTAMİN D3 (1,25 (OH)2 D3) İLE İŞLENMİŞ HL-60 HÜCRELERİNDEKİ GEN ANLATIMININ ZAMANA KARŞI DEĞİŞİMİNİN ANALİZİ

A. KANLI 1, M. D. GÜLKAÇ 1, H. SAVLI 2

1 Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

2 Tıbbi Genetik Anabilim Dalı , KOCAELİ

Amaç: Akut myeloid lösemisinin, 1,25(OH)2D3'ün farklılaştırma etkisiyle tedavisi son yılların ön plana çıkan araştırma konularındandır. Bu çalışmanın amacı HL-60 hücrelerinde lösemi hücre farklılaşması ve apoptozunda 1,25(OH)2D3'ün rolünü araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Dört farklı zamanda (18, 36, 48, 72. saatler) vitamin D ile indüklenmiş ve indüklenmemiş HL-60 hücrelerinde TNFR1, Bcl-w, Bax, Bak, Kaspaz-6, Kaspaz-8, AIF, Survivin, Cdk1 (Cdc2), Cdk2, Cdk4, Siklin D1 ve Siklin E genlerinin gen anlatımları gerçek zamanlı kantitatif PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi kullanılarak incelenmiştir.

Bulgular: Deneylerimiz boyunca incelenen genlerde dramatik düşüş ve yükselişler gözlenmemiştir. Elde edilen değerler, incelenen genlerin, vitamin D bağımlı etkiye yüksek düzeyde duyarlı olmadığını düşündürmektedir. Gerçek zamanlı PZR analizlerinin sonucu, 72. saat sonunda TNFR1, Cdk-4, Siklin D1, Siklin E, Survivin genlerinin anlatımında azalma, Kaspaz-8 ve Bak genlerinin anlatımında artma olduğu gözlenmiştir. Hücre siklusu ile ilişkili genlerin anlatımında 18. saatten 72. saate doğru azalma eğiliminin olması, hücrelerin proliferasyon sürecinden çıkıp farklılaşma sürecine girdiğini düşündürmektedir. Antiapoptotik genler Bcl-w ve Survivin gen anlatımlarının genelde azalan bir çizgi izlemesi ve pro-apoptotik bir gen olan Bak ve Kaspaz-8'in anlatımlarında artış eğilimi apoptotik sürecin 72. saat civarında başladığını düşündürmektedir. AIF gen anlatımında 72. saate doğru azalmanın olması da, bu genin HL-60 hücrelerinde apoptotik süreçte yer almadığının bir göstergesi olabilir.

Sonuç: Sonuç olarak, bu genlerin yanı sıra hücre döngüsü ve apoptozis ile ilişkili diğer genlerin çeşitli zamanlarda incelenmesi ve in vitro çalışmalara ilaveten hasta örneklerinde de çalışmaların yapılması, lösemisinin tedavisinde yeni yaklaşımların geliştirilmesi için aydınlatıcı olacaktır.

Anahtar kelimeler: HL-60, 1,25 (OH)2 D3, Hücre Döngüsü, Farklılaşma, Apoptozis, Gerçek Zamanlı Kantitatif PZR

OKÜLER LENFOMA HASTA GRUBUNDA p14 , p16 , p27 TÜMÖR SÜPRESÖR GENLERİNİN METİLASYON STATÜLERİNİN BELİRLENMESİ

S. BOZKURT 1, C. AKYERLİ 1, A. ÜNER 1, E. KANSU 1, N. AKAR 2

Hacettepe Üniv. Onkoloji Ens.Temel Onkoloji AD,
Ankara Üniv. Pediatrik Hematoloji AD, ANKARA

Amaç: Çalışmada;Oküler lenfoma hastalarında, hücre siklus regülatörleri olan siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CKI) ailesine ait p14, p16, p27 TSG\lerinin, promotor bölge metilasyon statülerinin belirlenmesi ve tümör progresyonu üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Hacettepe Üniversitesi Patoloji Ana Bilim Dalı arşivinde bulunan oküler lenfoma tanısı almış 20 hastaya ait parafine gömülü doku örneklerinde, p14, p16, p27 TSG\lerinin metilasyon statüleri metilasyon-spesifik PCR ile belirlenmiştir. Öncelikle, parafine gömülü oküler lenfoma doku örneklerinden ve negatif kontrol olarak kullanılan periferik kan örneklerinden DNA elde edilmiştir. Bu DNA örnekleri \DNA Modifikasyon Kit \kullanılarak bisülfite modifikasyonu yapılmıştır. Ardından modifiye DNA\larda ilgilenilen gen promotor bölgelerine spesifik primerler kullanılarak metilasyon spesifik-PCR ile çoğaltılmış ve metilasyon statüleri belirlenmiştir.

Sonuç: Çalışma sonunda; p16 TSG metilasyonu, çalışılabilen 17 örneğin 4\ünde heterozigot olarak (%23) bulunmuştur. p27 TSG metilasyonu ise çalışılabilen 12 örneğin 2\sinde (%16) heterozigot olarak bulunmuştur.p14 gen metilasyonu ise çalışılabilen 15 örneğin hiçbirinde tespit edilememiştir

Tartışma: Bu sonuçlar; p16 ve p27 TSG\lerinin metilasyon yolu ile inaktivasyonunun, oküler lenfoma patogenezi ile ilintili olabileceğini düşündürmektedir

KOLOREKTAL KANSERLERDE P21, P27, P57 SIKLIN BAĞIMLI KINAZ İNHİBİTÖR GENLERİ (CDKI) İLE P53 VE P73 TÜMÖR SUPRESSÖR GENİ EKSPRESYON DÜZEYİ DEĞİŞİMLERİNİN BELİRLENMESİ

M. E. AY 1, O. TERZİOĞLU 2, C. TERZİ 3, Ö. İZCİ AY 1

1 Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, MERSİN

2 Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

3 Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD, İZMİR

ertanay@mersin.edu.tr

Kanser gelişiminde rolü olduğu gösterilen bazı moleküllerdeki genetik değişimler, hastaların tanı, tedavi ve takibinde belirleyici olarak kullanılabilir. Ancak bu markerlardan henüz hiçbirisi tek başına, rutin uygulamalarda kullanılamamaktadır.

p21, p27 ve p57 Cip/Kip CDKl'leri, hücre bölünmesi uyarılarına karşı oluşturulan cevapta, döngünün kısıtlanması ya da durdurulmasını kontrol etmektedirler. Çeşitli kanser tiplerinde, p21, p27 ve p57 genlerinin, normal ve tümör dokularında gözlenen ekspresyon düzeyi farklılıkları, bu genlerin tümör supressör gen olarak işlev gördüklerini düşündürmektedir. p53 tümör supressör proteini ise birçok genotoksik ve hücre stres etkenlerine karşı cevapta, hücre döngüsü arrestini ve apoptozu uyarmakta ve insan kanserlerinin %50'sinde mutasyona uğramış olarak bulunmaktadır. p53 gen ailesi üyesi p73 ise p53'ün transkripsiyonel hedeflerinin, tansaktivatörü olarak işlev görmektedir.

Kolorektal kanserli normal ve tümör dokularında p21, p27, p57, p53 ve p73 ekspresyon düzeyi değişimlerinden biri ya da birkaçının birlikte çalışıldığı araştırmalara literatürde rastlanılmaktadır. Bu çalışmada, kolorektal kanserli hastalarda, normal ve tümör dokuları arasındaki p21, p27, p57, p53 ve p73 geni ekspresyon düzeyi değişimlerinin ve bu değişimlerin, hastalara ait klinik ve patolojik özellikler ile korelasyonunun saptanması amaçlandı. Çalışmaya, 19 normal ve 19 tümör dokusu olmak üzere, toplam 38 kolorektal doku örneği dahil edildi. p21, p27, p57, p53 ve p73 ekspresyon düzeyi analizleri, RT-PCR ve dansitometrik analizler kullanılarak gerçekleştirildi. Normal dokularla karşılaştırıldığında, tümör dokularındaki p21, p27 ve p57 ekspresyon düzeyleri artmış olarak saptandı. Normal ve tümör dokuları arasındaki p53 ve p73 ekspresyon düzeyleri arasında fark bulunamadı. p27 ekspresyon düzeyi artışı ile diferansiyasyon ve tümör yerleşimi, p57 ekspresyon düzeyi artışı ile klinik ve patolojik evreler, p53 ekspresyonu düzeyi artışı ile patolojik evreler ve metastaz arasında anlamlı istatistiksel ilişkiler saptandı.

Elde ettiğimiz sonuçlar; p21, p27, p57, p53 ve p73 ekspresyon düzeyi değişimlerinin saptanmasının, kolorektal kanser tümör biyolojisinin anlaşılmasına katkıda bulunacağı ve hasta prognozlarının belirlenmesinde prediktif marker olarak kullanılabilineceğini düşündürmektedir.

MESANE KANSERİ OLGULARINDA FİBROBLAST BÜYÜME FAKTÖRÜ RESEPTÖR 3 (FGFR3) A248C, S249C, G372C, T375C MUTASYONLARININ VARLIĞI

Y. DODURGA 1, 2, C. TATAROĞLU 3, Z. KESEN 4, N. L. ŞATIROĞLU - TUFAN 1

1 Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, DENİZLİ

2 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İZMİR

3 Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD, AYDIN

4 Denizli Devlet Hastanesi Patoloji Bölümü, DENİZLİ

Amaç: Üriner sistemde oluşan kanserlerin büyük kısmı mesaneden gelişir ve yaklaşık %90'ı transizyonel hücre karsinomudur. Fibroblast büyüme faktörü reseptörleri (FGFR) tirozin kinaz ailesindendir ve hücre farklılaşmasında, proliferasyonunda ve embriyonik gelişimde önemli rol oynamaktadır. FGFR3 geni kromozom 4p16.3 bölgesine lokalizedir ve çeşitli yanlış anlamlı mutasyonlar sonucunda otozomal kalıtmalı iskelet sistemi hastalıkları ortaya çıkmaktadır ve ayrıca onkogenik etkiyi olduğu da düşünülmektedir. Bu çalışmada, FGFR3 tanatoforik displazi mutasyonları olarak gruplandırılan ekzon 7 A248C, S249C ve ekzon 10 G372C, T375C kodonlardaki olası yanlış anlamlı mutasyonların mesane kanserli hasta popülasyonundaki varlığı ve klinikopatolojik parametreler üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Denizli Devlet Hastanesi Patoloji bölümünden 56 olguya alt mesane transizyonel hücre karsinomu doku örneği çalışma kapsamına alınmıştır. Parafin kesitlerden DNA izolasyonunun sonrasında, FGFR3 geni ekzon 7 A248C, S249C ve ekzon 10 G372C ve T375C kodonlarını içeren DNA parçaları polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılıp, A248C ve S249C kodonlarındaki mutasyonlar Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi yöntemi ile ve ekzon 10 G372C ve T375C kodonlarındaki mutasyonlar DNA dizisi analizi ile araştırılmıştır.

Sonuçlar ve Tartışma: FGFR3 genindeki tanatoforik displazi mutasyonları olarak gruplandırılan ekzon 7 A248C, S249C ve ekzon 10 G372C, T375C kodonlardaki tespit edilen toplam mutasyon varlığı 56 olgunun 23 tanesi (%41.1) normal, 33 tanesi (%58.9) heterozigot mutant olarak değerlendirilmiştir. 56 olgunun 7'sinde (%12.5) A248C ve 28'inde (%50) S249C, 3'ünde (%5.4) T375C kodonlarında yanlış anlamlı mutasyon saptanmış olup bu oran literatürdeki diğer çalışmaları desteklemektedir. FGFR3 genindeki ekzon 7 A248C, S249C ve ekzon 10 G372C ve T375C mutasyon sonuçları tek tek ve toplu olarak değerlendirildiğinde, daha önce yapılmış çalışmalardan farklı olarak tümör evresine ve derecesine göre homojen dağılımlı olduğu saptanmıştır. Ancak daha fazla sayıda erken evre ve düşük derece tümör örneğinin araştırma kapsamında değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

KOLOREKTAL KANSER GELİŞİM RİSKİ İLE p53 GEN POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ÖNEMİ

Ö. SÖNMEZ, M. AKKIPRIK, B. M. GÜLLÜOĞLU, Ç. ATAİZİ ÇELİKEL, A. ÖZER

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

sonmezozgur@gmail.com

Özet: Amaç:Kolon kanseri birçok genetik değişimin ardı ardına meydana gelmesiyle biriken genetik hasarlar sonucunda oluşmaktadır. Bu genetik hasarları taşıyan hücrelerin çoğalmasıyla normal kolon mukozası karinomaya doğru ilerlemektedir. Bu süreçte p53 tümör baskılayıcı gen değişimleri önemli bir yer tutmaktadır.

Çalışmamızın amacı; Dukes'B evresindeki kolorektal kanserli (KRK) hastalarda p53 geninin "ekzon 4 kodon 72" ve "intron 3 16 bç duplikasyon (PIN3)" polimorfizmleri sıklığını araştırmak ve elde edilen sonuçların sağlıklı popülasyonla kıyaslanarak muhtemel risk grubunu tanımlamak ve tedavide yardımcı olacak marker geliştirme çalışmalarına katkıda bulunmaktır.

Gereç ve Yöntem:Çalışmaya; 57 KRK'li hasta ve kendisinde ve birinci derece akrabasında kanser hikayesi bulunmayan hasta yaşları ile uyumlu 114 sağlıklı birey alınmıştır. DNA izolasyonu sağlıklı bireylerde periferik kan, KRK'li hastalarda ise arşivlerdeki parafin doku örneklerinden yapılmıştır. Elde edilen DNA'larda, PZR-RFLP yöntemi kullanılarak p53 ekzon 4 kodon 72 ve PIN3 polimorfizmleri sıklığı araştırılmıştır.

Sonuçlar ve Tartışma: Ekzon 4 kodon 72 bölgesi için çalışmaya alınan 57 KRK'li hastanın 11'i Arg/Arg; 30'u Arg/Pro ve 9'u ise Pro/Pro bulunmuştur. Kontrol grubunda ise 114 kişinin 48'i Arg/Arg; 51'i Arg/Pro ve 13'ü Pro/Pro genotipinde bulunmuştur. PIN3 polimorfizmi için aynı hasta grubunda homozigot duplike olmayan 31; heterozigot 18 ve homozigot duplike 7 kişi bulunmuştur. Aynı polimorfizm açısından kontrol grubunda ise homozigot duplike olmayan 64; heterozigot 43 ve homozigot duplike 5 kişi bulunmuştur.

X2 testi uygulanarak hasta grubunda, kontrol grubuna göre ekzon 4 kodon 72 Arg/Pro polimorfizmi sıklığı açısından anlamlı bir fark bulunmuştur ($P<0.05$). Ancak, PIN3 polimorfizmi için hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir.

FAMİLYAL ADENOMATÖZ POLİPOZİS' Lİ TÜRK HASTALARDA APC GEN MUTASYONLARININ DAĞILIMI

B. TUNCA 1, G. CECENER 1, U. EGELİ 1, A. ZORLUOĞLU 2, T. YILMAZLAR 3

1 Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD

2 Acıbadem Hastanesi, Genel Cerrahi AD

3 Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi AD, BURSA

btunca@uludag.edu.tr

Amaç: Familial Adenomatöz Polipozis (FAP), yüz ya da daha fazla kolorektal adenomatöz polip ile karakterize edilen otozomal dominant bir hastalık olup adenomatöz Polipozis koli (APC) genindeki mutasyonlar ile ortaya çıkar. Bu çalışma, FAP'lı Türk ailelerde APC mutasyon dağılımının belirlenebilmesi ve FAP'lı ailelerin erken tanısında kullanılabilecek yeni biomarkırların belirlenebilmesi amacı ile planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda APC gen mutasyonları 6 farklı ailede heteroduplex analizi (HDA) ve DNA dizi analizi kullanılarak araştırıldı. APC geninin 15. ekzonuna ait D, E, F ve G segmentleri değerlendirildi.

Sonuçlar: İncelediğimiz 6 farklı ailede 3 çeşit APC mutasyonu belirlendi. Bu mutasyonlardan biri daha önce bizim tarafımızdan farklı bir FAP'lı Türk ailede tanımlanmış olmasına rağmen diğer iki mutasyon literatürde ilk kez tanımlanmaktadır. Bu yeni değişimler, 1018T>C ve 1309delGAAAAA şeklindedir. 1018. kodonda belirlediğimiz T'den C'ye dönüşüm kodonun anlamında bir değişikliğe neden olmamaktadır. Fakat, çalışmamızda kullandığımız web bazlı bir program olan ESEfinder programı ile bu sessiz mutasyonun meydana geldiği dizide, normal dizide bulunmayan yeni bir exonic splicing enhancers (ESEs) motifi belirlenmiştir. **Tartışma:** Mevcut çalışma, APC gen mutasyonlarının sayısının ve çeşitliliğinin artmasına ve Türk FAP'lı ailelerin erken tanısında kullanılabilecek yeni biomarkırların belirlenmesine katkı sağlamaktadır.

AKUT LÖSEMİLERDE GSTT1 VE GSTM1 POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ

P. ÖZKAL 1, N. ÖZTEN KANDAŞ 2, A. H. ELHAN 3, A. SUNGUROĞLU 1

1 Tıbbi Biyoloji AD, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, ANKARA

2 Department of Environmental Medicine, New York University School of Medicine,
NEWYORK

3 Biyoistatistik AD, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, ANKARA

Amaç: Akut lenfoblastik lösemi (ALL) ve akut myeloblastik lösemiye kapsayan akut lösemi, hem çocukları hem de yetişkinleri sıkça etkileyen bir malignitedir. Çevresel etkiler ve genetik yatkınlık lösemilerin etyolojisinde rol oynar.

Glutatyon s-transferazlar (GSTler) ksenobiyotik metabolizmasında yer alan enzimlerden biri olup, çevresel karsinojenlerin ve kemoterapötik ajanların konjugasyon ve detoksifikasyonunda yer alırlar. GST polimorfizmlerinin akut lösemide muhtemel risk faktörleri olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, GSTT1 ve GSTM1 polimorfizmlerinin akut lösemiye yatkınlıktaki rolleri değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: 75 AML, 57 ALL olmak üzere toplam 132 akut lösemi hastası ve 87 kontrol bu çalışmaya dahil edilmiştir. DNA izolasyonu, multipleks PCR ve daha sonra yapılan agaroz jel elektroforeziyle gen polimorfizmleri saptanmıştır. İstatistiksel analiz χ^2 testi ile yapılmıştır.

Sonuçlar: GSTT1 null genotipi AML hastalarının %24'ünde (18/75) ve ALL hastalarının %24,5'inde (14/57) saptanmıştır. Kontrollerin hiç birinde GSTT1 null genotip bulunmamıştır. GSTM1 null genotip AML hastalarının %66,6'sında (50/75), ALL hastalarının %94,7'sinde (54/57) ve kontrol grubunun %42,5'inde (37/87) tespit edilmiştir. AML ve ALL hastaları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı derecede fazla GSTT1 and GSTM1 null genotipine sahiptir ($p < 0,001$). AML ve ALL hastaları arasında {delGSTT1} açısından fark olmadığı halde, ALL hastaları anlamlı derecede yüksek {delGSTM1}'e sahip bulunmuştur ($p < 0,001$).

Tartışma: Elde ettiğimiz sonuçlar, GSTT1 ve GSTM1 enzim aktiviteleri eksikliği ile akut lösemi riskinin artışı arasında bir ilişki olduğunu önermektedir. Aynı hemapoiyetik öncü hücrelerden sonra farklı olgunlaşma modellerine sahip olmaları nedeniyle, {delGSTM1} ALL hastalarında AML hastalarından daha fazla oranda görülebilir.

KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERLERİNDE, FLUORESAN in-situ HİBRİDİZASYON İLE HER-2/neu AMPLİFİKASYONUNUN SAPTANMASI

Ş. YILDIRIMCAN 1, Ç. ERESEN YAZICIOĞLU 1, Z. AYDOĞDU DİNÇ 2, S. TÜMER 1,
O. ALTUNGÖZ 1, A. KARGI 3, M. SAKIZLI 1

1 Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD.

2 İzmir Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi,

3 Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD, İZMİR

Amaç: Bu çalışmada; küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) olgularının tümör örneklerinde "fluoresan in situ hibridizasyon" (FISH) yöntemi ile HER-2/neu amplifikasyonunun değerlendirilmesi ve sonuçların olguların klinik verileri ile birleştirilerek; HER-2/neu amplifikasyonunun prognoz üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlandı. Ayrıca son yıllarda, p185HER2'e bağlanan ve rekombinant DNA türevli bir monoklonal antikor olan Trastuzumab'ın (Herceptin), ileri evre KHDAK'lerin tedavisinde de, kemoterapi ile birlikte uygulanabilirliği hakkında elde edilen kanıtlar bulunmaktadır. Trastuzumab ile başarılı bir tedavinin önşarttı, HER-2/neu amplifikasyonunun doğru olarak belirlenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda; önceden immunohistokimya (IHC) ile HER-2/neu ekspresyonları, negatif (%46), +2 (%29) ve +3 (%25) olarak değerlendirilmiş 24 adet küçük hücreli dışı akciğer kanseri olgusunun parafin doku örneğinde, fluoresan in situ hibridizasyon tekniği (FISH) kullanılarak, HER2/neu geni amplifikasyonları değerlendirilmiş ve sonuçlar, prognostik verilerle karşılaştırıldı.

Sonuçlar: Yapılan değerlendirmeler sonucunda, 24 olgunun %100'ü FISH (-) olarak bulundu ve bu olgulardan; 23'ü dengeli dizomi, 1 olgu ise dengeli quadrizomi olarak saptandı.

Tartışma: Literatüre bakıldığında, KHDAK'lerde HER-2/neu pozitifliğinin kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmesine rağmen, prognostik verileri iyi veya kötü olan olgularımızın hiçbirinde gerçek gen amplifikasyonu saptanmamıştır. Ayrıca, IHC +2, +3 pozitif sonuçlu olgularımızda (%44), HER-2/neu proteininin overekspresyonunun, gerçek gen amplifikasyonu ile bağlantılı olmadığı gösterilmiştir. Bu nedenle, KHDAK olgularında, Trastuzumab kullanımının ve/veya HER-2/neu pozitifliğini belirleyecek yöntemin seçimi, halen tartışmaya açık bir konudur.

KARADENİZ BÖLGESİNDE CYP2D6 GENİ POLİMORFİZMİ VE MESANE KANSERİ RİSKİ

E. ALTAYLI, S. GÜNEŞ 1, A. F. YILMAZ 2

1 Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji AD, SAMSUN

Amaç: Tümör süpresör genler, onkogenler ve ksenobiyotik metabolizma enzimleri mesane kanserinin etiyopatogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Ksenobiyotik metabolizmasında yer alan enzimlerin mendeliyen kalıtım kalıbı göstermektedir ve bir kısmı polimorfik olarak eksprese edilmektedir. Ksenobiyotik metabolizmasında yer alan enzimlerin bir çoğunun polimorfizmleri, in vivo enzim ekspresyon seviyelerinde değişikliklere yol açmaktadır. Bu yüzden farklı bireyler, maruz kalınan risk faktörlerine bağlı olarak, farklı etkilenebilir. CYP2D6 geni kromozom 22q13.1'de lokalizedir ve sitokrom p450 enzim ailesinin bir üyesidir. CYP2D6 geni içerisinde yer alan G1934A transizyonu intron 3/ekson 4 birleşim yerinde yer almaktadır ve enzim aktivitesinde düşmeye neden olmaktadır. Bu nedenle biz, CYP2D6 geni polimorfizmi ile Karadeniz Bölgesindeki mesane kanserli hastalar arasındaki ilişkiyi araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Bu vaka-kontrol çalışmasında, biz 88 mesane kanserli hastada ve 85 sağlıklı kontrolde CYP2D6, G1934A polimorfizmi dağılımını inceledik. Polimorfizm; polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi yöntemi ile analiz edildi. Genotip ve alel frekansları hesap edildi ve onların mesane kanseri riski ile ilişkisi değerlendirildi.

Bulgular: Hasta grubundaki genotip dağılımı; GG 43% (n=38), GA 41% (n=36), AA 16% (n=14) ve kontrol grubundaki genotip dağılımı; GG 31% (n=27), GA 54% (n=46), AA 14% (n=12) idi. Çalışma popülasyonunun genotip dağılımı Hardy-Weinberg dengesi ile uyumluydu. Hasta ve kontrol grubu arasında, polimorfizme bağlı görülen genotip ve alel frekansları dağılım farklılıkları istatistiksel olarak önemsizdi (OR= 1.21, %95 CI, 0.44-3.32, p=0.69; OR= 0.67, %95 CI, 0.25-1.77, p=0.38). Bu çalışma, CYP2D6 gen polimorfizminin mesane kanseri ile ilişkili olmayabileceğini göstermektedir.

Sonuç: Mesane kanseri ile metabolizma enzimleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi ileride diğer ksenobiyotik metabolizması enzimleri ile birlikte araştırmalarda araştırmaları gerektirmektedir

MESANE KANSERLERİNDE İNTEGRİN VE LAMİNİN GEN EKSPRESYONLARINDAKİ DEĞİŞİM İLE TÜMÖR PROGRESYONU ARASINDAKİ İLİŞKİNİN SAPTANMASI

Ö. İZCİ AY 1, N. ATABEY 2, K. YÖRÜKOĞLU 3, Z. KIRKALI 4, M. SAKIZLI 2

1 Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, MERSİN

2 Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

3 Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD,

4 Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji AD, İZMİR

ozlemay@mersin.edu.tr

Ozet: Mesane kanseri progresyonu ve yayılımı konusunda yapılan moleküler biyolojik çalışmalar, mesane karsinogenezinde çok sayıda basamağı olan ve çok sayıda gen tarafından düzenlenen bir olay olduğunu göstermiştir. Mesane tümörlerinde etken olan moleküler değişikliklerin tam olarak bilinmemesine karşın, TP53, Retinoblastoma (Rb), Siklin bağımlı kinaz (CDKN2), Deleted Colon Carcinoma (DCC) gibi bazı tümör supressör genlerin, bu süreçte önemli olduğu belirlenmiştir.

Tümör progresyonu ve yayılımı sürecinde hücre-hücre, hücre ekstraselüler matriks ilişkilerinin önemli olduğunun belirlenmesi ile, hücre adezyon moleküllerinin ve bunların ligandlarının ekspresyon düzeyi değişikliklerinin, bu süreçte rol oynadıkları düşüncesi gündeme gelmiştir. Hücre adezyon moleküllerinden birisi olan integrinler hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimini sağlayan transmembran glikoproteinlerdir. En önemli reseptörlerinden birisi olan lamininler, en önemli non-kollajen bazal membran molekülü olup, tümör invazyon ve metastazını da içeren çok çeşitli biyolojik olayda rol oynar. Mesane tümörlerinde, laminin izoformları henüz karakterize edilmemiştir.

İntegrin ve lamininlerin mesane kanserindeki rolü ve mesanede eksprese olan laminin izoformları tam olarak tanımlanmamıştır. Çalışmamızda bu konuya açıklık getirmek amacıyla mesane kanserli 16 hastadan elde edilen 16'sı normal, 17'si tümörlü olmak üzere toplam 33 dokudan immünohistokimya ve RT-PCR yöntemleri ile sırasıyla integrin ve laminin ekspresyonlarını araştırdık. İmmünohistokimyasal inceleme sonucunda a2b1 integrin ekspresyon düzeyinin normalde % 80 iken % 46.6'ya, a3b1 integrin ekspresyon düzeyinin ise % 100'den, % 56'ya düştüğünü saptadık. Mesane tümörlerinde RT-PCR yöntemiyle laminin a1, a2, a3, a4, a5, b1, b2 ve g1 ekspresyon düzeylerini araştırdığımızda, laminin a1, a2, g1 ekspresyonunu normal dokulara göre artmış bulduk (a1 için % 6.25'ten % 47'ye, a2 için % 12.5'ten % 64.7'ye ve g1 için % 25'ten % 76.5'e). Laminin a3, a5 ve b2'nin tümörlü dokularda daha az eksprese olduğunu belirledik (a3 için % 62.5'tan % 17.6'ya, a5 için % 93.8'den % 76.5'e ve b2 için % 75'ten % 70.5'e).

Bu bulgular ışığında integrin ve laminin ekspresyon değişimlerinin mesane tümörlerinin biyolojisinin anlaşılmasına ve rekürrenslerin önceden saptanmasında önemli belirteçler olabileceğini düşünmekteyiz.

SULT1A1 (SÜLFOTRANSFERAZ) R213H POLİMORFİZMİ, KOLOREKTAL KANSER RİSKİ VE SİĞARA KULLANIMI İLE ETKİLEŞİMİ

Ö. ÖZER, N. ATEŞ ARAS, S. ÇELİK KARAKAŞ

Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, MERSİN

naras@mersin.edu.tr

Amaç Kolorektal kanser gelişiminde sigaranın da içinde bulunduğu pek çok çevresel ve genetik faktörler rol oynamaktadır. Sülfotransferaz (SULT) 1A1 geni ksenobiyotik bileşiklerin faz II metabolizmasında rol oynayan bir enzimdir ve sigara dumanında bulunan polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve arilaminler gibi bazı kanserojen maddelerin sülfasyon reaksiyonlarını katalizler. SULT1A1 geninin 4 farklı alleli bulunmaktadır. Bunlar, SULT1A1*1, SULT1A1*2, SULT1A1*3, SULT1A1*4'tür. Bunlar arasında en yaygın olanı 638. nükleotiddeki G-A değişimi ile sonuçlanan SULT1A1*2 allelidir. Bu tek nükleotid değişimi 213. aminoasitte arginin-histidin değişimine yol açarak, enzimin aktivitesi ve termostabilitesinin azalmasıyla sonuçlanır. Bu çalışmada SULT1A1 R213H polimorfizminin kolorektal kanser gelişiminde risk faktörü olup olmadığı ve sigara ile olan ilişkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem, Çalışma popülasyonunu oluşturan (99 hasta ve 106 kontrol) bireylerden alınan kanlardan DNA, kit yöntemiyle izole edilmiştir. SULT1A1 genotipleri PCR-RFLP yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir.

Sonuçlar SULT1A1 R213H polimorfizmi için GG, AG ve AA genotiplerinin sıklıkları kontrol grubunda sırasıyla; % 56.5, % 37.4 ve % 6.1 iken hasta grubunda ise % 58.5, % 31.1 ve % 10.4 olarak saptanmıştır. Kontrol grubu ile hasta grubunu oluşturan kolorektal kanserli bireyler karşılaştırıldığında, genotip açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p=0.413$). Ayrıca sigara kullanma ile genotipler arasında da hastalık riski bakımından bir ilişki bulunmamıştır ($P=0.078$). Sigara içmenin ise genotiplerden bağımsız olarak kolorektal kanser riskini 2.63 kat artırdığı belirlenmiştir ($p=0.03$).

Tartışma Kolorektal kanserli hastalarda SULT1A1 R213H polimorfizminin prevalansını belirlemek için daha geniş grupları içeren başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

HİPPOKAMPAL SKLEROZU OLAN TEMPORAL LOB EPİLEPSİLİ HASTALARDA SEÇİCİ AMİGDALOHİPPOKAMPEKTOMİ (SAH) SONRASI KELİME HAFIZASI BOZUKLUKLARI VE APO E POLİMORFİZMİ İLE İLİŞKİSİ

L. HANOĞLU 1, Ç. ÖZKARA 2, S. N. YENİ 2, N. BUYRU 3, **O. BAYKARA 3**, M. UZAN 4

1 Bakırköy Nöroloji Merkezi, Nöropsikoloji Merkezi,

2 Nöroloji ABD, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,

3 Tıbbi Biyoloji ABD, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,

4 Nörocerrahi ABD, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İSTANBUL

mrblack85@hotmail.com

Giriş: Hippokampal sklerozu olan meziyal temporal lob epilepsili (MTLE-HS) hastalarda cerrahi tedavi iyi bir seçenektir. Ameliyatın esas riski, dominant hemisfer cerrahisinden sonra özellikle kelime kullanımındaki yetersizlikler ve hafıza skorlarında bozulmalar meydana gelmesi olasılığıdır.

Bu çalışmanın amacı, hippokampal sklerozu olan temporal lob epilepsili hastalarda seçici amigdalohippokampektomi (SAH) sonrası kelime hafızası bozuklukları ve APO E polimorfizmi arasındaki ilişkiyi saptamaktır.

Materyal ve metod: Çalışmaya, cerrahi müdahale yapılmış 24 MTLE-HS'li hasta dahil edilmiştir (6 erkek, 18 dişi). APO E polimorfizmleri lenfositlerden standart yöntemle izole edilmiş DNA'nın PCR-RFLP yöntemiyle çalışılması ile tespit edilmiştir. Standart kelime hafızası testleri cerrahi işlemiden önce ve yaklaşık 8.4 ± 3.30 ay sonra uygulanmıştır. Tüm hastalara seçici amigdalohippokampektomi (SAH) yapılmıştır.

Ameliyat öncesi hafıza skorları ve epilepsi ile ilişkisi bulunan tüm parametreler (yaş, cinsiyet, eğitim, başlangıç yaşı, aile hikayesi ve nöbet zamanları) mümkün olan herhangi bir ilişkiye karşı incelendi. Hafıza sonuçları ile ilgili olarak bir ön belirleme modeli (farklılık skoru:öncesi-sonrası) çoklu regresyon analizi ile beraber ($p < 0.1$) kullanıldı. Regresyon analizinde APO E4 polimorfizmi, yaşı, epilepsinin başladığı tarihteki yaşı, cinsiyeti, ailesinde epilepsi hikayesi olup olmadığı, eğitim ve ameliyat edildiği sıradaki yaşı gibi parametreler değerlendirildi.

Bulgular: 5 hastada (20.9%) APO E4 alleli bulundu. APO E4 allelinin varlığı ve hastaların belirtilen klinik özellikleri arasında istatistiksel olarak belirgin herhangi bir ilişkiye rastlanmadı. Ameliyat öncesi ve sonrası yapılan hafıza testlerinin regresyon analizi ile yapılan değerlendirmesinde APO E4 allelinin varlığının kelime hafıza fonksiyonları üzerinde negatif bir etkisinin bulunduğu tespit edildi.

Sonuç: Bizim sonuçlarımız APO E4 allelinin varlığının SAH sonrası kelime hafızasında bozulmalara yol açabileceği yönündedir.

STROKE'LU HASTALARDA APOLİPOPROTEİN E GENOTİPLEMESİ

S. DÜZENLİ, İ. PİRİM, A. GEPDİREMEN, O. DENİZ

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, BOLU

Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, ERZURUM

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji AD, BOLU

Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji AD, ERZURUM

Amaç: İnsan apolipoprotein E (apo E) allelleri polimorfiktir ve koroner arter hastalığında risk artışı ile bağlantılanmıştır, ve Alzheimer Hastalığı için majör genetik yatkınlık loküsü olarak var sayılmaktadır. Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda apo E genotipi ile stroke arasında farklı bağlantı patternleri tanımlanmıştır. Bu çalışmanın amacı Türkiye'nin doğusunda yaşayan stroke hastalarında apo E genotip riskini belirlemektir.

Gereç ve Yöntem: Aynı coğrafik bölgeden olmak üzere 229 bireyin apo E genotipleri ve allel frekansları PCR ve RFLP yöntemleri ile belirlenmiştir. Bu 229 bireyden 103 tanesi, başka belirgin demansiolmayan, stroke hikayesi olan hastalar olup, yaş aralığı benzer olan, 126 kişi kontrol grubudur.

Sonuçlar: Sonuçlarımıza göre Apo E ϵ 3/4 genotip frekansı stroke'lu hastalarda istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) şekilde azalmış bulundu. Ayrıca ϵ 2/3 genotip frekansı, önceden stroke geçirmiş hastalarda anlamlı ($p < 0.05$) olarak artmış bulundu, ki bu bulgu bize ϵ 2/3 genotipinin stroke için bir yaşamda kalım faktörü olduğunu düşündürmektedir. Apo E ϵ 4/4 alleli ve stroke arasında herhangi bir asosiyasyon tesbit edilmemiştir.

Tartışma: Bu araştırma, apo E genetik polimorfizminin Türkiye'nin doğusundaki stroke hastaları ile bağlantısının araştırıldığı, ilk çalışmadır. Çalışılmış diğer popülasyonlara göre, APOE allelleri, seçilen popülasyonda farklı eteklere sahip gibi görünmektedir. Bu popülasyonda APOE allelleri ile stroke ilişkisi başka genetik etkileşimler sonucu farklılaşmış olabilir. Sonuç olarak APOE allelleri ve genotipleri stroke ile ilişkilidir ve farklı popülasyonlarda çalışmalara gerek vardır.

Apo E: protein

APOE: gen

NÖRAL TÜP DEFEKTİ GELİŞİMİNDE METİLEN TETRAFOLATREDÜKTAZ GEN POLİMORFİZMİNİN ETKİSİ

N. SELVİ 1, A. TETİK 1, R. TATLISU 2, Ö. GÜBE 1, U. YILDIRIM 3, İ. ULMAN 2, Y. ERŞAHİN 3, Z. EROĞLU 1

1 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,
2 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi AD,
3 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji AD, İZMİR

nur.selvi@ege.edu.tr

Ozet: Nöral tüp defekti (NTD), embriyogenezde nöral tüpün hatalı kapanmasıyla ortaya çıkan önemli bir kongenital anomalidir. Bu defektin oluşumunda, folat ve B12 alınımları önemli olup folik asit alınımları NTD oluşumunu azaltırken, B12 eksikliği NTD riskini arttırmaktadır. Folat metabolizmasının düzenleyici enzimi olan Metilentetrafolatredüktaz, homosistein metabolizmasında önemli bir rolü olan ve bugüne kadar çok sayıda mutasyon ve polimorfizmi saptanmış olan bir gen ürünüdür. MTHFR gen polimorfizmlerinin en önemlilerinden olan C677T - A1298C polimorfizmleri, erken hamilelik döneminde düşük folat ve yüksek homosistein seviyesini etkileyerek NTD gelişimine neden olabilmektedir.

Bu çalışmada, NTD gelişiminde MTHFR C677T ve A1298C gen polimorfizmlerinin etkili olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışma grubu 50 NTD tanılı hasta çocuk ve onların annelerinden, kontrol grubu ise 50 sağlıklı bireyden oluşturulmuş ve genotiplendirmeleri real-time online PCR yöntemi ile yapılmıştır. Ayrıca hasta çocukların homosistein ve folik asit düzeyleri de değerlendirilmiştir.

Kontrol ve NTD'li çocuk çalışma grubunda, C677T gen polimorfizm oranları (%52 CC, %42 CT, %2 TT) (%32 CC, %52 CT, %16 TT) olarak ve A1298C gen polimorfizm oranları ise (%42 AA, %40 AC, %18 CC) (%50 AA, %42 AC, %8 CC) olarak belirlenmiş ve bu gruplar arasında C677T gen polimorfizm açısından anlamlı bir farklılığın olduğu gözlenmiştir.

Ayrıca kontrol ve annelerden oluşan çalışma grubunda C677T gen polimorfizm oranları (%52 CC, %42 CT, %2 TT) (%42 CC, %38 CT, %20 TT) ve A1298C gen polimorfizm oranları (%42 AA, %40 AC, %18 CC) (%54 AA, %40 AC, %6 CC) karşılaştırıldığında C677T polimorfizmi açısından önemli bir farklılığın olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, Nöral Tüp Defektinin gelişmesinde MTHFR C677T gen polimorfizminin etkili olduğu gözlenmiştir.

HIPOKAMPAL SKLEROZLA İLİŞKİLİ TEMPORAL LOB EPİLEPSİLİ HASTALARDA SİTOKİN GEN POLİMORFİZMİ VE HLA TİPLEMESİ

Ç. KEKİK 1, A. ALTINTAŞ 2, Ç. ÖZKARA 2, K. OZDİLLİ 3, F. SAVRAN OĞUZ 1,
M. SOHTAOĞLU 2, M. UZAN 4, Ö. UYSAL 4, M. ÇARİN 1

1 İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Nöroloji AD,

3 Haliç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,

4 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Nöroşirürji AD, İSTANBUL

Mezial temporal lob epilepsisi (MTLE), en sık karşılaşılan, medikal tedaviye dirençli ve cerrahi yaklaşımdan yarar gören epilepsi sendromlarından biridir. Hipokampal Skleroz (HS) bu hastalarda en sık saptanan patolojik tanıdır. HS'un patogenezi kesin bilinmemekle birlikte daha önce yapılan çalışmalar çevresel ve genetik faktörleri de içeren multifaktöriyel bir etiolojinin varlığına dikkat çekmektedir.

Amaç: Çalışmamızda MTLE-HS hastalarında hem sitokin gen polimorfizmlerini (IL-10, IL-6, TNF- α , TGF- β , IFN- γ) ve hem de HLA tiplerini araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza 99 MTLE-HS hastası ve 201 sağlıklı birey dahil edildi. Sitokin genotiplemesi diziye özgü primerler kullanılarak yapıldı. PCR ile çoğaltılan HLA-DRB1 genlerinin hibridizasyonu SSO problemleri kullanılarak yapıldı. MTLE grubunda sitokin genotipleri ile nöbet başlangıç yaşı ve febril nöbet varlığı arasında ilişki olup olmadığı araştırıldı. Sonuçlar, ki-kare ve Fisher's exact test ile analiz edildi.

Sonuçlar: Sonuçlarımız, IFN- γ 'nın düşük sekretuar allel genotipinin kontrol grubunda anlamlı derecede yüksek bulunduğunu gösterdi ($p < 0.05$). Febril nöbet varlığı açısından değerlendirildiğinde allel dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Allel dağılımı ile hastalık başlangıç yaşı arasında anlamlı bir ilişki yoktu. MTLE hastalarında, yüksek DRB1*03 allel frekansı saptandı ($p < 0.05$).

Tartışma: Çalışmamız, IFN- γ 'nın düşük sekretuar allelinin sağlıklı nüfusta MTLE hastalarına göre anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu sonuç, bu allelin varlığının epileptogenezde koruyucu bir rolü olabileceğini düşündürmektedir. MTLE hastalarında DRB1*03 allelinin daha sık saptanmasının ise epileptik dokunun hipereksitabilitesinin oluşturulmasında rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

KRONİK BÖBREK YETERSİZLİĞİNDE HİPERHOMOSİSTEİNEMİ

Ç. BAYRAM GÜREL 1, O. ÇETİN 2, S. BEKPINAR 2, Y. ÜNLÜÇERÇİ 2, T. TÜRKMEN 2,
T. ULUTİN 1

1 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,
2 İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Biyokimya AD, İSTANBUL

bayram@istanbul.edu.tr

Plazmada total homosisteinin (t-hcy) orta düzette artışı genel popülasyonda kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilir. Hiperhomosisteinemisinin kardiyovasküler riski arttıran mekanizmalardan biri artmış trombotik potansiyeldir. Yüksek t-hcy düzeyleri kronik böbrek bozukluğu olan hastalarda da rapor edilmiştir, çünkü böbrek fonksiyonu serum t-hcy düzeylerinin büyük bölümünü düzenler.

Bu çalışmada hemodiyalizde(HD), peritoneal diyalizde(PD), kronik böbrek bozukluğunun erken safhasında olan(CRF erken safha) hastalardaki diyaliz olmadan önce, serum hcy,ADP ile uyarılmış trombosit agregasyonu ve koagülasyon yolunun majör aktivatörü olan plazma doku faktörünü ölçtük ve onların kontrolleriyle karşılaştırdık. Ek olarak t-hcy metabolizmasını düzenleyen önemli faktörlerden biri olan Vitamin B12 düzeylerini de belirledik.

Tüm hasta gruplarında t-hcy düzeyleri, normal gruba göre anlamlı olarak daha yüksekti (HD: 20.42 ± 1.91 mikromol/L, PD: 35.47 ± 6.30 , erken faz CRF: 24.39 ± 3.06) (normal: 10.74 ± 0.74) standart multivitamin ilavesine rağmen yüksekti. Peritoneal diyalizli hastalarda t-hcy değerleri yüksek bulundu. Hemodiyaliz/peritoneal diyaliz hastaları vit B12 seviyeleri ve hemodiyaliz erken faz CRF hastalarında folat seviyeleri kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksekti. Tüm hasta gruplarında plazma doku faktörü konsantrasyonu anlamlı olarak yüksek bulundu(HD: 331.4 ± 31.3 pg/ml., PD: 306.0 ± 30.0 , erken faz CRF: 277.2 ± 25.5 ve kontrol: 69.5 ± 13.5). T-hcy düzeyleri ile kreatinin(r: 0.791 $p < 0.002$)ve doku faktör düzeyleri (r:0.526 $P < 0.05$) arasında sadece erken faz CRF grubunda pozitif korelasyon vardı.T-hcy ve doku faktörü arasındaki ilişki kreatinine göre düzenlendiği zaman da devam etmekteydi.(r:0.649 $P < 0.05$) diğer yandan aynı korelasyon diyaliz hasta grubunda gözlenmedi.ADP ile uyarılmış trombosit agregasyonu tüm hasta gruplarında(HD: 102.6 ± 6.7 PD: 98.6 ± 7.6 erken faz CRF: 84.9 ± 7.6) kontrolden (154.9 ± 13.7)düşük bulundu.

Bu sonuçlar böbrek bozukluğu olan hastalarda hiperhomosisteinemi ve artmış doku faktör düzeylerinin Vit B6,B12 ve folat ile desteklenmelerine rağmen artmış olduğunu göstermektedir. Ancak bu trombogenik faktörlerin düzeylerinin yükselmesi trombosit agregasyonu ile bağlantılı değildir.

"TENOTOMİ"; YENİ BİR KRONİK KAS DEJENERASYONU MODELİ VE REJENERASYON CEVABININ İNCELENMESİ

D. ÜREN 1, İ. ONBAŞILAR 2, Ç. KOCAEFE 1, M. ÖZGÜÇ 1

1. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,
2. Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma laboratuvarı, ANKARA

uren@atcmed.com

Ozet: Genetik kökenli kas distrofileri ve dejeneratif kas hastalıkları, kronik kas dejenerasyonu tablosu ile sonlanmaktadır. İnsanda gözlenen kas dejenerasyonunun temel bulguları kas liflerinde atrofi, fibrozis ve yağ infiltrasyonudur. Genetik kökenli hastalıkları anlamak amacıyla geliştirilen sayısız transgenik modelin hiçbirisi insanda gözlenen kronik kas dejenerasyonu bulgularını ortaya koyamamaktadır. İnsandaki patolojik tabloyu temsil edecek bir hayvan modeli oluşturmak amacıyla kronik tenotomi modeli sıçanlara uygulanmıştır. Sıçanlarda aşıl tendon kesisi ile gastroknemius ve soleus kasları üzerindeki fizyolojik gerilim (preload) ortadan kaldırılabılır. Bu işlem sırasında kasların vasküler ve sinir yapılarının korunması önemlidir.

Tenotomi girişiminin kas dokusu üzerinde erken ve geç dönem etkilerini gözleyebilmek için her zaman noktası için 3 örneğin bulunduğu bir cohort çalışması düzenlenmiştir. Kontrateral kas dokuları kontrol olarak kullanılmıştır. Kohort sürecinin sonunda çıkartılan kas dokuları morfolojik olarak atrofi bulguları, yeni tendon oluşumu, yapışıklık ve enflamasyon bulguları açısından değerlendirilmiştir. Örneklerden RNA izolasyonu yapılarak RNA kalite ve kantitesi saptanmıştır. Erken ve geç dönem örneklerden H&E boyası ile hazırlanan kesitlerde dejenerasyon ve rejenerasyon bulguları olarak kas liflerinin çapları, interstisiyel (endomysial) doku artışı, merkezi çekirdekli kas lifleri, doku mimarisinde bozulma ve yağ hücrelerinin oluşumu incelenmiştir. Değerlendirmeler sonucunda, 1. haftadan itibaren kaslarda atrofik değişikliklerin başladığı ve uzun dönemde dejenerasyon ile rejenerasyon bulgularının birlikte bulunduğu gözlenmiştir. Tenotomi uygulanan kaslarda yağ hücreleriyle birlikte özellikle soleusda endomysial doku artışı, merkezi çekirdekler, kas lifi çaplarında azalma ve doku mimarisinde bozulma gözlenmiştir.

Çalışmanın devamında kas dokusunun hareket kısıtlamasına verdiği rejenerasyon cevabını gözlemek üzere myojenik transkripsiyon faktörleri (MyoD, myogenin, Myf-5, MRF4) düzeyleri ve kas atrofisi moleküler belirleyicileri kantitatif rt-PCR yöntemiyle değerlendirilmektedir.

TÜRK PARKİNSON HASTALARI'NDA İNTERLÖKİN-1 RESEPTÖR ANTAGONİST (IL-1RN) VE İNTERLÖKİN-1B GEN POLİMORFİZMLERİ

K. S. BECİT 1, A. ARMAN 2, A. COKER 1, N. IŞIK 3, F. CANDAN 3

1 Marmara Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,

2 Marmara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, İleri Üretim ve Yönetim Teknolojileri Binası, Moleküler Genetik ve Hücre Kültürü Lab. Oda # 405, Göztepe Kampüsü, 34 744

3 Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Departmanı, İSTANBUL

Ozet: Parkinson hastalığı (PH) enflamatör hastalıklardan biridir. Bazı sitokinlerin genlerinin bu hastalıkların oluşumuna ve/veya ilerlemesine neden olabileceği düşünülmektedir. Çeşitli çalışmalarda İnterlökin 1 (IL-1) gen polimorfizmlerinin enflamatör hastalıklara etkisi üzerine odaklanılmıştır. IL-1 ailesi polipeptitlerle ilgili üç yapıdan oluşmaktadır. İlk ikisi IL-1 Alfa ve IL-1 Beta biyolojik reaksiyonların çeşitliliğini kapsamaktadır ve üçüncüsü IL-1 reseptör antagonist (IL-1Ra)'dır. IL-1 Alfa ve Beta, B ve T hücrelerinin büyümesi ve farklılaşmasını içeren proenflamatör sitokinlerdir, diğer sitokinleri, adezyon moleküllerini, sepsisi ve enflamatör reaksiyonları indükler. Bununla birlikte, IL-1Ra doğal antagonisttir ve IL-1 reseptörüne (IL-1R) bağlanarak IL-1 fonksiyonunu inhibe eder ve bunun sonucu IL-1'in sinyal transdüksiyonunu başlatan IL-1R'e bağlanmasını önler. Bu çalışmada, Parkinson Hastalığı (PH) ve IL-1 RN, IL-1B (-511 ve +3953) gen polimorfizmi arasındaki ilişki incelenmiştir.

Metot:

a) PD hastalarının ve kontrol gruplarının seçilmesi: Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Departmanı tarafından Parkinson hastaları klinik testlere bakılarak seçilmiştir. Kontrol grubu herhangi bir hastalığı olmayan kişilerden seçilmiştir.

b) PD hastalarının ve kontrol gruplarının kanlarından DNA izolasyonu: Tuzla-çöktürme metoduna göre iki yüz kişinin kanından genomik DNA izole edilmiştir.

c) PCR: IL-1 RN, IL-1B-511 ve +3953 bölgeleri PCR'da çoğaltılmıştır ve IL-1RN'nin genotipi PCR ürünü büyüklüklerine göre tanımlanmıştır. Bununla birlikte, -511 ve +3953'nin genotipleri PCR ürünlerinin kesiminden sonraki fragmanın büyüklüğüne bakılarak tanımlandı.

d) İstatistiksel Analiz: Ki-kare testi kullanılarak hasta ve kontrol gruplarının genotip ve allel frekansları karşılaştırılmıştır.

e) Sonuçlar: PD hastaları ve kontroller arasında ($P=0.038$ ve $P=0.009$) IL-1B -511 geninin genotip farklılığı ve allel frekansında önemli bağlantı görülmüştür. Ayrıca, IL-1RN'nin 1/2 genotipi PH ve normal populasyon arasında anlamlıdır ($P=0.045$). Bununla birlikte, IL-1B +3953 geninin genotip farklılığı ve allel frekansı herhangi bir farklılık göstermemiştir ($P=0.988$ ve $P=0.905$).

f) Tartışma: IL-1 -511 2/2 genotipi ve allel 2, Türk populasyonunda PH'dan koruyucu etki içerebilir.

KRONİK DEJENERASYON SÜRECİNDE KAS ÖNCÜLÜ SATELLİT HÜCRELERİN İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU

R. SOYLU 1, İ. ONBAŞILAR 2, M. ÖZGÜÇ 1, Ç. KOCAEFE 1

1 Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

2 Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma laboratuvarı, ANKARA

Ozet: Kas dejenerasyonu, kronik kas hastalıklarının sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Bu süreç türler arasında farklılık göstermektedir. Sürekli kas yıkımının gözlemlendiği DMD hastalığının erken dönemlerinde (0-4 yaş) Kas dokusu içinde yer alan kas öncülü hücreler (satellit hücreler/myoblastlar) kas rejenerasyonu kapasitesi ile ortaya çıkan yıkımı dengeleyebilmektedir. Daha geç dönemlerde rejenerasyonun yetersiz kalması ile kronik kas dejenerasyonu ortaya çıkmaktadır. Erişkin iskelet kasının mekanik ünitesi kas lifidir. Dokunun yapısal ve fonksiyonel devamlılığı, sinir iletimi ile aldıkları elektriksel sinyaller ve "preload" olarak adlandırılan, mekanik gerilim ile sağlanmaktadır. Kas dokusunun tamiri ve sürekliliği lifleri saran bazal lamina altında yer alan kas öncülü, "satellit" hücreler tarafından sağlanır.

Bölümümüzde standardize edilen bir kronik kas dejenerasyon modeli olan "tenotomi" modeli ve tüm türlerde hızlı kas atrofisi ile sonuçlanan "denervasyon" modeli kullanılarak sıçanlarda oluşturulan deneysel kas dejenerasyonu örneklerinde immünafinite yöntemi ile satellit hücrelerin izolasyonları sağlanmıştır. 8 haftalık kohort çalışmasında izole edilen kas öncülü hücrelerin miktarları analiz edilmiş ve kontrol olarak kontrateral kas dokusu kullanılmıştır. rtPCR tekniği kullanılarak satellit hücre aktivasyon belirteçleri incelenmiş ve in vitro koşullarda farklılaşmaya bırakılan satellit hücrelerin miyogenik farklılaşma kapasiteleri ve çok-çekirdekli miyotüp oluşturabilme yetileri ortaya konmuştur.

Kas dejenerasyonu sürecinin ilerlemesi ile birlikte farklılaşma yetenekleri giderek azalan satellit hücrelerin "denervasyon" modelinde çok daha dramatik dejenerasyon sergiledikleri gözlenmiştir. "Tenotomi" girişiminin yeni bir kronik kas dejenerasyon modeli olarak karakterizasyonuna yardımcı olan bu çalışmanın sonraki aşamalarında izole edilen satellit hücrelerin yüksek-ölçekli transkriptom analizi ile incelenmesi ve asimetrik hücre bölünmesi bakımından fikir vermesi için telomer uzunluklarının incelenmesi amaçlanmaktadır.

MULTİPL SKLEROZ İÇİN CUPRİZONE HAYVAN MODELİ: MS MATEMATİK MODELİNE DOĞRU

E.TAHİR TURANLI 1, T. AVŞAR 1, SU. BOZKURT 2, A. SAV 2, GY. DEMİREL 3, S. SAİP 4, A. ALTINTAŞ 4, O. PUSULUK 1, B. GÜÇLÜ 5, A. SİVA 4, T. ALTUĞ 6

1 İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, MOBGAM,

2 Marmara Üniversitesi, Patoloji ADı,

3 Centro Laboratuvarları,

4 İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Nöroloji AD,

5 İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı,

6 Boğaziçi Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Enstitüsü, İSTANBUL

edatahir@superonline.com

Giriş ve Amaç: Multipl skleroz (MS) genç erişkenlerde sık rastlanan, merkezi sinir sisteminde çok odaklı lezyonlar ve ataklarla seyreden kronik, yangısal demiyelinizan bir hastalık olarak tanımlanır. MS'in patojenezinde myelin, oligodendrositler, nöron ve aksonların yıkımı önemli rol oynamaktadır. Grubumuz önceden MS'deki nöro-immün etkileşimlerini temel alan, doğrusal olmayan diferensiyel denklemler sistemi ile matematik model oluşturmuştur. Kurulan modeldeki derişimler ve etkileşimler ampirik formüllerle elde edildiği için reel birimleri bilinmemektedir. Bu çerçevede deneysel yöntemlerle elde edilecek verilerin modelle uyumluluğun araştırılması önemlidir.

Burada sunulan projenin ana amacı, nörotoksik bir kimyasal olan Cuprizone ile farede nöro-inflamasyon temelli demiyelinizasyon-remiyelinizasyon modeli gerçekleştirmektir. MS hayvan modeli için Cuprizon'un seçilme nedeni son zamanlarda post-mortem MS beyinlerinde yapılan araştırmaların bu modelin insanda MS başlangıcını taklit ettiğini düşündürmesidir. Bu bağlamda demiyelinizasyon ve remiyelinizasyon dönemlerinde nöron, immün hücreleri ve moleküllerindeki değişikliklerin ölçülmesi MS etiyojisi hakkında önemli bilgiler verecektir.

Yöntem: Cuprizone içeren toz yemler, 15 gün boyunca % 0.6 oranında 21 günlük wistar sıçanlarına (n=6), ve 25 gün boyunca %0.2 oranında 21 günlük Balb/c farelerine (n=28) verilmiştir. Sıçanlar 15. günün sonunda, fareler ise her 10 günde bir sakrifiye edilmiştir. Sakrifikasyon ile elde edilen beyin dokuları immunhistokimya analizleri yapılmak üzere Hematoksilen-eosin, Luxol fast blue anti myelin bazik antikoru ile boyanmıştır. Mikroskop altında alınan görüntülemelerde literatür bilgilerine dayanarak yapılan skorlama ile demiyelinizasyon ve remiyelinizasyon derecelendirilmiştir.

Sonuç ve bulgular: Sıçanlarda 15.günden farelerde ise 22.günden itibaren demiyelinizasyon görülmüştür. Farelerde 41.günden sonra da beklenen remiyelinizasyon elde edilmiştir. Buradan elde edilmiş bilgiler ve aynı farelerin serum örneklerinden elde edilecek immünolojik değerler ile matematik model test edilecektir.

DEJENERASYONU SÜRECİNDEKİ KAS DOKUSUNDA RTPCR UYGULAMALARI İÇİN GÜVENİLİR NORMALİZATÖR "HOUSE KEEPING" GEN SEÇİMİ

A. YÜZBAŞIOĞLU 1, İ. ONBAŞILAR 2, D. ÜREN 1, R. SOYLU 1, Ç. KOCAEFE 1, M. ÖZGÜÇ 1

1 Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

2 Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı, ANKARA

ayuzbasi@hacettepe.edu.tr

Ozet: rt-PCR ve kantitatif PCR uygulamaları, hücre ve dokuların çevresel uyarılara verdikleri mRNA düzeyindeki cevabın incelenmesi için başvurulan yöntemlerdir. Zamana karşı (kohort) veya farklı fizyolojik koşullarda alınan örneklerde rt-PCR uygulamalarında ilgilenilen genin ekspresyon düzeyinin incelenebilmesi için dokuda ekspresyonu değişmeyen bir diğer gen ürünü mRNA ile standardize edilmesi gereklidir (normalizasyon). Bu amaçla çeşitli doku ve hücre tiplerinde kullanılan ve ekspresyonu minimal farklılık gösteren "house-keeping" genler kullanılmaktadır.

Kısa ölçekli ve doku mimarisi değişiklikleri sergilemeyen deneylerde bu genlerden uygun olanı seçilerek normalizasyon aşamalarında kullanılabilir. Ancak, kronik kas dejenerasyonu gibi, dokunun köklü değişiklikler sergilediği ve yeniden yapılanmaya gittiği durumlarda, bu genlerin ekspresyon düzeylerinin güvenilir ölçüde sabit olup olmadığı bilinmemektedir. Bu nedenle kas dokusu kronik dejenerasyon modeli gibi yaygın doku değişikliklerinin bulunduğu durumlarda güvenilir bir normalizasyon geni ihtiyacı vardır.

Bu çalışmanın amacı, doku mimarisi değişikliklerinin sergilendiği iki farklı kronik kas dejenerasyonu modelinde, zamana karşı, hangi "house-keeping" genlerinin ekspresyon düzeylerinin en az değişim gösterdiğinin incelenmesidir. Bu amaçla denervasyon" ve "tenotomi" modelleri kullanılmıştır. Her iki deneyde de kontrateral kas dokusu kontrol olarak kullanılmıştır. Çalışmada GAPD, b-tubulin, a-aktin, HPRT ve TBP incelenmiştir.

Kas dokularından standart teknik ile total RNA izolasyonu yapılmış ve cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. cDNA sentezi sonrası, semi-kantitatif PCR uygulaması ile miligram doku başına standart miktarda cDNA alınarak her zaman noktasında eksprese olan "house keeping" gen miktarı tayin edilerek kontrateral kasdan elde edilen miktar ile korelasyon analizi ile karşılaştırılmıştır. çalışmanın sağlaması amacıyla izlenen ekspresyon miktarının kas atrofisi ile ilişkilendirilebilmesi için kas dokusunun yapısal proteinlerinden biri olan myozin ağır zincir ekspresyonu ile korelasyon analizi de yapılmıştır.

BORİK ASİTİN FARE PRİMER DUYU NÖRON KÜLTÜRLERİ ÜZERİNDEKİ YAŞAMSAL ETKİLERİ

M. KORKMAZ 1, N. CENGİZ 2, G. ÖZTÜRK 3

1 Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD,

2 Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

3 Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, VAN

Amaç: Borun hayvanlar ve insanlar için diyetteki olası besinsel önemi, çok yaygın araştırmalara uğurak oluşturmıştır. Yine de ortaklaşa kanıtların yoğunluğu insanlarda borun biyolojik işlevini açıkça ortaya koyamamıştır. Çalışma borik asitin nöronlar üzerindeki potansiyel sitotoksik ve destekleyici etkisini test etmek amacıyla gerçekleştirildi.

Yöntem ve Gereç: Balb-C türü genç yetişkin farelerden alınan arka kök gangliyon hücreleri kimyasal ve mekanik ayrıştırmadan sonra kültür ortamına eklendi. Kültürdeki 24. saatte bazı preparatlara 1mM borik asit eklendi ve hücrelerin canlılıkları 48. saatte propidyum iyodür ile değerlendirildi. Bir başka grup deneyde ise 24. saatte kültürlerin bazılarında 1 mM borik asit eklendikten sonra nöronlar 5 mM H₂O₂ eklenmesi ile 30 dk boyunca oksidatif strese maruz bırakıldılar ve 48. saatte hücre hayatiyeti değerlendirildi.

Tartışma ve Sonuç: Sonuçlar 1 mM borik asitin sitotoksik etkisinin olmadığını gösterdi (48.Saatteki ölüm oranı kontrol ve borik asit grubunda % 1, 37 ve % 3.1; p>0,05). Öte yandan literatürde antioksidan özellikleri rapor edilmiş olan borik asitin uyguladığımız in vitro modelde nöronları ölümden kurtaramadığı gözlemlendi (48. saatteki ölüm oranı kontrol ve borik asit gruplarında %99.64 ve %98.79;p>0,05)

NON-SENDROMİK KALITSAL SAĞIRLIKTA Cx26 GENİNDE c.35DELG ve c.167delT MUTASYON ANALİZİ RUTİN UYGULAMASI.

S. KIZILDAĞ 1, S. KOZAN 2, D. TORUN 2, G. OZAN ÇETİN 3, D. GÜL 2

1 9 Eylül Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, İZMİR

2 Gülhane Askeri Tıp Akademisi Tıbbi Genetik BD, ANKARA

3 Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, DENİZLİ

Ozet: Konjenital sağırılık her bin doğumdan birinde görülmektedir. Litaretüre göre bu vakaların %75'ini otozomal resesif, %15'ini otozomal dominant, %2-3 ünü X'e bağlı ve çok azını da mitokondrial kalıtım ile geçen sağırılıklar oluşturmaktadır. Genetik temeli kesin olarak belirlenmiş olgular sendromik ve sendromik olmayan olarak ikiye ayrılır. İşitme kaybına başka hiçbir patolojik organ veya laboratuvar bulgusunun eşlik etmediği durumda sendromik olmayan işitme kaybı söz konusudur. Genetik nedenli işitme kayıplarının yaklaşık %70'i bu gruba girmektedir. Geriye kalan %30'luk grupta işitme kaybı dışında bulgular olmakta ve bu bulgular toplu olarak değerlendirildiğinde bir sendrom tanısı konabilmektedir. Sendromik olmayan sağırılık nedeni olan genler içinde en önemli yeri "connexin 26 (GJB2)-Cx26" tutmaktadır. Akdeniz çevresi, Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika kökenli otozomal resesif doğuştan sağırılık olgularının yaklaşık yarısı Cx 26 genindeki bir mutasyona bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. 13q11.12 kromozomal bölgesinde bulunan Cx26 bir "gap junction" proteinidir. Bugüne kadar bu gen içinde 40'tan fazla mutasyon bildirilmesine rağmen yalnızca bir mutasyon (35delG) bir çok ırkta yaklaşık % 60-70 oranında saptanmaktadır. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalında Aile öyküsü ile başvuran hastaların klinik muayeneleri ve odyolojik testleri yapıldıktan sonra Tıbbi Genetik Bilim Dalında Cx26 geninde 35delG ve 167delT mutasyonunu saptamak için Polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon enzim analizi gerçekleştirilmektedir.

Bu rutin uygulama ile cx26 geninde 35delG ve 167delT mutasyonlarının araştırılması için laboratuvarımız koşullarına uyarladığımız yöntem, bu tip sağırılıklarda erken dönemde tanı konulmasını ve ailelere gerekli danışmanlık ve eğitim hizmetlerinin verilmesine olanak sağlayacaktır.

İNSAN VE SIÇAN ADİPOİTLERİNDE MEKANİK BASINCIN FARKLILAŞMA ÜZERİNE ETKİSİ

P. SHARAFİ 1, A. TEZCANER 1, Ç. KOCAEFE 2,

1 Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Mühendislik Bilimleri Bölümü, Biyomekanik Müh.

2 Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, ANKARA

Ozet: Çeşitli doku ve hücre tiplerinin farklılaşmasında çeşitli iç ve dış uyarıların, hücre-hücre ve hücre-çevre etkileşimlerinin rolü büyüktür. Çeşitli dokular içinde yer alan farklı hücre gruplarının işlevsel olabilmeleri için benzer şekilde doğru uyarıların doğru zamanda etkileri ile farklılaşabilmeleri gereklidir. Çeşitli dokuların farklılaşmasında mekanik güçlerin ve özellikle de mekanik basıncın etkileri bilinmemektedir. Öte yandan bilinen pekçok patolojik durumda ve özellikle bazı genetik hastalıklarda etkilenen organ ve dokuların mekanik basınç altında kaldıkları bilinmektedir (Örneğin gelişimsel kemik defektleri). Günümüzde in vitro koşullarda organ özelliklerini taklit ederek modellemek üzere çeşitli biyo-uyumlu polimerik matrislerden yararlanılmaktadır. Organ modellemesinde sıklıkla kullanılan yöntemlerden biri de agaroz polimer maddesidir.

Bu çalışmada amaçlanan agaroz polimer maddesi kullanarak kemik iliği ortamını taklit eden bir in vitro model oluşturmak ve bu model üzerinde mekanik basıncın etkilerini incelemektir.

Agaroz polimerik matris içinde çoğaltılan insan ve sıçan yağ öncülü (preadiposit) hücrelerinin yağ dokusu farklılaşma programı belirleyicileri mRNA seviyesinde takip edilmiştir. Bu modelleme için agaroz polimer içinde adipojenik farklılaşma programı başlatılan polimer yapıları çeşitli ağırlıklarla mekanik etkiye maruz bırakılmıştır. Agaroz polimerik yapı içinde yer alan adiposit öncülü hücreler zamana karşı yapılan örneklemelerle yağ hücresine özgü histokimya inceleme teknikleri ile (Sudan IV) incelenmiş ve mekanik etki uygulanmayan kontrol örnekleri ile karşılaştırılmıştır.

Adipojenik farklılaşma programı, bu modelde, 4 farklı seviyede mRNA kantitatif ekspresyonu ile gözlenmiştir: i. Adipojenik transkripsiyon faktörü (PPARgamma), ii. Adipojenik biyokimyasal enzimler (GP3D ve SCD), iii. Yağ hücresine özgü yapısal proteinler (adipophilin) ve iv. Beyaz yağ dokusuna özgü adipokinler ve endokrin peptidler (Adiponektin ve Leptin). Bu çalışma yağ dokusuna özgü farklılaşma programı üzerinde mekanik basıncın etkilerinin aydınlatılmasını sağlamıştır.

BİPOLAR DUYGUDURUM BOZUKLUĞUNDA MONOAMİNO OKSİDAZ GENİ POLİMORFİZMLERİ

K. TABAKÇIOĞLU 1, F. S. PALA 1, Ç. ALGÜNEŞ 1, H. GÜRKAN 1, G. BOZKURT 2

1 Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, EDİRNE

2 Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, AYDIN

Ozet: AMAÇ: Bipolar Duygudurum Bozukluğu (BDB) Tip I, manik atak şeklinde ortaya çıkan psikolojik bir hastalıktır. BDB etyolojisinde rol oynayabileceği düşünülen aday gen bölgelerinden birisi de Monoamino oksidaz (MAO) genidir. MAO; merkezi ve periferik sinir sisteminde katekolaminler ve serotonin gibi nörotransmitterlerin deaminasyon yoluyla bozunumunda rol oynayan anahtar enzimlerden birisidir.

Bu çalışmada, MAO enzim ekspresyonunu etkilediği konusunda birbiriyle çelişen bilimsel sonuçlara rastlanan iki gen bölgesinin araştırılması amaçlanmıştır. Bunlardan ilki 8. eksonda yer alan 941T/G tek nükleotid polimorfizmi, ikincisi ise 2.intronda yer alan, uzunluğu değişince gen ekspresyonunu etkileyerek farklı fenotiplerin ortaya çıkmasına neden olduğu rapor edilen CA dinükleotid tekrar bölgesidir.

Yöntem: Allellerin belirlenmesinde yöntem olarak PCR ile amplifikasyonu takiben DGGE ve DNA Dizileme kullanılmıştır.

Bulgular: BDB tip I hasta grubu 23 kadın ve 18 erkek bireyden oluşurken kontrol grubu 38 kadın ve 27 erkek bireyden oluşmaktadır. Gruplar yaş, cinsiyet ve medeni durum bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı gibi ($p>0.05$), MAO geninin 8. ekson 941 T/G polimorfizmi için, hasta ve kontrol grupları genotip dağılımları yönünden karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.758$). Ayrıca MAO 2. intron mikrosatellit bölgesi ile BDB arasındaki ilişki yönünden hasta ve kontrol gruplarının arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. ($p=0.585$). **SONUÇ:** Trakya Bölgesi orijinli Türk Populasyonu'nda, BDB Tip I ile etyolojisinden sorumlu tutulan aday gen bölgelerinden MAOA 8. ekson 941 T/G ve 2. intron mikrosatellit bölgesi arasındaki ilişkiyi araştıran bu çalışma sonuçlarına göre olgu ve kontrol grupları arasında genotip ve allel frekansları yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

BİPOLAR BOZUKLUK GELİŞİMİNDEN DOPAMİN D2 RESEPTÖRÜ (DRD2) TAQIA A2A2 GENOTİPİ Mİ SORUMLU?

**İ. H. ÖNEN², M. Y. KARAOĞUZ¹, D. KAN¹, D. AKAY², S. MENEVŞE², G. ÖZSOYLAR³,
B. COŞAR³**

¹ Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD,

² Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

³ Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Psikiyatri AD, ANKARA

Amaç: Erişkin nüfusun % 0.7-1.6'sını tehdit eden bipolar bozukluk oligogenik bir hastalıktır. Hastalıkla ilişkili olabileceği düşünülen gen bölgeleri ile ilgili pekçok lokus çalışılmışsa da, ortak bir nokta edilememiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise, nörotransmitter sistemlerinde yer alan genlerdeki polimorfizmlerin, bipolar bozukluk için risk faktörü olabileceği düşünülmektedir. Bu genlerden biri de son derece polimorfik olan Dopamin Reseptör 2 (DRD2) genidir. Bu çalışmada Türk toplumunda, DRD2 geninde yer alan TaqIA polimorfizmi ile bipolar bozukluk gelişimi arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Hasta grubunu 17-70 yaş arasında bipolar bozukluk tanısı almış her iki cinsiyetten (32 kadın, 29 erkek) 61 olgu, sağlıklı kontrol grubunu ise 20-51 yaş arasında her iki cinsiyetten (23 kadın, 86 erkek) 109 kişi oluşturdu. Genomik DNA izolasyonunu takiben DRD2 gen bölgesi PCR ile çoğaltılarak TaqI restriksiyon enzim kesimini takiben genotipler belirlendi. Bu çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Komitesinden onay alındı.

Sonuçlar: Hasta grubunda 12 bireyde A2A2 genotipi (%19.7), 48 bireyde A1A2 genotipi (%78.7), 1 bireyde A1A1 genotipi (%1.6) belirlenirken, sağlıklı kontrol grubunda 4 bireyde A2A2 genotipi (%3.7), 105 bireyde A1A2 genotipi (%96.3) saptanmıştır. Genotip ve alel dağılımının hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir ($P<0.05$).

Tartışma: Genetik heterojen bir hastalık olan bipolar bozuklukta, pekçok aday genin sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, aday genlerden biri olan DRD2 geninin TaqIA polimorfizminin sıklığı araştırılmıştır. Bipolar hasta bireyler ile sağlıklı bireyler arasında TaqIA A2 alel sıklıkları açısından anlamlı fark bulunmuştur. Türk toplumunda ilk defa yapılan bu çalışma, olgu-kontrol sayısının artışıyla bipolar bozukluk etiyolojisinde, DRD2 A2 alelinin öneminin belirlenmesine katkı sağlayacaktır.

TÜRK ŞİZOFRENİ HASTALARINDA SEROTONİN-2A RESEPTÖR GENİNİN T102C POLİMORFİZMİ İLE KLİNİK ÖZELLİKLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

M. CENGİZ 1, A. Ç. ÖZKILIÇ 1, Ç. POYRAZ 2, A. ÖZÇETİN 3

1 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

2 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Psikiyatri AD, İSTANBUL

3 Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Tıp Fakültesi Psikiyatri AD, BOLU

mcengiz@istanbul.edu.tr

Ozet: Şizofreni dünya popülasyonunun yaklaşık %1'ini etkileyen psikiyatrik bir hastalıktır. Serotonin metabolizması ile depresyon, panik bozukluk, intihara eğilim arasında ilişki olduğu belirlenmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda şizofreninin patogeneğinde serotonin metabolizmasının önemi vurgulanmıştır. İlaç tedavisi almayan şizofrenik hastaların post-mortem beyinlerinde yapılmış olan çalışmalarda, serotonin-2A reseptör (HTR2A) yoğunluğunun belirgin şekilde düşmüş olduğu bulunmuştur. İnsan serotonin-2A reseptör (HTR2A) geni 13q14-q21 bölgesinde lokalizedir. Çalışmamızda Türk şizofrenili hastalarda serotonin-2A reseptörünün T102C polimorfizmi ve hastalığın başlangıç yaşı, aile hikayesi, antipsikotik ilaçlara cevabı ve klinik fenotipleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık. Aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 76 hasta (33 kadın %43 ve 43 erkek %57) ve yine aralarında herhangi bir ilişki olmayan 88 sağlıklı birey (44 kadın %50 ve 44 erkek %50) T102C polimorfizminin genotip ve alel frekansları açısından PZR ve restriksiyon analiz (PZR-RFLP) yöntemleri ile incelenmiştir. TT genotipli şizofrenili hasta sayısı 18 (%24), TC genotipli şizofrenili hasta sayısı 44 (%58), CC genotipli şizofrenili hasta sayısı 14 (%18) olarak bulundu. TT genotipli kontrol sayısı 22 (%25), TC genotipli kontrol sayısı 52 (%59) ve CC genotipli kontrol sayısı da 14 (%16) olarak bulundu. Şizofrenili hastalar ve sağlıklı kontrol grubu ile, hastaların farklı teşhis ve klinik fenotipleri arasında T102C polimorfizmi açısından herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Şizofrenide nörobilişsel fonksiyon kayıpları ve genetik polimorfizmler arasında olası ilişkinin bulunabilmesi için daha büyük ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

TÜRK POPULASYONUNDA İNTERLÖKİN-12 GEN PROMOTÖR POLİMORFİZMİ ŞİZOFRENİ İLE İLİŞKİLİMİDİR?

Ü. ÖZBEY 1, E. TUĞ 2, M. KARA 1, H. YÜCE 1

1 Fırat Üniversitesi, Fırat Tıp Merkezi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, ELAZIG

2 Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, BOLU

Amaç: İnterlökin-12 (IL-12), yardımcı T hücre 1 (Th1) cevabı ve sonrasında gelişen hücresel immünitenin oluşumunda önemli bir rol oynar. Psikiyatrik hastalıkların patogenezinde sitokinlere verilen rol göz önünde bulundurulduğunda, bu hastalıklarda IL-12'nin düzenlenmesi ve etkinliğinde bir dengesizlik beklentisi oluşmaktadır. Bu beklenti yönünde, biz de Türk populasyonunda şizofrenili hastalarda IL-12 gen promotör bölgesinin polimorfik varyantlarını incelemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Amerikan Psikiyatri Birliği Tanı Sınıflaması (DSM-IV)'na göre şizofreni tanısı konmuş 100 Türk hasta ve 100 sağlıklı kontrol çalışmaya alındı. Periferik kandan izole edilen DNA kullanılarak PCR ve RFLP metoduyla genotipik özellikler tespit edildi.

Sonuçlar: Şizofreni hastaları ile kontrol grubu arasında hem genotip hem de allel sıklığında anlamlı fark vardı ($p < 0.01$). Bu bulgular, özellikle Th-1 hücreleri gibi inflamatuvar cevap sistemlerinin aktivasyonunun şizofrenili hastaların patogenezinde önemli bir role sahip olabileceği hipotezini destekler mahiyettedir.

Tartışma: Bu çalışma, immün yanıtta önemli rol oynayan IL-12 ile ilişkili olarak nöropsikiyatrik alanda yapılmış ilk çalışma olma özelliğine sahiptir. Çalışmamız, IL-12 gen promotör polimorfizminin şizofreni gelişimiyle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Şizofreni patogenezinde sitokinlerin olası rolü ile birlikte (depresyon için de olası olabilir) bu bakış açısı, hastalığa yönelik farklı tedavi stratejileri ve bu konudaki gelecek çalışmalar için makul bir yönlendirici olabilir.

Keywords: Interleukin-12, schizophrenia, evolutionary psychiatry, major depression, cytokines.

MULTİPL SKLEROZLU HASTALARDA APO E GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

J. ALTINIŞIK 1, T. ULUTİN 1, N. BUYRU 1, A. SİVA 2 , A. KUTLU 2 ,

1 İstanbul Ünivesitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

2 İstanbul Ünivesitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji BD, İSTANBUL

Multipl Skleroz aday genlerinden biri; 19q13 bölgesinde lokalize olan APO E genidir. Gen lokusu polimorfiktir; e2, e3 ve e4 allelleri kodominant olarak kalıtılır ve proteinin izoformlarını kodlar. Tek aminoasit değişimleri, bu izoformları nitelendirir ve plazmada yaygın olarak görülen 6 fenotipin ekspresyonunu belirler. e2 alleli; 2/2, 2/3 ve 2/4, e3 alleli; 2/3, 3/3 ve 3/4, e4 alleli 2/4, 3/4 ve 4/4 izoformlarında görülür. APO E geni, beyinde önemli bir lipid taşıyıcı protein olan apo E'yi kodlar. APO E geninde kodlama yapan bölgenin polimorfizmlerinin ve promotör bölge varyantlarının, gen ekspresyon seviyelerini değiştirmesi temeli ile APO E geninin bir MS aday geni olduğu ileri sürülebilir. e4 alleli, ailesel ve sporadik Alzheimer hastalığında artmış riskle ilişkilidir. Hemorajik stroke geçirmiş ve APO E e4 allelini taşıyan hastalar, zayıf prognoz gösterirler. Kafa travması geçirmiş hastalarda, travma sonrası, e4 allelini taşıyan hastalar, bu alleli taşımayan hastalara oranla daha az iyileşme gösterirler. Çalışmaya 91 multipl sklerozlu hasta ve 25 sağlıklı birey dahil edilmiştir, hastalardan alınan kan örneklerinden genomik DNA izolasyonunu takiben PCR-RFLP yöntemi uygulanmıştır. Hastaların 27'sinde E3E3, 23'ünde E2E2, 19'unda E2E3, 15'inde E3E4, 4'ünde E2E4 ve 3'ünde E4E4 genotipi bulunurken, 25 sağlıklı bireyin 14'ünde E2E4, 4'ünde E3E4 ve 7'sinde E4E4 genotipi mevcut olup, diğer tiplere rastlanmamıştır. Hasta grubunda E4 allelinin sıklığı %13.7 iken, sağlıklı bireylerde bu oran %64 bulunmuştur.

ISPARTA YÖRESİNDE PARKINSON HASTALIĞI TANISI KONMUŞ BİREYLERDE MCP-1 GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

B. YAŞAR, N. ŞAHİN CALAPOĞLU, M. SOYÖZ

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, ISPARTA

Amaç: Parkinson hastalığı (PD) 45-50 yaş üstü bireyleri etkileyen en yaygın nörodejeneratif hastalıklardan biridir. Yapılan birçok çalışma Parkinson patogeneğinde inflamasyonun varlığını göstermiştir. MCP-1 lökosit, monosit ve T-lenfositlerin kandan ilgili dokuya yönelmesi ve monosit aktivasyonunda görevli olan bir kemokindir. Bu sebeple, MCP-1 gibi inflamatuvar proteinleri kodlayan genlerdeki fonksiyonel polimorfizmler Parkinson hastalığının oluşmasında etkili olabilmektedir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda, Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Polikliniğine başvuran 45-70 yaş arası, Parkinson hastalığı tanısı konmuş 16 ve 60 sağlıklı kontrol bireyde PCR-RFLP yöntemi ile polimorfizm çalışması yapıldı.

Sonuç: MCP-1 (-2518G/A) polimorfizmi hastaların %31.25'inde kontrollerin ise %45'inde görüldü. 16 Parkinson hastasının 3'ü (%18.75) G alleli için heterozigot, 2'si (%12.5) homozigot olarak belirlendi. Bu polimorfizm Pearson's χ^2 testi ile analiz edildi. Kontrol grubu ve hastalar karşılaştırıldığında, genotiplerin dağılımında belirgin bir fark gözlenmedi ($p < 0.05$). Hasta ve kontrol gruplarındaki genotip frekansları bu polimorfizmin Parkinson hastalığının oluşumu ile ilişkili olmadığını gösterdi.

Tartışma: Çalışmamızda Parkinson hastalığı oluşma riski ile MCP-1 polimorfizmi (-2518G/A) arasında bir ilişki bulunamamıştır. Çalıştığımız bu polimorfizm, birçok immün aracılı hastalığın ortaya çıkmasında rol oynamaktadır. Buna rağmen; MCP-1 polimorfizmi ile PD arasında ilişkinin olmaması, MCP-1'in diğer varyantlarının bu nörodejeneratif hastalığın gelişiminde etkili olmayacağı anlamına gelmemektedir.

SENDROMİK OLMAYAN İŞİTME KAYBI OLAN BİREYLERDE GJB2 GEN MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

A. YILMAZ 1, A. MENEVŞE 1, S. MENEVŞE 1, E. BAYSAL 2, N. GÖKSU 2, Y. A. BAYAZIT 2, Ş. ALTINYAY 3, B. GÜNDÜZ 3

1 Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,
2 Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları AD,
3 Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Odyoloji BD, ANKARA

Amaç: Konjenital işitme kaybı yaklaşık olarak 1000 canlı doğumun 1'inde meydana gelmektedir ve vakaların %50'si kalıtsaldır. İlk kez tanımlanan aralıklı bağlantı proteini olan konneksin-26' yı şifreleyen GJB2 geni hücreler arası iletişimde önemlidir. Bu gendeki mutasyonlar sporadik ve sendromik olmayan otozomal resesif işitme kaybının en yaygın nedenidir. Bu mutasyonlardan bir kısmı bazı toplumlarda oldukça yüksek sıklıkta saptanmıştır. Bu çalışmada; Sendromik olmayan işitme kaybı olgularında GJB2 geninde bulunan mutasyonların belirlenmesini amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada, çok ileri düzeyde işitme kaybı olan 154 hasta ile 67 sağlıklı kontrol dail edildi. Tam kandan genomik DNA eldesininden sonra, GJB2 genindeki iki mutasyon (35delG ve del120E) PCR-RFLP yöntemi kullanılarak tarandı. Sonra heterozigot mutasyon taşıyıcıları GJB2 geninin tüm kodlayan bölgesi için DNA dizi analizi yapılarak araştırıldı.

Sonuçlar: 35delG mutasyonu için, 11 (%7.1) homozigot ve 6 (%3.9) heterozigot hasta bulundu. 35delG mutasyonunu heterozigot durumda taşıyan 6 hastada GJB2 geninin kodlayan bölgesinin tamamının dizi analizinin yapılması sonucunda sadece 3 hastanın ikinci bir GJB2 mutasyonu taşıdığını ortaya çıkardı. DNA dizi analizi sonucunda, bir hastada yeni bir mutasyon olan L205V mutasyonu ile iki hastada ise R184P mutasyonu 35delG mutasyonu ile birlikte bileşik heterozigot olarak bulundu. Diğer taraftan delE120 mutasyonu 2 (%1.3) hastada homozigot olarak bulundu. Kontrol grubunda ise sadece 35delG mutasyonu 2 (%1.4) bireyde heterozigot formda belirlendi.

Tartışma; Sonuçlarımız daha önce Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarla da belirtildiği gibi, 35delG ve delE120 mutasyonlarının sendromik olmayan işitme kaybının en sık nedenlerinden olduğunu göstermektedir. Ek olarak 35delG mutasyonu ile olan bileşik heterozigotluğu da Türk hastalarında rastlanılmaktadır.

APOLİPOPROTEİN E GEN POLİMORFİZMLERİNİN PRİMER AÇIK-AÇILI GLOKOM İLE İLİŞKİSİ

E. SAĞLAR 1, B. BOZKURT 2, R. K. ÖZGÜL 3, M.İRKEÇ 2, A. ÖĞÜŞ 1

1 Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji AD,

2 Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD,

3 Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü Pediatri AD, ANKARA

esaglar@hacettepe.edu.tr

Amaç: Primer açık-açılı glokom (POAG) glokomun en sık rastlanan formudur. Glokom vakalarının çoğu multifaktöriyeldir ve birden fazla gen lokusunun etkileşimi ile ortaya çıkar. Alzheimer hastalığında nörodejenerasyona sebep olduğu düşünülen ve en önemli risk faktörü olduğu varsayılan Apolipoprotein E (APOE) allellerinin (e2, e3, e4) glokomla ilişkisi tartışmalı bir konudur. Bu çalışmanın amacı APOE allel frekanslarının bir grup Türk POAG hastalarında saptanması ve klinik verilere göre değerlendirilmesidir.

Yöntemler: PCR-RFLP yöntemi ile 60 yaş üzerinde 87 POAG hastası ve aynı yaş grubunda 119 sağlıklı bireyde APOE genotipleme yapılmıştır. Veriler "SPSS version 11.5" paket programı ile değerlendirilmiştir. Verilerin karşılaştırılmasında $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular: APOE geninin 112. ve 158. pozisyonundaki amino asit dizilerindeki farklılığa göre 5 farklı genotip elde edilmiştir. Allel frekansları ($p=0.189$), cinsiyetleri ($p=0.210$, $p=0.209$), hastaların ilk ve son C/D oranları ($p=0.608$, $p=0.320$), maksimum göz içi basıncı ($p=0.149$), hastalığın değişik aşamalarındaki şiddeti ($p=0.700$), cerrahi durumu ($p=0.391$) ve hastalığın ilerleyişi ($p=0.335$) göz önüne alınarak hasta ve kontrol grubu için p değerleri hesaplanmıştır. Allel frekanslarına göre hasta ve kontrol grubunda toplam olarak e2 alleli %5.8, e3 alleli %85.2 ve e4 alleli %9 olarak saptanmıştır.

Sonuç: Çalışmaya dahil edilen Türk POAG hastalarında APOE genotipleri ile POAG arasında doğrudan bir ilişki bulunamamıştır. Veriler aynı hasta grubunda diğer risk faktörü olan genlerle etkileşimi açısından değerlendirilecektir.

YAŞA BAĞLI MAKULA DEJENERANSINDA G1961E ve D2177N VARYANTLARININ İNCELENMESİ

D. YÜCEL 1, H. DURUKAN 2, A. ÖĞÜŞ 1

1 Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji AD,
2 Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Göz Hastalıkları AD, ANKARA

dyucel@hacettepe.edu.tr

Amaç: Yaşa bağlı makula dejeneransı (AMD) yaşlı popülasyonda görülen, geri dönüşümsüz merkezi görme kaybının en yaygın nedenidir. AMD hem çevresel hem de genetik faktörler ile ilişkili kompleks bir hastalıktır. Protein ürününün retinoid transportunda rol aldığı gösterilen ABCA4 (ABCR) genindeki çeşitli polimorfizmlerin AMD gelişimi için yatkınlık oluşturduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmada AMD ile ilişkili görülen G1961E ve D2177N varyantlarını içeren, ABCA4 geninin 42. ve 48. ekzonları incelenmiştir.

Yöntem: Bu çalışmada, AMD tanısı konulan 93 Türk hasta ve 77 kontrol bireyde ABCA4 geninin 42. ve 48. ekzonları, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılmış ve SSCP (Tek Zincir Konformasyon Polimorfizmi) yöntemi ile incelenmiştir. 42.ekzonda farklı bant profili gösteren hastalarda DNA dizi analizi yapılmıştır.

Bulgular: Çalışılan hasta ve kontrol grubunda, SSCP yöntemi ile 42.ekzonda toplam sekiz farklı bant profili saptanmıştır. 48. ekzonda hasta ve kontroller arasında bu bölge için farklı SSCP profili görülmemiştir. SSCP'de elde edilen farklı profillerin hastalık için informatif olmadığı DNA dizi analizi sonucunda anlaşılmıştır. 42.ekzonun dizi analizinde IVS41-11G/A, 5844G/A (P1948P) polimorfizmleri ve IVS41-16insT insersiyonu saptanmıştır.

Sonuç: Literatürde, AMD riskinin D2177N taşıyıcılarında 3 kat, G1961E taşıyıcılarında yaklaşık 5 kat arttığı tahmin edilmesine rağmen, büyük bir gen olan ABCA4 geninin ekzonlarının AMD'de risk faktörü olarak çalışılması pratik görülmemektedir. Çok sayıda hastanın çalışılması için uygun olan SSCP profilleri de yanıltıcı olabilmektedir ve mutlaka DNA dizi analizi yapılmalıdır.

GLUTATYON S-TRANSFERAZ (GSTT1, GSTM1) ve DNA TAMİR (XPD, XRCC1) GEN POLİMORFİZMLERİ ve KATARAKT GELİŞİM RİSKİ

B. BATAR 1, M. GÜVEN 1, A. ÖZAYDIN 1, M. ÜNAL 2, K. DEVRANOĞLU3, A. SARICI 3, N. TAMÇELİK 3

1 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

2 Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları AD, ANTALYA

3 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları AD, İSTANBUL

bahadirbatar@gmail.com

Endojen ve ekzojen etmenlere bağlı olarak hücrelerde oluşan reaktif oksijen metabolitleri (ROM) oksidatif strese yol açabilir. Oksidatif stres ve mekanizmalarının özellikle lens hasarına yol açarak katarakt oluşumunda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Amaç: Çalışmamızda oksidatif stresin toksik etkilerine karşı koruyucu rol oynayan antioksidan enzimlerden Glutasyon S-Transferaz T1 (GSTT1) ve M1 (GSTM1) ve endojen hasarlar kadar ekzojen hasaralara karşı da genomun bütünlüğünün sürdürülmesinde görev alan DNA tamir genlerindeki [XPD (Xeroderma pigmentosum complementation group D), XRCC1 (X-ray cross-complementing group 1)] polimorfizmlerin katarakt gelişimindeki rollerini araştırdık. Yöntem: GSTT1 ve GSTM1 gen polimorfizmlerini PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), XPD kodon 751 ve XRCC1 kodon 399 polimorfizmlerini ise PCR-RFLP (Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi) yöntemi ile saptadık. Bulgular: Çalışmamızda iki kontrol grubu kullandık. Benzer yaş gruplarında, 136 sağlıklı kontrol (Kontrol grup I) ve 195 katarakt hastasını (75 kortikal, 53 nükleer, 37 arka subkapsüler ve 30 karışık tip) içeren çalışmada, GSTT1 ve GSTM1 gen polimorfizmleri açısından katarakt hastaları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, GSTM1 null genotipi kadın hastalarda katarakt gelişimi için risk faktörü olarak bulunmuştur ($p<0,0029$, OR:2,98, %95CI: 1,41-6,34). 195 katarakt hastasını ve 194 sağlıklı kontrolü (Kontrol grup II) içeren diğer çalışmada ise XRCC1-Arg399Gln ve XPD-Lys751Gln gen polimorfizmleri açısından katarakt hastaları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, XPD kodon 751 polimorfizmi açısından iki grup arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,008$, OR: 0,40, %95CI: 0,20-0,81). Sonuç: GSTM1 null genotipi katarakt gelişimi için risk faktörüdür. XPD-751Gln alleli katarakt gelişimine karşı koruyucu rol oynamaktadır.

MYELOPEROKSIDAZ (MPO) 129G/A POLİMORFİZMİ VE ATEROSİKLEROZ

**M. TAŞPINAR 1, I. V. DÜZEN 2, P. ÖZKAL 1, P. AKPINAR 1, D. ÖZTUNA 3, E. TUTAR 2,
A. SUNGUROĞLU 1**

1 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kardiyoloji AD,

3 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik AD, ANKARA

Amaç: Aterosikleroz, uzun süreli kronik inflamator bir süreçtir ve arter duvarı içerisinde inflamatuvar hücrelerin aktivasyonu ile oksidatif hasar meydana gelmektedir. Oksidatif bir enzim olan Myeloperoksidaz (MPO), oksidatif türlerin bir çoğunu oluşturabilir ve LDL oksidasyonunu tetikleyebilir. Okside LDL, endotel fonksiyonuna ve koroner işlevine zarar verir. Böylece, Aterosiklerotik lezyonlarda eksprese olan MPO, oksidatif ara metabolitleriyle aterosiklerotik lezyonları oluşturabilir. Bu çalışma, aterosikleroz ve MPO 129G/A polimorfizmi arasındaki ilişkiyi açıklamak amacıyla düzenlenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya 45 aterosiklerotik hasta ve 33 sağlıklı kontrol birey katılmıştır. Polimorfizmin genotiplendirilmesinde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) metodları kullanılmıştır.

Sonuçlar: Kontrol grubunda, MPO 129 G/A polimorfizminin GG, GA ve AA genotiplerinin frekansı sırasıyla %61,8, %38,2 ve %0 şeklinde saptanmıştır. Hasta grubunda ise genotip frekansları %77,6 GG, %20,4 GA ve %2,0 AA olarak saptanmıştır. Her iki grup arasında MPO129G/A genotiplerinin dağılımı açısından önemli bir fark yoktur ($p>0.05$). Alel dağılımı açısından değerlendirildiğinde, kontrol grubunda %80,9 G ve %19,1 A aleli saptanırken, hasta grubunda %87,8 G ve %12,2 A aleli saptanmıştır. Her iki grup arasında alel dağılımı açısından da önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Tartışma: Bu bulgularla, MPO 129G/A polimorfizminin aterosiklerozla birliktelik göstermediği sonucuna ulaşılmıştır. Bununla birlikte, bu çalışmada değerlendirilen kişi sayısı düşüktür ve incelenecek kişi sayısı artırılarak bu sonuçlar doğrulanmalıdır.

TNF BETA GENİNDE BULUNAN NCOI POLİMORFİZMİ İLE DİABETES MELLİTUS ARASINDAKİ İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ

A.S.YAR 1, S. MENEVŞE 1, E. ALP 1, H. MOHEBBATİKALJAHİ 1, İ. YETKİN 2, H. DEMİRCİ 2

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

2 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, ANKARA

Amaç: İnsülin bağımlı diabetes mellitus, insülin salgılayan pankreatik beta hücrelerinin seçici otoimmün yıkımı sonucunda meydana gelir. Diyabet, Tip 1 ve Tip 2 olarak ikiye ayrılır. Sitokinlerin insülin bağımlı diabetes mellitusta önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Tümör nekroz faktörü (TNF), diyabette önemli rol oynayan ve en çok çalışılan sitokin ailesinin bir üyesidir. TNF- α ve TNF- β gen bölgelerindeki çeşitli polimorfizmlerin, Tip 1 Diyabet gibi otoimmün hastalıklarla ilişkisi tanımlanmış ve karakterize edilmiştir. TNF- β 252 A/G polimorfizmi, TNF- β geninin birinci intronunda yer alır ve insülin direncinde farklılıklara yol açar. Bu çalışmanın amacı Türk popülasyonunda TNF- β geninin promotöründe yer alan 252 A/G polimorfizminin sıklığını belirlemek ve bu polimorfizmin diyabet ile ilişkisini belirlemektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamına Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesinde 66 diyabetli hasta ile 81 sağlıklı birey dahil edildi. EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden genomik DNA izole edildi ve örnekler PCR yöntemi ile genotiplendirildi. PCR ürünü NcoI restriksiyon enzimi ile kesilerek TNF- β NcoI polimorfizmi belirlendi.

Sonuçlar: TNF- β 252 A/G polimorfizminde diyabetik hastalarda GG, GA ve AA genotiplerinin görülme sıklıkları sırasıyla % 16.6, %40.9 ve %42.4 iken kontrol grubundaki görülme sıklıkları sırasıyla %8.6, % 35.8 ve %55.5'dir. TNF- β NcoI polimorfizminde G/G, G/A ve A/A genotiplerinin görülme sıklığında, diyabetli hastalar ile sağlıklı kontroller arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p=0.18$).

Tartışma: Yaptığımız çalışmada Diabetes Mellitus ile TNF- β NcoI polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki görülmemiştir. Bu polimorfizmler ve Diabetes Mellitus arasında anlamlı bir ilişki kurabilmek için grup genişletilerek çalışma devam edecektir.

OSTEOARTRİTLİ HASTA PLAZMASINDA OKSİDASYONA BAĞLI PROTEİN MODİFİKASYONLARI

Ş. TETİK 1, Y. ŞAHİN 1, M. DİŞBUDAK, B. ERSOY 1, A. ALTURFAN 3, A. KILIÇ 1, H. AKSOY 1, N. EMEKLİ, T. YARDIMCI 1

1 M.Ü. Ecz. Fak. Biyokimya AD,

2 M.Ü Diş Hek. Fak. B. AD,

3: İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi SHMYO, İSTANBUL

Giriş ve Amaç: Osteoartrit, genel popülasyonda aktivitede fonksiyon kaybı ve ağrı ile karakterize edilmiş bir hastalıktır. Bu çalışmada osteoartritli hastaların plazmalarında protein modifikasyonlarının takibinin yapılması amaçlanmıştır.

Metod: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı'na başvuran osteoartrit tanısı konmuş 7 hasta ve 12 sağlıklı olgu çalışma kapsamına alındı. Antikoagülan tüplere alınan kanların plazmaları elde edildikten sonra kullanılmak üzere -80 °C'de saklandı. Örneklerde Lowry metodu kullanılarak protein tayinleri yapıldı ve ardından örnekler SDS-PAGE'ye uygulandı. Tüm örneklerin karbonil grup tayinleri spektrofotometrik yöntem ile 360 nm'de tayin edildi. Ekstinksiyon katsayısı ($22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak sonuçlar nmol karbonil/mg protein olarak hesaplandı. Örneklerin HPLC analizleri (Agilent 1100, protein pak 125) yapılarak, oksidatif modifikasyonun boyutları incelendi.

Bulgular: Osteoartritli hasta plazmalarının protein konsantrasyonlarında kontrole göre azalış saptandı ($p < 0,5$). Plasma protein karbonil içeriği, osteoartritli hasta grubunda kontrole göre yükselmiş ($p < 0,001$) olarak bulundu. Karbonil gruplarındaki yükselme HPLC analizlerindeki alan değerlendirilmelerindeki değişiklik ile uyum gösterdi. Örneklerin SDS-PAGE analizlerinde molekül ağırlıkları saptandı ve hasta örneklerinde kontrol grubuna göre molekül ağırlıklarında değişme olmadığı belirlendi. HPLC kromatogramları incelendiğinde kontrol ile hasta gruplarının "retention time"larında kontrole göre azalma yönünde sapmalar görülmezken, pik alanlarında değişiklikler belirlendi. Ancak özellikle 20.000-40.000 aralığındaki molekül ağırlığına sahip protein grubunun pik alanında önemli derecede artış saptandı ($p < 0,001$).

Yorum: Osteoartrit hastalarında oksidatif stresin kaynağı olarak, protein karbonil içeriğinin belirlenmesi hastalığın şiddetini görmek için bir marker olabilir. Bu hastalarda antioksidan sistemde azalma ile oksidatif stres arasındaki ilişki doğru orantılı olarak bulunmuştur.

TÜRK POPÜLASYONUNDA TIMP-2 GENİNDEKİ -418 G/C POLİMORFİZMİNİN KORONER ARTER HASTALIĞIYLA İLİŞKİSİ

S. MENEVŞE 1, E. ALP 1, M. TULMAÇ 2, A. ÇENGEL 2, R. YALÇIN 2

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

2 Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kardiyoloji AD, ANKARA

ebrualmaz@hotmail.com

Amaç: Koroner arter hastalığı günümüzde kalp hastalıklarının en yaygın görülen tipidir. Yapılan birçok çalışmada koroner kalp hastalıkları ile aday genlerdeki polimorfizmler arasında ilişki bulunmuştur. Bu aday genler arasında matriks metalloproteinazlar (MMP) ve inhibitörleri (TIMPs) önemli yer tutmaktadır. TIMP ailesi üyeleri kovalent olmayan bağlarla MMP lerin katalitik bölgelerinde bulunan çinko bağlama bölgesine bağlanarak bu proteinlerin baskılanmasını sağlarlar. TIMP-2 194 aminoasitten oluşan ve 21 kDa ağırlığında olan glikozillenmemiş bir proteindir. TIMP-2 geninin promotör bölgesinde tanımlanan polimorfizmler genin ifadenmesini etkilemektedir. Bizim çalışmamızın amacı TIMP-2 geninin promotör bölgesinde yer alan -418 G/C polimorfizminin Türk toplumunda koroner arter hastalığıyla ilişkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamına Gazi Üniversitesi Kardiyoloji Anabilim Dalında anjiyografisi yapılan 91 koroner arter hastası ve 123 sağlıklı bireyin periferik kan örnekleri alındı. EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden genomik DNA izole edildi. Bu polimorfizmi belirlemek için PCR-RFLP yöntemi kullanıldı.

Sonuçlar: Yaptığımız çalışmada hasta grubunda C alleleline rastlanmamıştır. Kontrol Grubunda ise 3 bireyde GC genotipi belirlenmiştir.

Tartışma: Hasta ve kontrol arasında C alelinin nadir gözlenmektedir. Elde edilen sonuçlara göre bu polimorfizm ile koroner arter hastalığı arasında herhangi bir ilişki görülmemiştir. Bu güne kadar koroner arter hastalığı ve TIMP -418 G/C polimorfizmi ile ilgili yapılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle yaptığımız çalışma bu alanda yapılan ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır.

TÜRK POPÜLASYONUNDA TIMP-2 GENİNDEKİ -418 G/C POLİMORFİZMİNİN KORONER ARTER HASTALIĞIYLA İLİŞKİSİ

S. MENEVŞE 1, E. ALP 1, M. TULMAÇ 2, A. ÇENGEL 2, R. YALÇIN 2

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

2 Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kardiyoloji AD, ANKARA

Amaç: Koroner arter hastalığı günümüzde kalp hastalıklarının en yaygın görülen tipidir. Yapılan birçok çalışmada koroner kalp hastalıkları ile aday genlerdeki polimorfizmler arasında ilişki bulunmuştur. Bu aday genler arasında matriks metalloproteinazlar (MMP) ve inhibitörleri (TIMPs) önemli yer tutmaktadır. TIMP ailesi üyeleri kovalent olmayan bağlarla MMP lerin katalitik bölgelerinde bulunan çinko bağlanma bölgesine bağlanarak bu proteinlerin baskılanmasını sağlarlar. TIMP-2 194 aminoasitten oluşan ve 21 kDa ağırlığında olan glikozillenmemiş bir proteindir. TIMP-2 geninin promotör bölgesinde tanımlanan polimorfizmler genin ifadenmesini etkilemektedir. Bizim çalışmamızın amacı TIMP-2 geninin promotör bölgesinde yer alan -418 G/C polimorfizminin Türk toplumunda koroner arter hastalığıyla ilişkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamına Gazi Üniversitesi Kardiyoloji Anabilim Dalında anjiyografisi yapılan 91 koroner arter hastası ve 123 sağlıklı bireyin periferik kan örnekleri alındı. EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden genomik DNA izole edildi. Bu polimorfizmi belirlemek için PCR-RFLP yöntemi kullanıldı.

Sonuçlar: Yaptığımız çalışmada hasta grubunda C alleleline rastlanmamıştır. Kontrol Grubunda ise 3 bireyde GC genotipi belirlenmiştir.

Tartışma: Hasta ve kontrol arasında C alelinin nadir gözlenmektedir. Elde edilen sonuçlara göre bu polimorfizm ile koroner arter hastalığı arasında herhangi bir ilişki görülmemiştir. Bu güne kadar koroner arter hastalığı ve TIMP -418 G/C polimorfizmi ile ilgili yapılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle yaptığımız çalışma bu alanda yapılan ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır.

ERKEN YAŞ KORONER ARTER HASTALIĞI İLE ENDOTELİYAL NİTRİK OKSİD SENTAZ GENİ T786C VE G894T POLİMORFİZMLERİNİN İLİŞKİSİ

S. YİĞİT 1, N. KARA 1, H. BAĞCI 1, O. YEŞİLDAĞ 2, S. YÜKSEL2

1 Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

2 Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji BD, SAMSUN

Amaç: Endotelyumda sentezlenen nitrik oksid (NO) kromozom 7 üzerinde endotelial nitrik oksid sentaz (eNOS) ile L-arjinin'den sentezlenir. Bu polimorfizmlerin koroner arter spazmı, hipertansiyon ve akut miyokardial enfarktüs ve koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada eNOS genindeki T786C ve G894T varyantları ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişki incelenmiştir. **Metod:** Çalışmamızda 55 yaşın altındaki 102 koroner arter hastası ve 103 sağlıklı kontrol DNA'ları polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve restriksiyon fragment (RFLP) analiziyle incelenmiştir. Genotip ve allele frekanslarının karşılaştırması Ki kare analizi uygulanarak yapılmıştır.

Bulgular: Koroner arter hastaları ve kontrol grubunun T786C varyantı için genotip [$P=0.810$, $OR=0.77(0.25-2.37)$] ve allel [$P=0.172$, $OR=0.72(0.46-1.14)$] frekansları karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Aynı şekilde G894T varyantı için yapılan istatistik analizde genotip [$P=0.627$, $OR=0.69(0.22-2.06)$] ve allel [$P=0.610$, $OR=0.87(0.54-1.39)$] frekansları karşılaştırıldığında da anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Sonuç: Çalıştığımız populasyonda, nitrik oksid sentaz geni T786C ve G894T polimorfizmlerinin erken yaş koroner arter hastalığı ile ilişkisinin olmadığı gözlenmiştir.

KORONER ATEROSKLEROZ ETİYOLOJİSİ İLE KORONER BYPAS OLAN HASTALARDA METİLEN TETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

M. İZMİRLİ, D. ALPTEKİN, M. ŞAH TOPÇUOĞLU

Çukurova Üniversitesi ADANA

m_izmirli2000@yahoo.com

Giriş; Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enzimi; 5,10 Metilen Tetrahidrofolat'ın 5 Metil Tetrahidrofolat'a dönüşümünü katalize eden bir enzimdir. MTHFR homosisteinin metilasyonu ve nükleotid biyosentezi gibi pek çok biyokimyasal yolda bulunan folat metabolizmasında rol oynar. MTHFR, DNA sentezi ve metilasyon reaksiyonları arasındaki dengeyi sağlar. Ayrıca bu enzim, kardiyovasküler hastalıklar için bir risk etmeni olan plazma homosistein seviyesini de etkilemektedir. MTHFR geni, 1p36.3'de haritalanmış bir gendir. İnsan MTHFR geninin cDNA'sı kısmi olarak 1994'te izole edilmiş ve cDNA sekansının yaklaşık 2.2 kb büyüklüğünde olduğu ve 11 ekzon içerdiği saptanmıştır.

Amaç; Koroner ateroskleroz hastalığı ile MTHFR 677 C/T ve 1298 A/C polimorfizmleri arasında bir ilişki olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem; Çalışmamızda amacımıza yönelik olarak 60 koroner ateroskleroz hastası ile 60 kontrol grubu deneklerimizden 5 ml kan alındı. Alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılarak polimorfizm bölgeleri PCR yöntemi ile amplifiye edildi. Elde edilen PCR ürünleri RFLP yöntemine göre Hinf I ve Ita I restriksiyon enzimleri kullanılarak kesildi. Kesilen PCR ürünleri Poliakrilamid Jel Elektroforezi (PAGE)'nde yürütüldü. MTHFR geni 677 CC, CT, TT genotipleri ile 1298 AA, AC, CC genotipleri belirlendi.

Sonuçlar ve Tartışma; MTHFR 677 C/T ve 1298 A/C polimorfizmlerinin koroner ateroskleroz hastalığı (677 C/T için; $p=0.240$, 1298 A/C için; $p=0.278$), cinsiyet (677 C/T için; $p=0.961$, 1298 A/C için; $p=0.980$), tıkalı damar sayısı (677 C/T için; $p=0.181$, 1298 A/C için; $p=0.747$) ile ilişkili olmadığı bulundu. Ancak yapılan çalışmalarda MTHFR geni ile koroner arter hastalıklarının ilişkili olduğu bildirilmesine rağmen, bizim çalışmamızda farklı olmasının etnik kökenden ve beslenme alışkanlığının farklı olabileceğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Yine koroner ateroskleroz hastalığı ile sigaranın ilişkili olduğu bildirilmesine rağmen bizim çalışmamızda sigara ve alkol tüketiminin önemli olmadığı bulundu (sigara için; $p=0.713$, alkol için; $p=0.429$). Ancak bizim toplumumuzda insanların sigara ve alkol kullanımını sakladıkları ve doğru bilgi vermedikleri de bir gerçektir.

XRCC1 VE XPD DNA TAMİR GEN POLİMORFİZMLERİNİN KORONER ARTER HASTALIĞI RİSKİ VE MİKRONÜKLEUS SIKLIĞI İLE İLİŞKİLERİ

M. GÜVEN 1, G. S. GÜVEN 1, A. ÖZAYDIN 1, B. BATAR 1, T. ULUTİN 1,
E. ÖZ 2, N. DOMANIÇ 2

1 İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,
2 İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kardiyoloji AD, İSTANBUL

Koroner Arter Hastalığı (KAH) çeşitli yatkınlık genleri ile çevresel faktörlerin oluşumuna birlikte katkıda bulundukları multifaktöriyel bir süreçtir. Biz bu çalışmada, KAH'nın oluşum ve şiddeti üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

Ayrıca KAH hastalarının periferik lenfositlerine mikronükleus (MN) testi uygulamak suretiyle DNA hasarı oluşumunu ve bu hasar üzerine XPD Lys751Gln ve XRCC1 Arg399Gln polimorfizmlerinin etkilerini araştırdık. Çalışma anjiyografik muayenesi yapılmış 147 KAH hastası ve 48 sağlıklı kontrolü kapsamaktadır. XPD Lys751Gln ve XRCC1 Arg399Gln polimorfizmleri ile KAH varlığı veya şiddeti arasında bir ilişki gözlenmemiştir.

Diğer yandan, kontrollerle kıyaslandığında KAH hastalarında anlamlı derecede yüksek MN sıklığı gözlenmiştir (sırasıyla 5.0 ± 2.1 ; 5.7 ± 1.9 , $P=0.018$). KAH hastalarında XPD 751Gln alleli (Gln/Gln genotipi) yada XRCC1 399Gln (Arg/Gln veya Gln/Gln genotipleri) alleli sırasıyla XPD 751Lys (Lys/Lys genotipi) alleli yada XRCC1 399 Arg (Arg /Arg genotipi) alleli ile karşılaştırıldıklarında MN sıklıklarında artış tespit edildi. İlk bulgular değerlendirildiğinde XPD Lys751Gln ve XRCC1 Arg399Gln polimorfizmlerinin KAH gelişiminde önemli bir risk faktörü olmayabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca, bulgularımız MN sıklığının KAH'nın şiddetiyle değil varlığıyla ilişkili olduğunu ve XRCC1 Arg399Gln ile XPD Lys751Gln polimorfizmleriyle bağlantısı bulunduğunu göstermektedir. Bu durum ise XPD 751Gln yada XRCC1 399Gln allellerine sahip KAH hastalarında MN sıklığındaki artışı düşündürmektedir.

PRİMER DİSLİPİDEMİLİ OLGULARDA ABCA1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

M. KARADENİZ 1, **V. B. ÇETİNTAŞ 2**, M. ERDOĞAN 1, A. TETİK 2, A. ZENGİ 1,
A.Ş. KÜÇÜKASLAN 2, G. ÖZGEN1, Z. EROĞLU 2

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,
1 İç Hastalıkları AD Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD,
2 Tıbbi Biyoloji AD, İZMİR

Amaç: Atherosklerotik kardiyovasküler hastalıklar en sık ölüm nedeni olarak görülen hastalık grubudur. HDL-kolesterol, kolesterolün geri transportunda yer alır ve düşük düzeyleri atheroskleroz riskini arttıran ana etkindir. Kolesterol, HDL partiküllerine bağlanarak periferel hücrelerden karaciğere taşınır. ATP-bağlayan taşıyıcı kaset A1 (ATP binding cassette transporter A1 -ABCA1-) başta makrofajlar olmak üzere birçok periferel hücreden fosfolipid ve kolesterolün çıkışında rol alır. Çok düşük HDL-kolesterol, yüksek trigliserit düzeyi ve erken koroner atheroskleroz ile karakterize edilen Tanger hastalığında, ABCA1 gen polimorfizmlerinin plazma kolesterol ve lipid seviyelerinin düzenlenmesinde önemli rol üstlendiği gösterilmiştir. Amacımız primer hiperlipidemili olgularda ABCA1 G1051A ve ABCA1 G2706A gen polimorfizmlerinin plazma kolesterol - lipid seviyelerine olan etkisinin belirlenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji polikliniğine başvuran ve sekonder dislipidemi nedenleri dışlanan (Diyabet, hipotroidi, cushing, kronik böbrek yetmezliği, karaciğer yetmezliği, ilaç kullanımı vb.) olgulardan hasta grubu, hasta grubu ile aynı yaş ve cinsiyette olan sağlıklı bireylerden ise kontrol grubu oluşturulmuştur. Laboratuvar çalışmasında hasta ve kontrol gruplarının kan örneklerinden DNA izolasyonları yapılmış daha sonra ilgili gen bölgeleri PCR ile çoğaltılıp Styl (G1051A) ve Bsal (G2706A) enzimleri ile kesilmiş ve genotipleri belirlenmiştir.

Bulgular: Hasta ve kontrol grubu G1051A polimorfizmi açısından karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir farklılık olduğu ($p=0.04$), kontrol grubunda AA ve GA genotiplerinin daha sıklıkla görülmesi nedeniyle bu genotiplerin atherosklerotik hastalıklar için koruyucu bir faktör oluşturduğu belirlenmiştir.

Hasta ve kontrol grubu arasında G2706A polimorfizmi açısından ise anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0.249$).

Sonuç: Atheroskleroz riskinin belirlenmesi ve yüksek risk taşıyan kişilerde koruyucu önlemlerin alınması açısından ABCA1 G1051A gen polimorfizminin potansiyel bir belirteç olabileceği sonucuna varılmıştır.

AKUT KORONER SENDROM, KORONER ARTER HASTALIĞI VE eNOS T-786C, Glu298Asp POLİMORFİZMLERİ

S. MELİL 1, Y. ÇEBİ 1, **M. ERSÖZ 2**, P. ÇAĞATAY 3, M. KILIÇGEDİK 4, Ç. ÇİFTÇİ 5, B. SÜSLEYİCİ DUMAN 1

1 İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD
2 İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Laboratuvarı,
3 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyoistatistik BD
4 Çağlayan Florence Nightingale Hastanesi Kardiyoloji Bölümü,
5 İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji AD, İSTANBUL

mersoz1@yahoo.com

Amaç: Endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) geni T-786C ve Glu298Asp polimorfizmleri birçok kalp damar hastalığıyla ilişkilendirilmiştir. Amacımız, akut koroner sendrom (AKS) ve kronik koroner arter hastalarında (KKAH) T-786C ve Glu298Asp polimorfizmlerinin hastalık oluşumu, nitrik oksit aracılı vasküler cevaplar ve biyokimyasal parametrelerdeki etkilerini araştırmaktır.

Yöntemler: T-786C polimorfizminin tespitinde 10 adet AKS ve 20 adet KKAH hastası ve koroner anjiyografiyle koronerlerinin normal olduğu saptanan 31 sağlıklı kişi ile; Glu298Asp polimorfizmi tespitinde ise 17 adet AKS, 13 adet KKAH ve 46 adet sağlıklı kişi ile çalışıldı. eNOS T-786C ve Glu298Asp genotipleri PZR-RFLP yöntemleri ile belirlendi.

Bulgular: eNOS geni T-786C genotip sıklıkları; AKS' lu grupta %10 TT, %40 CT, %50 CC; KKAH grupta %75 TT, %20 CT, %5 CC ve kontrol grupta %67.7 TT, %25.8 CT, %6.5 CC iken Glu298Asp genotip sıklıkları AKS'lu grupta %70.6 Glu/Glu, %23.5 Glu/Asp, %5.9 Asp/Asp; KKAH grupta %76.9 Glu/Glu, %15.4 Glu/Asp, %7.7 Asp/Asp ve kontrol grupta %17 Glu/Glu, %51.1 Glu/Asp, %31.9 Asp/Asp olarak bulundu.

Sonuç: Herhangi bir T-786C genotipinin sıklığının sol ventrikül hipertrofisinde (SVH) farklı bulunmayışı söz konusu polimorfizmin SVH'de etkili olmadığını göstermektedir. eNOS T-786C ve Glu298Asp polimorfizmlerinin lipid düzeyleri üzerinde, Glu298Asp polimorfizminin ise nitrik oksit aracılı vasküler cevaplarda etkili olmadığı saptanmıştır. AKS'lu ve KKAH'lı gruplarda Glu/Asp ve Asp/Asp genotiplerinin sıklıklarını Glu/Glu'ya kıyasla düşük bulmamız Glu298Asp varyasyonunun hastalık oluşumunda rol almadığını düşündürmektedir. KKAH ve kontrol grupları arasında T-786C genotip sıklıkları açısından anlamlı bir fark olmayışı T-786C polimorfizminin KKAH ile ilişkili olmadığını göstermektedir. AKS'lu grupta T-786 C/C genotipinin sıklığını kontrol gruba kıyasla yüksek bulmamız, C/C genotipinin AKS oluşumunda rol alabileceğini düşündürmektedir.

HİPERTANSİYON GENETİĞİ

M. SARIMAN 1, G. YORGANCIOĞLU 1, C. SESAL 2

1 Marmara Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 3.Sınıf,
2 Bitki Hastalıkları ve Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL

melda_sariman@mynet.com

Amaç: Primer hipertansiyon kesin mekanizması bilinmeyen, herhangi bir ikincil hastalığa bağlı oluşmamış, sistemik arteriyel kan basıncının sürekli yüksekliğidir. Bu bilgilerin ışığında hipertansiyon öyküsü görülen gönüllü bir ailede; Renin Angiotensin Sisteminde görevli olan Angiotensin Converting Enzyme ve Angiotensin II Type 1 Receptor gen polimorfizmleri ile hipertansiyon (HT) arasındaki ilişkiyi inceleyen bir ön çalışma amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışma, 3 hipertansiyon olgusunun yer aldığı 9 kişiden oluşan bir ailede gerçekleştirilmiştir. 5 cc EDTA'lı venöz kanlardan protokolüne uygun olarak "QIAamp® DNA Mini Ekstraksiyon Kiti (QIAGEN)" ile Genomik DNA'lar izole edilip, PCR yöntemiyle ACE ve A2T1 gen bölgeleri çoğaltılmıştır. A2T1 gen polimorfizmi için Ddel restriksiyon enzimi kullanılmıştır. Ürünler %6'lık Akrilamit jel elektroforez ile yürütülüp, genotip tayini yapılmıştır.

Sonuçlar: HT hastası olmayan bir vakada ACE gen polimorfizmi insersiyon/delesyon (I/D) olarak tespit edilmiş, diğer 8 vakada ise ACE delesyon/ delesyonu (D/D) gözlenmiştir. A2T1 Reseptör polimorfizmi, A1666C ise 6 vakada gözlenmiştir.

Tartışma: ACE polimorfizmi ve esansiyel hipertansiyon arasındaki ilişki hala açıklığa kavuşturulamamıştır. Literatürdeki birçok çalışmada ACE DD genotipiyle hipertansiyon arasında bir korelasyon bulunmamıştır. Zee ve arkadaşlarına göre ise I alleleline sahip hastalarda esansiyel hipertansiyonun sıklıkla görüldüğü saptanmıştır. Peter ve arkadaşlarına göre A2T1 polimorfizminin homozigot C aleline sahip olanlarda kardiyovasküler problemlerin arttığı bildirilmiştir. Yaptığımız ön çalışmada hasta sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel yorum yapılamasa da, RAS'daki genlerin ürünlerindeki değişimlerin hipertansiyona neden olabileceğini düşünmekteyiz. Kesin yargıya varabilmemiz için hasta ve kontrol grubunun sayısının artması ve ilaç etkileşimlerinin araştırılmasının gerekli olduğu kanaatindeyiz.

TÜRK TOPLUMUNDA MİTOKONDRIYAL DNA 16189 T->C POLİMORFİZMİNİN METABOLİK SENDROM İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

C. ARAL 1, S. SEVİL ŞAHİN 1, S. ÇAĞLAYAN 2, G. ÖZİŞİK 2, M. ÖZATA 2, **A. ÖZER 1**

1 Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Endokrinoloji Servisi, İSTANBUL

aozer@marmara.edu.tr

Amaç: Metabolik sendrom, dislipidemi, hipertansiyon, hiperglisemi gibi çeşitli kardiyovasküler hastalık risk faktörlerinin bir arada toplandığı genetik ve çevresel faktörlere bağlı yaygın bir hastalıktır. Hastalığın temelinde yatan en önemli metabolik bozukluk insülin direncidir. Hastalığın gelişmesinde rolü olabilecek çok sayıda genetik değişiklik tanımlanmıştır. Mitokondriyal DNA 16189 T->C polimorfizminin düşük doğum tartısı, yetişkin glukoz intoleransı, artmış vücut-kitle indeksi ve tip II diyabet ile ilişkisi gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı metabolik sendrom hastalarında bu polimorfizmin sıklığını belirlemek ve hastalıkla ilişkisini Türk toplumunda araştırmaktır.

Yöntemler: Çalışma kapsamında 45 metabolik sendrom hastası ve 24 sağlıklı gönüllüden alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıldı. Mitokondriyal DNA 16189 polimorfizmi RFLP yöntemi ile incelendi. Bu amaçla PZR sonrası amplifiye edilen örnekler MnlI restriksiyon enzimi ile kesildi ve agaroz jel elektroforezinde incelendi. Gruplar arasındaki genotip farklılığı ki-kare testi ile incelendi.

Sonuçlar: Çalışma kapsamında incelenen 45 metabolik sendrom hastasından 40'nin (%88.9) yabancıl tip T alleleline sahip olduğu kalan 5 hastanın (%11.1) ise polimorfik C alleleline sahip olduğu görüldü. Sağlıklı gönüllülerden alınan örneklerde T alelinin %87.5 (21/24) C alelinin ise %12.5 (3/24) bulunduğu saptandı. Çalışılan örneklerde hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$).

Tartışma: Bir ön çalışma niteliğindeki sonuçlarımıza göre mtDNA 16189 T->C polimorfizminin düşük olduğu ve metabolik sendrom açısından istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Laboratuvarımızda hasta ve kontrol sayısı artırılarak çalışma devam edilmektedir.

TIP 1 DİYABETTE İNTERLÖKİN - 10 GEN PROMOTÖR BÖLGESİ POLİMORFİZMİ

E. ALP 1, H. MOHEBBATIKALJAHİ 1, S. MENEVŞE 1, İ. YETKİN , H. DEMİRCİ 2

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

2 Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, ANKARA

ebrualmaz@hotmail.com

Amaç: Tip 1 diyabet mellitus, insülin üreten pankreatik β hücrelerinin yıkımından ortaya çıkan, organa özel bir otoimmün hastalıktır. Çeşitli immünogenetik ve çevresel faktörler pankreatik hücrelerin yıkım sürecine katkıda bulunabilir. Sitokinlerin etkileşiminden oluşan ağ sistemi immünolojik olayları derinden etkilemektedir. Bu arada Th2 sitokinlerinin (IL-4, IL-6 ve IL-10), β hücre yıkım sürecini önlediği önerilmiştir. Dolayısı ile gen polimorfizmine bağlı olarak değişken IL-10 üretimi β hücrelerinin yıkımını ve tip 1 diyabetin başlangıç yaşını etkileyebilir. Bu bilgilerden yola çıkılarak çalışmamızda, Türk toplumunda IL-10 promotör bölgesinde transkripsiyon başlama noktasından - 1082(G/A), - 819(C/T) ve - 592(C/A) pozisyonlarında bulunan polimorfizmlerin sıklığı ve bu polimorfizmlerin tip 1 diyabet ile bağlantısının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamına Gazi Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında tanıları konulan 117 tip 1 diyabet hastası ve 116 sağlıklı birey dahil edildi. EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden genomik DNA izole edildi ve örnekler PCR-RFLP yöntemi ile genotiplendirildi. Hastaların % 20'sinde dizi analizi yapılarak elde edilen veriler doğrulanacaktır.

Sonuçlar: Tip 1 diyabet hastalarında - 1082 (G/A) polimorfizminin AA, GA ve GG genotiplerinin sıklığı sırasıyla % 47, % 45.3 ve % 7.7 iken kontrol grubunda % 41.4, % 40.5 ve % 18.1 oranında gözlenmiştir ($p= 0.060$). - 819(C/T) polimorfizminin tip 1 diyabet hastalarındaki genotip sıklığı CC % 47.9, CT % 41.0, TT % 11.1, sağlıklı bireylerdeki sıklıkları ise CC % 50.0, CT % 37.9, TT % 12.1 bulunmuştur ($p= 0.886$). - 592(C/A) polimorfizminin CC, CA ve AA genotiplerinin sıklığı tip 1 diyabet hastalarda sırasıyla % 44.4, % 42.7 ve % 12.8, sağlıklı bireylerde ise % 48.3, % 41.4 ve % 10.3 olarak gözlemlenmiştir ($p= 0.772$).

Tartışma: Yaptığımız çalışmada - 1082(G/A), - 819(C/T) ve - 592(C/A) polimorfizmleri ile tip 1 diyabet hastalığı arasındaki ilişki araştırılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre bu polimorfizmler ile tip 1 diyabet hastalığı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

MONOSİT KEMOATRAKTAN PROTEİN -2518 G/A POLİMORFİZMİ VE PREMATÜR KORONER ARTER HASTALIĞI

F. S. ÇAM 1, C. ŞEKÜRİ 2, A. SAĞCAN 2, E. ERCAN 3, İ. TENGİZ 3,
E. ALIOĞLU 3, A. BERDELİ 4

1 Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, MANİSA

2 Kent Hastanesi, Kardiyoloji Bölümü,

3 Central Hospital, Kardiyoloji Bölümü,

4 Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, İZMİR

sirricam@gmail.com

Amaç: Monosit kemoatraktan protein (MCP-1), monosit aktivasyonu ve çalışması ile ateroskleroz gelişmesinde önemli bir rol oynar. Son yıllarda yapılan çalışmalar, MCP-1 -2518 G/A polimorfizminin Koroner Arter Hastalığı (KAH) yatkınlığı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, prematür KAH'larında bu polimorfizmin rolünün incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 171 prematür KAH'sı ile 151 sağlıklı birey dahil edildi. MCP-1 -2518 G/A polimorfizmi PCR-RFLP ile analiz edildi.

Sonuçlar: Hasta ve kontrol gruplarında, genotip ve alel frekansları açısından anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi. (hasta: AA: 49.7%; AG: 40.3%; GG: 10.0%, kontrol: AA: 53.7%; AG: 34.4%; GG: 11.9%, $p=0.53$). G alel frekansı hastalarda 0.302, kontrollerde ise 0.291 olarak bulundu.

Tartışma: Sonuçta MCP-1 -2518 G/A polimorfizmi ile prematür KAH'lığı arasında bir ilişki olmadığı saptandı. Bu polimorfizmin KAH patogenizindeki rolünü açıklayabilmek için, farklı toplumlarda yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

KISA VE UZUN SÜRELİ OMEPAZOL TEDAVİSİNİN FUNDUS MUKOZASI VE GHRELİN HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

S. BOLKENT, S. YILMAZER, N. TÜRK

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

Ghrelın fundus bezlerinde en bol üretilen ve asit salgılanmasını kontrol eden 28 aminoasitlik yeni bir peptidtir.H⁺,K⁺ ATPaz inhibitörü olan omeprazol mide asit sekresyonunda güçlü bir inhibitördür.Bu çalışma farklı süre ve dozlarda omeprazol ile asit sekresyonu inhibe edilen sıçanların fundus mukozası ve ghrelın hücrelerinde meydana gelen değişiklikleri incelemeyi amaçladı.

Sprague-Dawley tipi 200-250 g ağırlığında dişi sıçanlar altışar adet 6 gruba ayrıldı.I.Dört günlük kontrol grup.II.Dört gün süre ile 100mg/kg/gün omeprazol verilen grup.III.Dört gün süre ile 20mg/kg/gün omeprazol verilen grup.IV.İki aylık kontrol grup.V.İki ay süre ile 100mg/kg/gün omeprazol verilen grup.VI.İki ay süre ile 20mg/kg/gün omeprazol verilen grup.Mide fundus kesitleri morfolojik olarak Masson üçlü boyası ile,ghrelın ekspresyonu bakımından immühistokimya ile incelendi.

Omeprazol verilen gruplar kontroller ile karşılaştırıldığında fundus mukozasında yer yer hafif dejeneratif değişiklikler gözlemlendi.Gruplar kontrolleri ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında ghrelın immünreaktif hücre sayısında belirgin bir artış saptandı($p<0,001$).

Bu bulgulara göre omeprazol verilen sıçanların fundus mukozası ghrelın peptid ekspresyonunu arttırdığı sonucuna varıldı.

VENÖZ TROMBOEMBOLİZMDEN SORUMLU GENETİK FAKTÖRLERİN ISPARTA BÖLGESİNDE ARAŞTIRILMASI

M. SOYÖZ 1, P. ASLAN - KOŞAR 1, N. ŞAHİN - CALAPOĞLU 1, İ. KIRIŞ 2, N. ÖZCELİK 1

1 Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

2 Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi AD, ISPARTA

msoyoz@hotmail.com

Amaç: Dünyanın farklı bölgelerinde trombozis için genetik risk faktörlerinin prevalansı, hem trombozisli hasta bireylerde hemde genel popülasyonda çok fazla çeşitlilik gösterir. Faktör V geni (FV) G1619A ve A4070G, 5,10-metilentetrahidrofolat redüktaz geni C677T (MTHFR C677T), protrombin geni G20210A (PT G20210A) mutasyonları, trombozise yol açan en yaygın genetik hasarlardır. Çalışmamızda bu dört mutasyonun Isparta yöresindeki prevalansı ve buradaki genetik varyantların derin ven trombozu (DVT) ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Çalışmaya derin ven trombozlu 46 hasta ve 55 sağlıklı kontrol birey dahil edildi. Mutasyonlar, polimeraz zincir reaksiyonu/restriksion enzimi parça uzunluk polimorfizmi (PCR/RFLP) yöntemi ile çalışıldı.

Bulgular: FV G1691A mutasyonu DVT hastalarının %19.6'sında ve kontrollerin %12,7'sinde gözlemlendi. 46 DVT hastasından 4'ü (8,7%) R2 alleli (FV 4070G) bakımından heterozigot ve 1 birey (2,2%) homozigot olarak belirlendi. MTHFR mutasyonlarının heterozigot ve homozigot genotiplerinin prevalansı hasta ve kontrol bireyler arasında anlamlı derecede farklı değildi. Hasta ve kontrollerde protrombin geni G20210A mutasyonu gözlenmedi.

Sonuç: Çalışmamız, FV Leiden G1691A ve A4070G, protrombin G20210A , MTHFR C677T genotiplerinin Isparta popülasyonunda DVT riski ile ilişkili olmadığını ortaya koymuştur. Türkiye'de küçük bir popülasyonda gözlenen bu sonuçların, Türk popülasyonunda genetik thromboembolitik faktörler için bölgesel varyasyonların tanımlanmasına katkıda bulunabileceğini düşünmekteyiz.

HİPERTANSİYONLU KİŞİLERDE eNOS GLU298ASP POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

M. ERSÖZ 1, E. ÖZEN 2, P. ÇAĞATAY 3, Ç. ÇİFTÇİ 4, B. SÜSLEYİCİ DUMAN 2

1 İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Laboratuvarı,

2 İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

3 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyoistatistik BD,

4 İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji AD, İSTANBUL

elcnozen@yahoo.com

Amaç: Endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) geni Glu298Asp polimorfizmi hipertansiyon risk faktörlerindendir. Amacımız, Türk toplumunda Glu298Asp genotip sıklıklarını belirlemenin yanında, polimorfizmin hipertansiyon (HT) ve klinik parametreler ile ilişkilerini saptamaktır.

Yöntemler: Glu298Asp polimorfizminde 46 adet HT (24 erkek, 22 kadın) ve 26 adet sağlıklı kişi (14 erkek, 12 kadın) ile çalışıldı. Hasta ve kontroller yaş ve beden kütle indeksi (BKİ) açısından eşleştirildi. eNOS Glu298Asp genotipleri PZR ve RFLP yöntemleri ile belirlendi.

Bulgular: eNOS geni Glu298Asp genotip sıklıkları; HT grubunda %46.7 Glu/Glu, %31.1 Glu/Asp, %22.2 Asp/Asp ve kontrol grubunda %34.6 Glu/Glu, %34.6 Glu/Asp, %30.8 Asp/Asp olarak bulundu. HT ve kontrol grupları Glu298Asp genotip sıklıkları açısından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı. HT risk faktörleri [dislipidemi ($p < 0.001$), tip 2 diabetes ($p > 0.05$), hiperkolesterolemi ($p > 0.05$) ve obezite ($p > 0.05$)] hastalarda kontrollere kıyasla daha yüksek oranda görüldü. Tüm çalışma grubunda eNOS Glu298Asp polimorfizminin HDL-kolesterol hariç ($p < 0.05$), diğer parametreler üzerinde anlamlı bir etkisine rastlanmadı. Kontrol grubunda Glu298Asp polimorfizmi BKİ, homosistein, total-kolesterol, LDL-kolesterol ve glikoz düzeyleri üzerinde etkili bulunmazken, HT grubunda HDL-kolesterol düzeylerini etkilediği bulundu ($p < 0.05$). HT risk faktörleri Glu298Asp genotipleri ile birlikte lojistik regresyon analizine tabii tutulduğunda, Glu298Asp genotiplerinin hastalık için bir risk faktörü olmadığı, dislipidemi varlığının ise hastalık oluşumunu 6 kat artırdığı tespit edildi.

Sonuç: eNOS Glu298Asp polimorfizmi HT ile ilişkili bulunmazken, HDL-kolesterol düzeylerini etkilediği belirlendi.

ATEROSİKLEROZ HASTALARINDA HSV1, HSV2, EBV VE CMV VİRÜSLERİNİN SAPTANMASI

M. TAŞPINAR 1, F. ŞAHİN 2, D. KARASARTOVA 2, A. SUNGUROĞLU 1

1 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD, ANKARA

Amaç: Aterosiklozusun altında yatan kronik inflamatuvar mekanizmalar halen aydınlatılmamıştır. Bununla birlikte, bazı virüs enfeksiyonlarının aterosikloz gelişimiyle ilişkili olduğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan bir çok çalışmada, aterosiklozusun bazı bakteri ve viral patojen enfeksiyonuyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu viral patojenler arasında herpes simplex viruses (HSV), cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr virus (EBV) ve diğer enfeksiyon ajanları bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, aterosiklozlu hastaların kan örneklerinde HSV-1, 2, EBV, CMV DNA'larının varlığının araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya 105 aterosklerozlu hasta ve 110 sağlıklı kontrol birey katılmıştır. Hasta grubunu, koroner arterlerde anjiyografi ile aterosklerotik plak gözlenen ve koroner arter hastası olduğu belirtilen bireyler oluşturmaktadır. Kontrol ve hastaların EDTA'lı tüpe alınan periferik kan örneklerinden genomik DNA izole edilmiştir. Öncelikle, HSV, CMV ve EBV virüslerinin tek bir kopyasını dahi saptayabilen ve ayırt edebilen bir Multiplex PCR (M-PCR) geliştirildi. Çalışmamızda, izole edilen genomik DNA'lardan HSV, CMV ve EBV DNA'larını analiz etmek için geliştirdiğimiz bu M-PCR kullanılmıştır. Ayrıca, pozitif kontrol olarak HSV, CMV ve EBV DNA'larını içeren pBSK vektörleri kullanılmıştır.

Sonuçlar: Hasta ve kontrol grubunda her hangi bir virüs DNA'sı saptanmamıştır.

Tartışma: Aterosiklerotik plak gelişimi ile viral enfeksiyonlar arasındaki ilişkiyi gösteren bir çok çalışmada aterosiklerotik plaklardan alınan biyopsilerden izole edilen genomik DNA'lar kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda, viral enfeksiyonların saptanmasında periferik kan örnekleri kullanılmıştır. Aterosiklerotik plaklar enfeksiyonun daha erken dönemlerinde meydana gelmiş olabilir ve koroner arterler kronik olarak enfekte olmuş olabilir. Bu yüzden, eğer akut enfeksiyon yok ise, kan örneklerinden viral DNA saptanması mümkün olmayabilir.

CYP1A1 POLİMORFİZMİ VE ATEROSİKLEREZ RİSKİ

M. TAŞPINAR 1, S. AYDOS 1, İ. V. DÜZEN 2, D. ÖZTUNA 3, E. TUTAR 2, A. SUNGUROĞLU 1

1 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kardiyoloji AD,

3 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik AD, ANKARA

Amaç: Sitokrom P450 enzim grubunun önemli bir üyesi olan CYP1A1, çevresel mutajenleri detoksifiye etmesiyle bilinmektedir. CYP1A1 enzimi için belirtilen genetik polimorfizmler aterosiklerozda önemli rol oynayabilir. Bizim hipotezimiz, CYP1A1 geni polimorfizmlerinin Koroner Arter Hastalığının oluşumuyla birliktelik gösterebileceğidir. Bu çalışmada, CYP1A1 geni polimorfik varyantı (m2) ve aterosikleroz riski arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya 96 aterosikleroz hastası ve 102 sağlıklı kontrol birey katılmıştır. Polimorfizmin genotiplendirilmesinde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) metodları kullanılmıştır. Türk populasyonunda, CYP1A1 gen polimorfizmi ve aterosikleroz riski arasındaki ilişki, Odds oranı (OR) ve %95 güven aralıkları karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Sonuçlar: CYP1A1(m2) AA, AG ve GG genotip oranları, kontrol grubunda sırasıyla %92.2, %7.8 ve %0.0 şeklinde saptanırken, hasta grubunda bu oranlar %81.3 AA, %15,6 AG, %3,1 GG olarak saptanmıştır. Hasta ve kontrol grubu arasında CYP1A1(m2) genotipi dağılımı açısından önemli bir fark vardır ($p<0.05$). Ayrıca her iki grup arasında alel dağılımı açısından da önemli bir fark bulunmuştur($p<0.01$) ve buna göre en az bir G aleli taşıyan bireylerin aterosikleroz riski taşımayanlara göre 3.012 kat daha fazladır(OR=3.012; 95% CI, 1,299; 6,944).

Tartışma: Bizim çalışmamız, CYP1A1(m2) gen polimorfizminin Koroner Arter Hastalık riskinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Bu bulgular, kardiyovasküler risk ve çevresel mutajenlerin detoksifikasyonu arasındaki ilişkinin anlaşılmasına katkıda bulunacaktır.

BİR TÜRK POPÜLASYONUNDAKİ PRİMER HİPERTANSİYONLU BİREYLERDE CYP11B2 GENİNİN PROMOTOR BÖLGESİNDEKİ -344T/C POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

E. AKGÜN, M. YILMAZ, G. DÖNMEZ, E. G. GÜNEŞ, A. ÇOLAK, E. PINARBAŞI

1 Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, SİVAS

egemen.akgun@gmail.com

Amaç: Aldosteron sentaz (CYP11B2), aldosteron sentezindeki en önemli enzimdir. Bu enzimi kodlayan CY11B2 geninin promotor bölgesindeki -344T/C polimorfizmi, daha önce birçok araştırmacı tarafından yüksek kan basıncıyla ilişkilendirilmiştir. Çalışmamızda, Türk popülasyonundaki primer hipertansif bireylerde bu polimorfizm ile primer hipertansiyon arasındaki ilişki incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Periferik kandan genomik DNA'ları izole edilen hasta (n=191) ve kontrol (n=212) gruplarındaki bireylerde, PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) tekniği kullanılarak CYP11B2 -344T/C polimorfizminin genotiplendirilmesi yapıldı.

Sonuçlar: CYP11B2 -344T/C genotiplerinin frekansları, hasta ve kontrol gruplarında sırasıyla CC genotipi için 0.267 ve 0.264, CT genotipi için 0.497 ve 0.505, TT genotipi için ise 0.236 ve 0.231 olarak tespit edildi. Hasta ve kontrol gruplarındaki allel frekansları ise sırasıyla C alleli için 0.515 ve 0.516, T alleli için 0.485 ve 0.484 olarak belirlendi. Bu verilere dayanılarak polimorfik allel dağılımı açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı (χ^2 : 0.022, p: 0,986).

Tartışma: Çalışma popülasyonumuzda, CYP11B2 -344T/C polimorfizmi primer hipertansiyonun gelişmesinde bir rol oynamamaktadır.

ASTIM VE ALLERJİK SEMPTOMLU HASTALARDA IL12B PROMOTÖR POLYMORFİZMİ

E. TUĞ 1, Ü. ÖZBEY 2, T. TUĞ 3, H. YÜCE 4

1 Tıbbi Genetik AD, 3 Göğüs Hastalıkları AD 1, 3, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, İzzet Baysal Tıp Fakültesi, BOLU

2, 4 Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, ELAZIĞ

esratug@hotmail.com

Amaç: Astım, havayollarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır. Kromozom 5q31-33 üzerinde lokalize olan sitokin gen demeti, astım için spesifik IL-4, IL-5, IL-12B, IL-13 ve IL-14 gibi birkaç potansiyel aday gen içerir. IL12, astımla ilişkili Th2 sitokinlerini azaltıcı immünmodülatör bir sitokindir. Amacımız, IL12B polimorfizmi ile orta ve ciddi derecede astım, alerjik semptomlar ve ailesel astım hikayesi arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Astım grubu, orta ve ciddi astımlı 53 hastadan (13 erkek, 40 kadın) oluştu. Kontrol grubu, 60 (29 erkek, 31 kadın) sağlıklı gönüllüden oluştu. Tüm kişilere, rutin testlerle birlikte kanda total IgE seviyeleri, eozinofil sayımı ve IL12B promotör polimorfizm analizleri uygulandı. Daha sonra hastalar, 1.1 (Allel 1: CTCTAA), 2.2 (Allel 2: GC), or 1.2 olarak genotiplerine göre üç gruba ayrıldı. Her grubun sonuçları, diğerleri ve kontrollerle karşılaştırıldı.

Sonuçlar: Hastaların 1.1, 1.2 ve 2.2 genotipi oranları sırasıyla % 17, % 40 ve % 43 idi. Her bir gruptaki kadın veya erkek hastaların IgE seviyelerinde gruplar arasında fark yoktu ($p>0.05$), fakat kontrollere göre artış ($p<0.05$) vardı (1.1 hariç). Alerjik semptomlar ve ailesinde astım hikayesi için gruplar arasında fark yoktu ($p>0.05$); bununla birlikte, 1.2 genotipinde alerjik semptomlar ve 2.2 genotipinde ailede astım hikayesi varlığı kontrollerden daha yüksekti ($p<0.05$).

Tartışma: Astıma ailesel yatkınlık, 2.2 genotipiyle ilişkili olabilir. Astım fenotipiyle alerjik semptomların birlikteliği, 1.2 genotipiyle ilişkili olabilir. Bu hipotezimizi sonraki çalışmalarımızda da araştıracağız.

YORUCU YÜZME EGZERSİZİ UYGULANAN GELİŞME ÇAĞINDAKİ ÇOCUKLARDA OKSİDATİF STRES BİYOMARKERLARI VE DNA HASARININ İNCELENMESİ

E. İNCE 1, Ş. KOPARAN 2, T. ULUTİN 1

1 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

2 Uludağ Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bölümü, BURSA

erdal_nce@yahoo.com

Bu çalışmamızdaki amacımız gelişme çağındaki çocuklara uygulanan uzun süreli yorucu egzersizin kanda DNA, lipid, proteinler üzerine oksidatif hasarı oluşturup oluşturmadığını ve antioksidan savunma sistemini değiştirip değiştirmediğini incelemektir.

Çalışmada yaşları 12-14 arasında değişen 10 kız, 10 erkek toplam 20 yüzücü grubu oluşturuldu. Günde her biri 10 defa olmak üzere 100 m serbest stil yüzme antrenmanı uygulandı. Kanlar yüzmeye öncesi ve yüzme sonrası 10-15 dakika içinde alındı. Örneklerde Katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD), glutathione (GSH), glutatyon peroxidaz (GPx), glutatyon 6 fosfat dehidrogenaz (G6PDH), Kreatin kinaz (CK), Laktat dehidrogenaz (LDH), eritrosit malondialdehyde (MDA) and reaktif karbonil türevleri (RCD) incelendi. Yüzme öncesi gruba göre yüzme sonrası grupta GSH düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi ($P < 0.01$). Yüzme öncesi gruba göre yüzme sonrası grupta Cat, GPx, G6PDH aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi. ($P < 0.01$, $p < 0.05$, $P < 0.01$). LDH, CK değerleri de yüzme öncesi gruba göre yüzme sonrası grupta anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ($P < 0.01$). MDA, RCD ve SOD miktarlarında anlamlı değişiklik görülmedi. Gözlenen farklılıklar erkek grupta kıza gruba göre daha yüksek olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak kısa süreli (100-m) uzun zaman yapılan yorucu yüzme antrenmanları görülen oksidatif stres direncine karşı oksidatif hasarın farklı mekanizmalar üzerinden olduğu, ayrıca gelişmekte olan kız çocuğu grupta östrajen hormon gibi uygun adaptif mekanizmalar ve spesifik antioksidan ve onarım sistemlerinden dolayı erkek gruba göre oksidatif strese karşı daha dirençli olduğu gösterildi.

YOĞUN SPORTİF EGZERSİZ İLE ÇEKİRDEK PROTEİNLERİ DÜZEYİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Z. HAMURCU 1, N. SARITAŞ 1, H. DEMİRTAŞ 2, T. PATIROĞLU 3, B. ÇOKSEVİM 1

1 Erciyes Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu,

2 Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

3 Çocuk Sağlığı AD, KAYSERİ

Amaç: Yoğun sportif egzersiz, bedendeki oksidatif stres oluşumunu tetiklemektedir. Genelde hücre çekirdeğindeki oksidatif baskı, DNA hasarına ve nükleer proteinlerin değişimine neden olmaktadır. Organizmayı mutasyonlardan korumak için, DNA hasarı mümkün olduğu kadar kısa sürede onarılmak zorundadır. Bunun için onarım proteinleri gereklidir. Literatür taramasında sportif egzersiz ile çekirdek proteinleri düzeyi hakkında veriye rastlanılamadı. Bu yüzden, çalışmamızın amacı, yoğun egzersizden dolayı çekirdek proteinleri içeriğinde bir değişikliğin olup olmadığını araştırmaktır.

Gereç ve yöntem: Yaş ortalaması 21.10 ± 2.99 olan elit düzeyde 10 erkek atlete koşu bandında egzersiz yaptırıldı. Egzersiz için Brouce protokolü kullanıldı. Sporculardan egzersiz öncesi, egzersizden hemen ve 24 saat sonra heparinli periferik kan örnekleri alındı. Periferik kan mononükleer hücrelerden çekirdek izole edildi ve DNA/protein ölçümü için, sırasıyla propidium iyodid/floresan izotiyosiyanat ile boyandı; sonra akışkan sitometride ölçüldü.

Bulgular: Sekiz sporcunun çekirdek protein düzeyinde, egzersiz öncesine göre, egzersizden hemen sonra artış bulunurken (sırasıyla, Ort $\pm$ SS = 168.49 ± 5.08 , Ort $\pm$ SS = 180.11 ± 7.58 , $p=0,001$), egzersiz öncesi ile 24 saat sonrası arasında fark bulunamadı (sırasıyla, Ort $\pm$ SS 168.49 ± 5.08 , Ort $\pm$ SS 169.12 ± 5.45 , $p=0,731$). İki sporcunun, egzersiz öncesi, egzersizden hemen ve 24 saat sonra nükleer protein düzeylerinde fark bulunamadı. İstatistiksel değerlendirme için yinelenen ölçümlerde varyans analiz testi kullanıldı.

Sonuç: Ön bulgularımıza göre, yoğun egzersiz sonucunda hücre çekirdeğindeki oksitlenmeyi/hasarı önlemek için protein içeriğinde bir artış olmakta ve bu proteinler görevlerini yaptıktan kısa bir süre sonra yeniden sitoplazmaya geçmektedirler. İki sporcunun neden bu değişimi göstermedikleri sorusu, şimdilik yanıtsız kalmakta ve çalışmamızın daha çok sayıdaki sporcu ile yinelenmesi planlanmaktadır.

PLAZMADA CHLORAMİN-T İLE İN VİTRO PROTEİN OKSİDASYONU

Ş. TETİK 1, A. KILIÇ, H. AKSOY, C. BİNGÜL, T. YARDIMCI

M.Ü. Ecz. Fak. Biyokimya AD, İSTANBUL

Giriş ve Amaç: Oksidatif stres, serbest radikal üretimi ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin kaybı olarak tanımlanmıştır. Oksidatif stres artışına bağlı oksidatif protein zararı pek çok hastalıkla ilişkilendirilmektedir. Bu çalışmada plazma proteinlerinin oksidasyon marker'larının takip edilmesi ile gelişebilecek patolojileri görmek amaçlanmıştır.

Metod: 10 sağlıklı insan plazması (25-30 yaş) 40 mmol/L chloramin-T ile 37 °C'de 10 dakika süre ile inkübe edildi. Kontrol ve okside plazmada protein miktar tayini yapıldı. Normal insan plazması ve chloramin-T ile oksitlenmiş plazma örneklerinde SDS-PAGE ile molekül ağırlıkları belirlendi. Aynı örneklerde protein elektroforezi ve lipid elektroforezi tayinleri yapıldı. Yine örneklerin HPLC analizleri (Agilen 1100, protein pak 125) yapıldı. Oksidatif stres marker'ı olarak örneklerde karbonil grup içerikleri nmol karbonil/mg protein cinsinden hesaplandı.

Bulgular: Chloramin-T ile okside edilmiş plazma örneklerinin molekül ağırlıkları SDS-PAGE analizinde kontrol grupla aynı bulundu. Proteinlerin Lowry ile yapılan miktar analizlerinde kontrole göre okside plazmadaki protein konsantrasyonlarında azalma olduğu belirlendi ($p<0,5$). Örneklerin karbonil içerikleri ekstinksiyon katsayısı göz önüne alınarak değerlendirildi ve kontrole göre okside örneklerde yükselme tespit edildi ($p<0,001$). Okside örneklerin protein elektroforezi incelendiğinde albumin konsantrasyonlarında kontrole göre anlamlı düşüşler tespit edildi ($p<0,001$). Buna karşılık immunglobulinlerde (gamma globulin) anlamlı artış bulundu ($p<0,001$). Okside örneklerin lipid elektroforezlerinde kontrole göre α_2 ve β lipoproteinlerinde azalma tespit edilirken ($p<0,01$) prebeta-lipoproteinlerde anlamlı bir artış gözlemlendi ($p<0,001$).

Yorum: Protein oksidasyonu in vivo oksidatif stres sonucu gelişmekte ve protein yapılarında değişiklik ve protein fonksiyon kaybına yol açmaktadır. Chloramin-T serbest radikal kaynağıdır ve insan plazmasında in vitro uygulandığında proteinlerin üzerinde önemli değişiklikler yaratmaktadır.

YÜKSEK İRTİFADA YORUCU EGZERSİZ YAPAN SPORCULARDA OKSİDATİF STRES BİYOMARKERLARI ve GST T1 GENOTİPİ ARASINDAKİ BAĞLANTININ İNCELENMESİ

E. İNCE 1, T. ULUTİN 1, Ş. KOPARAN 2, C. AYDIN 3, T. CANGÜL 4, S. TÜRKEK 5

1 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

2 Uludağ Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bölümü

3 Uludağ Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Fizyoloji Bölümü

4 Uludağ Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Patoloji Bölümü, BURSA

5 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü, İSTANBUL

Özet: Yüksek irtifa esnasında hipoksiyle beraber soğuk ortamın ortaya çıkışı akut dağ hastalığı, pulmoner ödem, monge hastalığı gibi zararlı etkilerin ortaya çıkmasına yol açabilir. Bu problemler düşük parsiyel basınç ve kullanılan oksijenin azalması sonucu ortaya çıkmaktadır. Kullanılan oksijenin azalması vücut metabolizmasını değiştirdiğinden yüksek irtifada uzun süre bulunan kişilerin mental ve fiziksel performansını etkileyebilmektedir.

Bu değişim vücuttaki oksidatif stres seviyesi ve antioksidan düzeyleri arasındaki dengeyi bozabilmektedir. Bu bilgilere ilaveten yorucu fiziksel aktivite vücuttaki oksidatif stresi artırarak doku hasarı artışına yol açabilmektedir. Antioksidan savunma sistemlerinden biri olan Glutasyon S Transferas (GST) biyotransformasyon ve degradasyondan sorumlu faz II detoksifikasyon sisteme ait enzimdir. GST ların polimorfik yapısı oldukça iyi araştırılmıştır. GST T1 genotipine sahip olanların oksidatif strese karşı dirençli olduğu ve bundan dolayı oksidatif strese karşı inflamatuvar cevabı modifiye ederek oksidatif stresi azaltmada potansiyel rolleri olduğu kanser, aterosklerozis, diabet çalışmalarında ifade edilmiştir.

Üç senedir devam eden çalışmamızda, bu hipotezin doğruluğunu araştırmak amacıyla yüksek irtifada yaklaşık 3 ay kalan ve günde ortalama 8 saat kayak egzersizi yapan 79 erkek 51 bayan sporcuların kan örneklerinde oksidatif stres biyomarkerlarla beraber GST T1 genotipi arasındaki bağlantıyı inceledik. Genotip analizi polimeraz zincir reaksiyon (PCR) ile yapıldı. Oksidatif biyomarkerları değerleri GST T1 genotipine sahip olan bireyler diğer GST genotiplerle kıyaslandığında; GST T1 genotipine sahip olan kişilerde oksidatif biyomarkerları değerleri anlamlı olarak düşük ($P < 0.05$) bulundu.

Sonuç: GST T1 genotipine sahip kişiler, inflamasyon markerları, hemostasis ve endotelial fonksiyonları diğer GST genotipe sahip kişilere göre anlamlı olarak düşük olduğu gösterildi. Bu sonuçlar oksidatif strese karşı direnç mekanizmasında etkenlerden birisinde GST T1 genotipi olduğu düşünülmektedir.

ALFA1-ANTİTRİPSİN EKSİKLİĞİNE NEDEN OLAN M3S, M3Z VE ZZ VARYANTLARININ BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU: AİLE ÇALIŞMASI

N. Ş. CALAPOĞLU 3, M. CALAPOĞLU 1, O. DEĞER 2, F. BALABAN 2, Y. BÜLBÜL 4, K. BURLİNG 5

1 Kafkas Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Fen Bilgisi Öğretimi Bölümü, KARS

2 Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, TRABZON

3 Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, ISPARTA

4 Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları AD, TRABZON

5 Addenbrooke Hastanesi, Klinik Biyokimya AD, İNGİLTERE

Amaç: Alfa1-antitripsin (α1-AT) eksikliği ko-dominant otozomal formda kalıtılan genetik bir hastalıktır. Proteaz inhibitör sistemi (PIs) olarak da bilinen ve 100'den fazla varyanta sahip olması nedeniyle büyük ölçüde genetik çeşitlilik gösteren α1-AT, SERPINA1 (PI) geni tarafından kodlanan 394 aminoasitlik bir glikoproteindir. Bu çalışma, serum α1-AT seviyeleri, genotipleri ve fenotipleri arasındaki ilişkinin derecesini ortaya koyarak hastalığın değerlendirilmesinde güvenilir laboratuvar sonuçlarının alınmasını sağlayacak stratejileri geliştirmeyi amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma grubu, amfizem klinik bulgularına sahip 38 yaşındaki erkek indeks olgu ile birinci dereceden akrabaları ve kontrol grubundan oluşmaktadır. Aile öyküsü dört kuşaklı aile ağacı ile ortaya konuldu. Genomik DNA periferik kan örneklerinden izole edildi. Hasta ve kontrol bireylerin α1-AT seviyeleri immunonefelometri ile serum, fenotipleri de izoelektrik fokuslama ile plazma örneklerinden belirlendi. α1-AT geninin kodlayan ekzonlarının DNA dizi analizleri, DNA amplifikasyonu ve direkt sekanslama tekniği kullanılarak yapıldı.

Sonuçlar: PI ZZ, MM, M3S ve M3Z varyantlarının kalıtım şekli ve plazma seviyeleri aile çalışmasıyla saptandı. α1-AT eksikliğine sahip olan ailenin PI M3S, M3Z ve ZZ varyantlarının plazma konsantrasyonları sırasıyla normal PI MM seviyesinin 87.92 ± 5.66 , 64.80 ± 6.72 ve 24.36 ± 3.59 'u olarak bulundu.

Tartışma: α1-AT seviyeleri ile farklı genotipler arasında yakın bir ilişki vardır. Genotipleme, ölçme ve fenotipleme kombinasyonlarının α1-AT eksikliğinin laboratuvar değerlendirmesi için en uygun strateji olduğunu düşünmekteyiz.

TÜRK TOPLUMUNDAKİ KOAH HASTALARINDA KOAH GENETİĞİ VE IL-1BETA POLİMORFİZMİ

**N.B. TÖMEKÇE 1, E. YILMAZ GÜLEÇ 2, O. BAYKARA 1, Ş. SOYYİĞİT 3,
M. ERK 3, N. BUYRU 1**

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

**1 Tıbbi Biyoloji AD,
2 Tıbbi Genetik AD,
3 Göğüs Hastalıkları AD, İSTANBUL**

banutomekce@gmail.com

Giriş: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH), yavaş ilerleyen ve geri dönüşümü olmayan, hava yollarının tıkanmasıyla karakterize olan enflamatuvar bir hastalıktır. Bu hastalıkta çevresel risk faktörlerinin yanında genetik risk faktörlerinin de önemli bir rolü olabileceği düşünülmektedir. Bugüne kadarki tek kanıtlanmış genetik risk faktörü olan alfa 1 antitripsin (alfa1-antitrypsin) eksikliği dışında KOAH'a genetik yatkınlık IL -1 gen ailesiyle de bağlantılı olabilir.

Materyal ve Metod: Çalışmamıza 72 sigara içen KOAH hastası, 41 sağlıklı sigara içen birey ve 39 sağlıklı sigara içmeyen birey dahil edilmiştir. Hastalardan alınan kan örneklerinden elde edilen DNA'dan IL-1beta -511 ve +3953 bölgeleri PZR ile çoğaltılmış ve RFLP yöntemiyle incelenmiştir.

Bulgular: Her iki polimorfizmin sıklığı hem hasta hem de kontrol gruplarında araştırılmıştır. Her iki polimorfizm için de gruplar arasında fark bulunamamıştır ($p=0.13$, $p=0.52$; sırasıyla). Ayrıca hasta grubunda hastalığın evreleriyle polimorfizm ilişkisi araştırılmıştır. Aynı şekilde anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Sonuç: Daha önce yapılmış olan çalışmalarda farklı toplumlarda IL-1alfa ve beta polimorfizminin KOAH ile ilişkisi hakkında çelişen sonuçlar bulunmuştur. Bizim yaptığımız çalışmada Türk toplumunda bu açıdan anlamlı bir ilişki bulamadık

BRONŞİAL ASTIMLI HASTALARDA TROMBOSİT FONKSİYONLARI VE FİBRİNOLİTİK AKTİVİTE.

Ç. BAYRAM GÜREL 1, B. TUTLUOĞLU 2, Ş. BEYHAN ÖZDAŞ 3, B. MÜSELLİM 2,
S. ERTURAN 2, A. N. ANAKKAYA 4, G. KILIÇ 2, T. ULUTİN 1

1 İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

2 İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD, İSTANBUL

3 K.Ü.Mühendislik Fakültesi Kimya ve Biyoloji Mühendisliği Bölümü, KOCAELİ

4 D.Ü. Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD, KÜTAHYA

Trombositler salgıladıkları ajanlarla inflamatuvar ve anafilaktik özellikte hücrelerdir. Trombosit faktör 4 (PF4) ve Beta tromboglobülin (βTG) bu ajanlardan ikisidir. Diğer yandan plazminojen aktivatör inhibitör 1 (PAI-1) ve doku plazminojen aktivatör (t-PA) fibrinolizisin iki önemli ajanıdır. Her iki ajan vasküler endotelden salgılanır. PF4, βTG, PAI-1 ve t-PA'nın plazma seviyeleri astım gibi inflamatuvar hastalıklarda değişim gösterebilir. Bu çalışmada, stabil faz sırasında ve atak sırasında olan astım hastalarında endotel fonksiyonu ve trombositin rolü araştırılmıştır. Çalışmada astım atağı ile acil olarak gelen ve allerjik astım hastası olduğu bilinen 18 astım hastası ve 14 kontrol yer almaktadır. Kan örnekleri salbutamol inhalasyon tedavisi sonrasında tedaviye başladıktan sonra alınmıştır. Akciğer fonksiyon testleri astım için ilk acil tedaviyi aldıktan sonra yapıldı. PF4, βTG, PAI-1 ve t-PA düzeyleri, steroid tedavisine başlamadan önce ve bir hafta steroid tedavi aldıktan sonra saptanmıştır. PF4 düzeyleri astım atağında olan hastada kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. (150.5 ± 8.92 IU/mL, 92.5 ± 7.63 IU/mL $P < 0.001$) Ayrıca steroid tedavisi sonrasında plazma PF4 düzeylerinin artışı tespit edildi (163.5 ± 9.16 IU/mL). İlk alınan hastaların βTG düzeyleri, kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. (140.4 ± 6.34 IU/mL; 152.2 ± 8.71 IU/mL) ve tedavi sonrası plazma değerleri kontrole göre anlamlı olarak artmıştır. İlk gelen astım hastalarında t-PA ve PAI plazma seviyeleri kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu. (t-PA için: 6.01 ± 2.72 ; 5.4 ± 2.3 ng/mL ve PAI-1 için: 75.2 ± 27.2 ng/mL; 32.7 ± 14.3 ng/mL). Ayrıca iki parametre de bir haftalık steroid tedavisi sonrasında artış tespit edilmiştir. (t-PA düzeyleri 6.85 ± 2.9 ng/mL idi ve PAI-1 düzeyleri 83.5 ± 29.6 ng/mL idi.) Astım atağı sırasında trombosit aktivitesinde artış gözlenmiştir. Yükselmiş PAI-1 ve t-PA düzeyleri astımda artmış endotel aktivitesinin bir göstergesi olabilir. PAI-1 ve t-PA düzeylerinin steroid tedavi sonrası artışı daha ileri düzeylerde araştırılmaya ihtiyaç göstermektedir. PAI-1 düzeylerinin artışı hava yollarının yeniden modellenmesinde önemli yer tutacaktır.

TÜRK POPÜLASYONUNDA CYP2B6 GEN POLİMORFİZMİ

M. BERKÖZ 1, S. YALIN 1, A. E. YALIN 2, N. Ö. ŞAHİN 3, P. EROĞLU 1,
V. G. GÜLER 1, S. KUL 4

1 Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya AD, MERSİN

2 Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, ADANA

3 Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji AD,

4 Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik AD, MERSİN

Giriş ve Amaç: Eksojen olarak alınan maddelerin detoksifikasyonuna yani vücuttan temizlenmesi işlemine ksenobiotik mekanizması denilmektedir. Ksenobiotik mekanizmasında rol alan çeşitli enzimler vardır. Sitokrom P450 (CYP) ve Glutasyon S-Transferaz (GST) bu enzimlerden en önemlileridir. CYP enzimlerinden özellikle bir tanesinin son bir kaç yıldır yıldızı parlamaktadır ki bu enzim CYP2B6 enzimidir. Bu enzimin miktarı, CYP2B6 geninin farklı düzeyde eksprese edilmesine bağlı olarak ırktan ırka hatta aynı toplum içerisinde bile bireyden bireye değişmektedir. Bunun da en önemli sebeplerinden biri her toplum için farklı oranda görülen ve enzim aktivitelerini ve miktarlarını etkileyen gen polimorfizmleridir. Bu enzimin stiren, aminokrisen, aflatoksin B1, nikotin ve benzo[a]piren gibi karsinogenik ve mutajenik pek çok maddenin metabolizmasında rol alması da bu durumu oldukça önemli bir hale getirmiştir. CYP2B6 geninin 15631. pozisyonundaki G>T değişimi de enzim aktivitesinde kilitleme rol oynamakta ve enzim aktivitesini azaltmaktadır. Bu gen bölgesi oldukça polimorfik olup Kafkas ırkında % 22, Çinlilerde % 30, Japonlarda ise % 18 oranında polimorfizm gözlenmiştir. Türk popülasyonunda da bu gen bölgesinin allel frekansını tespiti önem taşımaktadır.

Yöntemler: Bu amaçla yaptığımız çalışmada herhangi bir kronik hastalığı bulunmayan 61'i erkek, 39'u kadın toplam 100 sağlıklı gönüllü değerlendirilmeye alınmıştır. Bu kişilerin kanlarından DNA'ları izole edilip polimeraz zincir reaksiyonu ile çalışılarak gen bölgesi amplifiye edilmiştir. Amplifiye edilen örnekler BsrI restriksiyon enzimi ile kesilerek genotipleme yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmanın sonucunda GG genotipi % 67, GT genotipi ise % 33 oranında saptanmıştır. Erkeklerde bu oran sırasıyla % 65,58 ve % 34,42 iken kadınlarda ise % 69,24 ve % 30,76 olarak bulunmuştur. TT genotipine ise rastlanılmamıştır. Erkeklerde G allelinin frekansı % 82,76, T allelinin frekansı % 17,24, kadınlarda ise G allelinin frekansı % 84,61, T allelinin frekansı % 15,39 olarak bulunmuştur.

Sonuç: Bu çalışma Türk popülasyonunda CYP2B6 G15631T gen bölgesinin allel frekans dağılımının analizi ile ilgili olarak yapılmış ilk çalışma olup bu popülasyon için veri bankalarının oluşturulmasında yararlı olacaktır.

UZUN YAŞAM VE SİTOKİN İLİŞKİSİ

K. ÖZDİLLİ 1, Y. ÖĞRET 2, F. S. OĞUZ 2, H. İŞSEVER, M. ÇARİN 2, G. GEDİKOĞLU 4

1 Haliç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

1 İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

3 İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD, İSTANBUL

4 Lösemili Çocuklar Vakfı, ANKARA

Giriş: İmmün sistemin yaşlanma ile fonksiyonlarının azalmasının kanser, otoimmün ve infeksiyöz hastalıklara yakınlığı arttırdığı düşünülmektedir. Son yıllarda bu hastalıkların patogeneze katkısı olabilecek immün fonksiyonların yaş ile ilişkisini irdeleyen çalışmalar giderek artmaktadır.

Amaç: Biz bu çalışmada, sağlıklı yaşlı bireyler ile genç kontrollerin pro ve anti inflamatuvar sitokin genlerinin regülatör ve/veya kodlanan bölgelerdeki polimorfizmlerinin gen ekspresyon düzeyleri üzerindeki olası etkisini ortaya çıkartmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 93 sağlıklı (71 ± 9.5) yaşlı bireyler ile 100 sağlıklı genç (30.93 ± 4.9) birey dahil edildi. Tümör necrosis factor (TNF)-A (-308), transforming growth factor (TGF)-B1 (codons 10, 25), interleukin (IL)-10 (-1082, -819 and -592), IL-6 (-174) ve interferon (IFN)-g (+874) bölgelerindeki tek nükleotit polimorfizmleri (SNP) araştırıldı.

Sonuçlar: Yaşlı ve genç gruplardaki cinsiyetler kendi içinde polimorfizmler açısından karşılaştırıldı. Genç grupta kadınlarda IFN-g (TT) ($p=0.02$ OR=0.26) ve IL-10 (-592) CA ($p=0.05$ OR=0.43) genotipi anlamlı olarak yüksek saptandı. Yaşlı grupta kadınlarda TGF-B (25) GG ($p=0.038$ OR=0.29) genotipi anlamlı olarak yüksek saptandı. Yaşlı ve genç grubun kadın ve erkek olarak cinsiyete göre dağılımı karşılaştırıldığında sadece yaşlı erkeklerde, IFN-G (TT) ($p=0.049$ OR=0.309), IL-10 (-592) (CA) ($p=0.032$ OR=0.39), IL-10 (-819) (CT) ($p=0.032$ OR=0.39) genotipleri genç erkeklerden anlamlı olarak daha yüksek saptanırken, (TGF)-10 (CC) ($p=0.01$ OR= 4.06) genç erkeklerde yaşlılara oranla anlamlı olarak yüksek saptandı. Genel olarak yaşlı ve genç grup karşılaştırıldığında ise, anti-inflamatuvar sitokinlerden TGF'i düşük üreten genotip olan TGF-(10)(CC) ($p=0.015$ OR=2.49) gençlerde; yüksek / orta derecede üreten TGF-10 (TT) ($p=0.042$ OR=0.042) yaşlılarda anlamlı derecede yüksek saptandı.

Tartışma: Diğer çalışmalarda gösterilen pro inflamatuvar sitokinlerden olan TNF ilişkisi genç ve yaşlı grupların karşılaştırılmasında anlamlık göstermezken, bu çalışmada TGF-B'nin artmış anti-inflamatuvar profil ile ilişkili genotiplerini taşıyanların uzun yaşayabileceği gösterilmiştir.

TÜRK POPÜLASYONUNDA GRAVES HASTALIĞI VE SİTOKİN GEN POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

F. KUTLUTÜRK 1, S. YARMAN 1, Ç. KEKİK 2, F. OĞUZ 2, M. ÇARİN 2

1 İ.Ü İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Endokrinoloji BD,

2 İ.Ü İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

Graves hastalığı genetik, çevresel ve endojen faktörlere bağlı olarak gelişen otoimmün bir hastalıktır. Otoimmün tiroid hastalığının patogeneğinde sitokinler önemli rol oynarlar. İntratiroidal inflamatuvar hücrelerden ve tiroid folikül hücrelerinden çeşitli sitokinlerin (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-12, IL-13, IL-14, TNF- α ve IFN-) üretildiği bilinmektedir. Sitokin gen polimorfizmleri direkt veya indirekt yoldan sitokin gen ekspresyonunu ve üretim düzeylerini etkileyebilir.

Amaç: Çalışmamızda Graves hastalarında, hastalığın etyopatogeneğine ışık tutması açısından sitokin gen polimorfizmlerini (IL-10, IL-6, TNF- α , TGF- β , IFN-) araştırdık.

Gereç ve Yöntem: İstanbul Tıp Fakültesi Endokrinoloji Bilim Dalı'nda teşhis ve tedavi edilen 100 Graves hastası (70 kadın, 30 erkek; yaş aralığı: 20-82, ortalama yaş: 43.9 ± 13.8) ile otoimmün hastalığı olmayan 124 sağlıklı birey (81 kadın, 43 erkek; yaş aralığı: 18-74, ortalama yaş: 37.8 ± 10.2) kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD'nde hasta ve kontrol grubunun periferik kanlarından DNA'ları izole edilerek PCR-SSP yöntemi ile sitokin gen polimorfizmleri TNF- (-308 G/A), TGF- β 1 (C/T codon 10, C/G codon 25), IL-10 (-1082 G/A, -819 T/C, -592 A/C), IL-6 (-174 G/C) ve IFN- (+874 A/T) tiplendirildi. Sonuçlar Fisher's exact test ile değerlendirildi.

Sonuçlar: Hasta ile kontrol grubunu sitokin gen polimorfizmleri açısından karşılaştırdığımızda TNF- GA polimorfizmi hastalarda anlamlı olarak yüksek çıkmıştır (p:0,033, OR: 2,171, CI:1,06-4,42).

Tartışma: Çalışmamızda, hasta grubunda TNF-'nın GA (yüksek üreten) genotipinin sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek çıkmıştır. Bu sonuç, bu allelin varlığının etyopatogeneizde önemli rol oynadığını düşündürmektedir.

ANKİLOZAN SPONDİLİTLİ BİREYLERİ OLAN GENİŞ BİR AİLEDE MEFV GENİ MUTASYONLARI GEÇİŞİ VE BU GEÇİŞLERİN KLİNİĞE ETKİSİ

E. TAŞKIN 2, D. DURMUŞ 3, N. KARAKUŞ 2, K. CENGİZ 3, F. CANTÜRK 3, H. BAĞCI 2

2 Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

3 Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel tıp ve Rehabilitasyon AD, SAMSUN

Amaç : Bu çalışmanın amacı geniş bir ailede ankilozan spondilit hastalarındaki MEFV geni mutasyon sıklığının saptanması ve klinik bulgularla ilişkisinin araştırılmasıdır. Ankilozan Spondilit (AS) spondiloartropati grubu hastalıkların prototipi sayılan, kronik, sistemik , enflamatuvar, romatizmal bir hastalıktır. Hastalığın patogenezinde genetik, çevresel, immünolojik faktörlerin birlikte rol oynadıkları düşünülmektedir. FMF (AAA, Familial Mediterranean Fever) tekrarlayan ateş atakları, artrit, eritem, karın ağrısı, ilerlemiş vakalarda amiloidoz ile karakterize otozomal resesif bir hastalıktır. Hastalıktan MEFV genindeki mutasyonlar sorumludur. AAA hastalığının ülkemizdeki sıklığının 1/1000 olduğu bildirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: İncelenen aile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde bazı bireyleri ankilozan spondilit hastalığı tanısı ile izlenen ve MEFV geni mutasyonları taşıyan bir ailedir. MEFV geni mutasyonları PCR (ÇZT) ve Strip Test yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. MEFV geni 16. Kromozomun kısa kolunda bulunmaktadır. Günümüze kadar MEFV geninde 50'den fazla mutasyon saptanmıştır. MEFV geni 781 amino asitten oluşan pyrin proteini kodlar. Pyrin nötrofil etkinleştirilmesini baskılayan bir proteindir. MEFV genindeki mutasyonlara bağlı olarak pyrin etkinliğinin engellenmesi sonucunda inflamasyon artışı olabilmektedir.

Sonuçlar: AAA, ankilozan spondilit, behçet hastalığı, romatoid artrit, , PAPA sendromu, sistemik lupus eritematozis gibi hastalıkları benzer klinik göstermektedir. Behçet gibi bazı hastalıklarda normal toplumdaki mutasyon taşıyıcılığından daha fazla mutasyon taşıyıcılığı vardır. Ankilozan spondilit hastalığında da benzer olarak normal toplumdaki mutasyon taşıyıcılığından daha fazla mutasyon taşıyıcılığı vardır. Çalışılan ailede de ankilozan spondilitli hastalarda normal toplumdaki mutasyon taşıyıcılığından daha fazla mutasyon taşıyıcılığı olduğu izlenmiştir.

Tartışma: Ailede çalışılan bireylerde MEFV geni mutasyonunu taşıyan bireylerde ankilozan spondilit hastalığıyla ilişkili bazı klinik bulguların, MEFV geni mutasyonlarıyla ilişkilendirilebileceği görülmüştür.

REVERSE HYBRİDİZATİON" VE PCR-RFLP İLE SAPTANAN MEFV GENİ MUTASYON SONUÇLARI

F. İ. ŞAHİN 1, Z. YILMAZ 1, E. YURTCU 2, E. BASKIN 3

1 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD,

2 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

3 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Nefroloji BD, ANKARA

Amaç: FMF (Ailevi Akdeniz Ateşi) tekrarlayan ateş, serozit ve artrit ile karakterizedir. FMF'den sorumlu MEFV geninde çok sayıda mutasyon tanımlanmıştır. Mutasyon sayısının çokluğu ve hastalığın klinik heterojenitesi nedeniyle çeşitli tanı yöntemleri uygulamaya konulmuştur. Bu çalışmada, PCR-RFLP ile belirlenen sık mutasyon bulgularının "Reverse Hybridization" yöntemi ile elde edilen bulgularla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Hastanemize FMF şüphesiyle başvuran 238 hastada Reverse Hybridization Assay (FMF StripA Viennalab) kiti ile 12 mutasyon (E148Q, P369S, F479L, M680I(G/C), M680I(G/A), 1692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S, R731H) taranmış, aynı olgularda E148Q, M680I(G/C), M694V ve V726A mutasyonları PCR-RFLP yöntemi ile araştırılmıştır.

Bulgular: İncelenen 238 DNA örneğinden 140 tanesinde (%58.82) Reverse Hybridization yöntemiyle çeşitli mutasyonlar belirlenmiştir. Mutasyonlar sonucunda saptanan alel sıklıkları E148Q %6.93, M680I(G/C) %3.36, M694V %21.64, V726A %7.14, P369S %1.47, F479L %0.21, M680I(G/A) %0.84, M694I %0.63, K695R %0.63, A744S %0.42, R731H %0.42, del1692 %0 olarak hesaplanmıştır. Sık görülen mutasyonlar PCR-RFLP ile teyid edilmiştir. İki yöntem arasında bulgular açısından uyumsuzluk saptanmamıştır.

Saptanan genotiplerden 4 tanesi tek mutasyon için homozigot, 8 tanesi tek mutasyon için heterozigot, 15 tanesi iki mutasyon için bileşik heterozigot, 1 tanesi üç farklı mutasyon için heterozigot, 1 tanesi bir mutasyon için homozigot diğer mutasyon için heterozigottur.

Sonuç: "Reverse Hybridization" yönteminin analitik duyarlılığı %97 olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda iki yöntem arasında sonuçlar açısından bir uyumsuzluk saptanmamış, 21 hastada "Reverse Hybridization" yöntemi ile ek mutasyonlar belirlenmiştir. Sonuçlarımız, bu yöntemin avantajları göz önünde bulundurulduğunda FMF hastalarında birinci basamak mutasyon taraması için kullanılabilecek bir yöntem olduğunu göstermektedir.

ROMATOİD ARTRİTLİ HASTA PLAZMASINDA OKSİDASYONA BAĞLI PROTEİN MODİFİKASYONLARI

Ş. TETİK 1, B. ERSOY 1, M. DİŞBUDAK 1, Y. ŞAHİN 1, A. ALTURFAN 3, A. KILIÇ 1,
H. AKSOY 1, N. EMEKLİ 2, T. YARDIMCI 1

1 M.Ü. Ecz. Fak. Biyokimya AD,

2 M.Ü Diş Hek. Fak. Biyokimya AD,

3 İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi SHMYO, İSTANBUL

Giriş ve Amaç: Oksidatif stres inflamatuvar hastalıkların patofizyolojisinde önemli bir role sahiptir. Bu çalışmada romatoid artritli hasta plazmalarında oksidatif strese bağlı olarak proteinlerin modifikasyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Metod: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı'na başvuran 10 romatoid artritli hasta ve 12 sağlıklı olgu çalışma kapsamına dahil edildi. Hasta ve kontrol gruplarının kan örnekleri antikoagülanlı tüplere alındı. Oda sıcaklığında 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenen örneklerin süpernatantları ayrılarak, örnekler -80 °C'de saklandı. Örneklerin protein konsantrasyonları Lowry metodu ile yapıldı ve ardından örnekler SDS-PAGE'e uygulandı. Tüm örneklerin karbonil grup tayinleri spektrofotometrik yöntem ile 360 nm'de tayin edildi. Ekstinksiyon katsayısı ($22000 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) kullanılarak sonuçlar nmol karbonil/mg protein olarak hesaplandı. Örneklerin HPLC analizleri (Agilent 1100, protein pak 125) yapılarak oksidatif modifikasyonun boyutları incelendi.

Bulgular: Romatoid artritli hasta plazmalarının protein konsantrasyonlarında kontrole göre artış saptandı ($p<0,5$). Plasma protein karbonil içeriği romatoid artritli hasta grubunda kontrole göre yükselmiş ($p<0,001$) olarak bulundu. Karbonil gruplarındaki bu artış HPLC analizleri sonuçları ile uyumlu bulundu. Örneklerin kromatogramları incelendiğinde kontrole göre, genel olarak "retention time"larda önemli bir değişiklik gözlenmedi, ancak proteinlerin pik alanlarında azalma dikkat çekerken özellikle rt: 11.60 dakikada gelen pik alanında önemli bir artış kaydedildi ($p<0,001$). Proteinlerin SDS-PAGE analizleri sonucunda molekül ağırlıklarında kontrole göre önemli bir değişiklik gözlenmedi.

Yorum: Romatoid artrit hastalığında protein karbonil içeriğinin normallere göre artması ve HPLC analizinde pik alanlarındaki azalmanın yanı sıra özellikle düşük molekül ağırlıklı protein bñölgesinde anlamlı bir artış tespit edilmesi antioksidan sistem hasarı ile ilişkili bulunmuştur. Oksidatif stres hastalık koşulları altında önemli ölçüde yükselmiştir.

İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALARINDA MEFV GEN MUTASYONLARININ BELİRLENMESİ

E. YURTCU 1, H. SÜMER 2, U. YILMAZ 2, F. İ. ŞAHİN 3

1 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

2 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD,

3 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD, ANKARA

Amaç: İnflamatuvar barsak hastalıkları (IBD) olarak bilinen Ülseratif kolit (UC) ve Crohn hastalığı (CD) immünolojik faktörlerin etkili olduğu kronik ve tekrarlayan bir grup hastalıktır. Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) de kontrolsüz immün cevabın etkilediği bir hastalık olarak IBD ile benzerlik göstermektedir. FMF'den sorumlu olan MEFV geninin inflamatuvar barsak hastalıklarını etkilediği düşünülmektedir. Bu çalışmada IBD'da MEFV gen mutasyonlarının saptanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamına, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalında IBD tanısı almış 26 hasta birey ve kontrol grubu olarak 19 sağlıklı birey alınmıştır. Tüm bireylerde "Reverse Hybridization" yöntemi ile FMF geni için 12 nokta mutasyonu (E148Q, P369S, F479L, M680I(G/C), M680I(G/A), 1692del, M694V, M694I, K695R, V726A, A744S, R731H) taranmıştır. Oranların istatistiksel kıyaslamaları iki oran z testi ile yapılmıştır.

Bulgular: Hasta grubundaki 6 olguda MEFV gen mutasyonu belirlenmiştir. Kontrol grubundaki olguların hiç birinde MEFV genine ait mutasyon belirlenmemiştir. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). Hasta grubunda belirlenen mutasyonlar ve sıklıkları E148Q (%33.33), M680I(G/C) (%16.66), M694V (%16.66), V726A (%16.66), A744S (%16.66) olarak saptanmıştır.

Sonuç: MEFV geni mutasyonlarının, kontrol grubuna oranla IBD olgularında daha sık bulunması literatürdeki bulguları desteklemektedir. Patogenezinde FMF ile ortak mekanizmaların rol oynadığı düşünülen IBD'da, MEFV gen mutasyonlarının öneminin tam olarak anlaşılabilmesi artan olgu sayıları ile mümkün olacaktır.

YAŞLILARDA HLA-A, -B ve -DRB1 SIKLIĞI DEĞİŞİKLİKLERİ

F. OĞUZ 1, K. ÖZDİLLİ 1, Y. ÖĞRET 1, C. KEKİK 1, M. ÇARİN 1, M. T. DORAK 3

1 İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi,

2 Haliç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İSTANBUL

3 HUMIGEN, Genomic Immunoepidemiology Division, NJ, ABD

Giriş: Uzun yaşamla birçok HLA ilişkisi bildirilmiş olmasına rağmen bu bağlantıların mekanizmaları belli değildir.

Amaç: HLA kompleksi ile uzun yaşam arasındaki pozitif veya negatif bir ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: HLA kompleksini ayrıntılı değerlendirmek için en azından 65 yaşında (65-91 yaş arası) 98 sağlıklı bireyde ve karşılaştırma grubu olarak en fazla 46 yaşında 100 sağlıklı kontrol denekte bir uzun yaşam çalışması yürütülmüştür. PCR bazlı yöntemlerle HLA-A, -B ve -DRB1 gen tipleri belirlenmiştir. İki grup arasında HLA allel frekans sıklıkları ve homozigosite oranları lojistik regresyon yöntemiyle karşılaştırılmıştır.

Sonuçlar: HLA-B*18, -DRB1*08, -DRB1*16 sıklıkları ve HLA-DRB1 homozigotluk oranları açısından iki grup arasında istatistiksel açıdan ve de cinsiyete özgü anlamlı farklılıklar olduğu gösterilmiştir. HLA-B*18 sıklığı yaşlı erkek grupta (% 1,8'e karşı % 18,0; $P = 0,002$) artmıştı. Yaşlı kadın grubunda HLA-DRB1*16 (% 4,5'e karşı % 17,6; $P = 0,05$) artmış ve HLA-DRB1*08 (% 15,9'a karşı % 2,1; $P = 0,05$) sıklığı azalmıştı. HLA-DRB1 homozigotluk oranı yaşlı kadın grubunda artmıştı (% 4,5'e karşı % 16,7; $P = 0,08$). Bağlantı eşitsizliği analizi ilişki gösteren aleller arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir eşitsizliğin varlığını göstermemiş ve çok değişkenli lojistik regresyon analizleri de bu ilişkilerin birbirlerinden bağımsız olduğunu doğrulamıştır.

Tartışma: Daha önce bildirilen HLA-A*01-B*08-DRB1*03, -B40, DRB1*07/*11/*13 ve -DRB4 (DR53) homozigotluğu ile uzun yaşam arasındaki negatif veya pozitif ilişkiler bu çalışmada saptanmamıştır. HLA-DRB1 homozigotluğu ise tam karşıt bir ilişkiyi göstermiştir. Bu uyumsuzluk Türk halkının benzersiz genetik özelliklerine, bu çalışmanın düşük istatistiksel gücüne ve incelenen yaşlı grupta yaş ortalamasının düşüklüğüne bağlanabilir. Sahte bağlantıların kurulmasına neden olan popülasyonun altyapısını dışlamak için genomik kontrol olarak halen mikrosatellit lokuslarını incelemekte ve çalışmayı HLA kompleksinin HLA-dışı genlerini incelemek üzere genişletmeyi planlamaktayız.

TRANSFORMING GROWTH FACTOR β 1 GENİ T869C POLİMORFİZMİNİN ROMATOİD ARTRİT İLE İLİŞKİSİ

G. ALAYLI 1, N. KARA 2, B. TANDER 1, F. CANTÜRK 1, S. GÜNEŞ 2, H. BAĞCI 2

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
1 Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD,
2 Tıbbi Biyoloji AD, SAMSUN

Amaç: Romatoid artrit (RA) nedeni bilinmeyen kronik enflamatuar bir hastalıktır. Transforming growth factor (TGF) bir büyüme faktörüdür ve epitelyal, endotelyal, hematopoetik, nöronal ve konnektif doku hücreleri gibi pek çok hücre TGF üretmektedir. Üç izoformu bulunmaktadır. TGF1 genindeki polimorfizmlerin TGF1 protein üretimini etkilediği ve birkaç hastalıkta riski arttırdığı belirtilmiştir. TGF1'in RA'da bir modulator olarak rol oynayabileceğini göz önüne alınarak, TGF1 geni 10. kodonda T869C polimorfizminin RA ile ilişkisini incelemeyi planladık.

Gereç ve Yöntem: 102 RA'lı hasta ve enflamatuar hastalığı olmayan 93 sağlıklı kontrol incelemeye alındı. DNA periferik kan lökositlerinden saflaştırıldı ve polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon fragment polimorfizmi yöntemleriyle TGF1 geni T869C polimorfizminin analizi yapıldı. Hasta ve kontrollerin genotip ve allel frekansları Ki kare analizi ile karşılaştırıldı

Sonuçlar: Kırkdört hastada (%43.1) TT, 44 hastada (%43.1) TC ve 14 hastada (%13.7) CC genotipi saptandı. Kontrol grubunda ise 31 birey (%33.3) TT, 48 birey (%51.6) TC, 14 birey (%15.1) ise CC genotipine sahipti RA'lı hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında genotip [$P=0.791$, OR: %95 CI, 0.90 (0.38-2.14)] ve allel [$P=0.257$, OR: %95 CI, 0.79 (0.51-1.21)] frekansları karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki bulunamadı.

Tartışma: Halen devam etmekte olan çalışmamızda TGF1 geni T869C polimorfizminin RA ile ilişkisinin olmadığı saptanmıştır. RA'da, TGF1 gen polimorfizminin rolü daha büyük ve farklı populasyonların çalışılmasıyla kesinlik kazanabilir.

TÜRK POPULASYONUNDA SİTOKİN POLİMORFİZM SIKLIĞI

K. ÖZDİLLİ 1, 2, F. OĞUZ 2, Y. ÖĞRET 2, C. KEKİK 2, F. AYDIN 2, DORAK MT 3, M. ÇARİN 2, G. GEDİKOĞLU 4.

1 Haliç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,

2 İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

3 HUMIGEN, Genomic Immunoepidemiology Division, NJ, ABD,

4 Bizim-Lösemili Çocuklar Vakfı

Giriş: İmmün sistemi ilgilendiren ve enflamatuvar olaylara katılan hücrelerin etkinliklerinin artırılması; uyarılmış lenfositler, monositler, makrofajlar ve diğer bazı hücrelerden sentezlenen sitokinler ile sağlanmaktadır. Sitokin genlerindeki polimorfizmlerin infeksiyon, kanser ve otoimmün hastalıklara hassasiyeki veya direnci artırdığını gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır. Sitokin gen polimorfizmleri üç temel şekilde meydana gelirler: Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP), değişken sayıda tekrarlar (mikrosatellitler). Özellikle SNP'ler promotor ve kodlayan bölgede gen ekspresyonunun düzeyini direkt veya dolaylı olarak değiştirecek fonksiyonel bir öneme sahiptirler ve "genetik linkage" in saptanmasında yararlı olabilirler.

Amaç: Türk populasyonunda 5 farklı sitokin gen bölgesindeki SNP profilini ortaya koymayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde yaşayan 294 sağlıklı birey bu çalışmaya dahil edildi. Beş farklı sitokin genindeki 8 SNP "diziye özgü primerler ile PCR " amplifikasyonu yöntemi ile belirlendi.

Sonuçlar : TNF-A ve TGF-B dışındaki tüm sitokin genotip frekanslarının Hardy-Weinberg eşitliğine uygun olduğu görüldü. TNF-A'da sıklıkla GG (%84.64), IL-6'da GG (%59.39), IFN-G'da TA (%47.10), TGF-B (codon-10)'da TC (%50.17), TGF-B (codon-25)'de GG (%81.23), IL-10 (-1082)'de GA (%44.03), IL-10 (-892)'de CC (%51.19), IL-10 (-592)'de CC (%51.19) genotiplerini sıklıkla saptadık.

Tartışma: Sitokin polimorfizmin farklı populasyonlarda değişkenlik göstermektedir. Çeşitli çalışmalarda Akdeniz bölgesindeki populasyonlarında benzer farklılıklar gösterilmiştir. Bizde bu çalışma ile muhtemel ilişkiyi göstermek ve ilerideki yapılacak otoimmün çalışmalar için kontrol grubu oluşturmayı hedefledik.the

TÜRK POPULASYONUNDA ROMATOİT ARTİRİT VE İNTERLÖKİN-1 ALFA (-889) GEN POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİSİZLİK

O. SARIOZ 1, A. ARMAN 2, A. COKER 3, S. BECİT 3, H. DİRESKENELİ 4

Marmara Üniversitesi, İSTANBUL

ozlemsarioz@msn.com

Amaç: Romatoit artirit (RA), kronik eklem enflamasyonu, sinoviyal hücre çoğalması ve sinoviyal dokudaki T hücresi birikiminin neden olduğu eklem yıkımı ve hareketsizliğe yol açan, en yaygın sistemik otoimmün hastalıktır. Çevresel ve genetik faktörler RA'nın patogeneğinde önemli rol oynar. RA gelişiminde enflamasyon ve doku yıkımındaki esas başlatıcı olarak gösterilen sitokin adaylarından biri İnterlökin (IL-1)'dir. Bu çalışmanın amacı Türk populasyonunda RA ile IL-1A -889 gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya 50 Türk Romatoit Artirit hastası ile 50 sağlıklı kişi katılmıştır. RA hastaları Amerikan Romatoloji Kolejinin 1987 kriter ve sınıflandırmasına göre seçilmiştir. Tüm katılımcıların DNA'ları izole edilmiş ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) uygulanmıştır. IL-1A (-889) genotipi Nco I ile kesilen PCR ürünlerinin uzunluklarına göre belirlenmiştir.

Sonuçlar: IL-1A (-889) genotipi ve RA arasında belirgin farklılık bulunmamıştır. ($P= 0.446$). Ayrıca IL-1A (-889) polimorfizm allele dağılımında RA ve kontroller arasında belirgin bir farklılık yoktur.

Tartışma: Bu sonuçlar Türk populasyonundaki RA ile IL-1A Gen polimorfizmi arasında ilişki olmadığını göstermektedir.

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ HASTALARINDA VEGF 936 C/T GEN POLİMORFİZMİ SIKLIĞININ ANALİZİ

R. GÜNEŞAÇAR 1, E. ERKEN 1, H. T. E. ÖZER 1, S. DİNKÇİ 1, B. BOZKURT 1, D. DEVECİ 2

1 Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Romatoloji BD, ADANA

2 Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, SİVAS

Amaç: Vasküler endotelial büyüme faktörünün (vascular endothelial growth factor=VEGF) nötrofiller üzerine uyarıcı etki yaptığı ve lökositlerin inflamasyon bölgesine göçünü teşvik ettiği gösterilmiştir. Nötrofillerin ailevi Akdeniz ateşinde (AAA) akut inflamasyonun majör hücreleri olduğu bilinmektedir. AAA'da VEGF'nin bu hücreler üzerindeki rolünün önemli olabileceği düşüncesiyle, çalışmamızda VEGF'in plasma düzeylerine etki eden fonksiyonel bir polimorfizm olan, VEGF geninin 936. pozisyonundaki C/T değişiminin (VEGF 936 C/T), AAA hastalığı ve hastalığın klinik bulgularıyla ilişkisinin incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 75 AAA hastası (32 erkek, 43 kadın, yaş ortalaması $\pm$ SD=30.5 $\pm$ 13.5) ve 122 sağlıklı kontrol (48 erkek, 74 kadın, yaş ortalaması $\pm$ SD=29.4 $\pm$ 8.4) dahil edildi. VEGF 936 C/T gen polimorfizminin belirlenmesinde PCR-RFLP tekniği kullanıldı.

Sonuçlar: AAA ve sağlıklı kontrol grupları arasında VEGF 936 CT genotipi ve T alleli sıklığı yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (CT genotipi için: OR: 0.74, %95 güven aralığı (GA): 0.40-1.37, p=0.335; T alleli için: OR: 1.11, %95 CI: 0.67-1.83 p=0.700). AAA hastalarında VEGF 936 TT genotipi sıklığı (%6.7) sağlıklı kontrol grubuna (%1.6) göre daha yüksek olmakla birlikte fark anlamsızdı (OR: 4.28, %95 GA: 0.81-22.67, p=0.108). Çalışılan polimorfizm ile artrit, abdominal ağrı, plörezi, miyalji, artralji ve erizipel benzeri eritem gibi hastalığın temel klinik bulgularıyla da ilişki saptanamadı. Yine bu polimorfizm ile hastalarda çalışılan AAA hastalığı gen mutasyonları (MEFV) (M694V, M680I, V726A ve M694V) arasında ilişki bulunamadı.

Tartışma: Sonuçlarımıza göre, VEGF 936 C/T gen polimorfizmi ile, ne AAA hastalığının gelişimi ne de hastalığın klinik bulgularıyla ilişki saptanamaması, bu polimorfizmin AAA hastalığı için önemli olmadığını düşündürmektedir.

PSORİAZİS İLE VİTAMİN D RESEPTÖR GENİNİN TAQ I POLİMORFİZMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

İ. AÇIKBAŞ¹, H. BAĞCI¹, B. Ş. ERDOĞAN², Ş. ERGİN²,

¹ Pamukkale Üniversitesi, Biyoloji AD,

² Pamukkale Üniversitesi, Dermatoloji AD, DENİZLİ

Giriş: Psoriasis, epidermal proliferasyonda artma ve diferansiasyonda bozulma ile karakterize bir cilt hastalığıdır. Vitamin D reseptörü, retinoik asit reseptörleri ve diğer transkripsiyon kontrol elemanlarıyla heterodimerler oluşturarak gen ifadesinin kontrolünde rol alan önemli bir nükleer reseptördür. Mineral metabolizması, immün yanıt, hücre çoğalması ve farklılaşmasında belirleyici role sahiptir. Vitamin D türevlerinin invitro insan keratinositlerinde proliferasyonu inhibe ettiği ve diferansiasyonu indüklediği gösterilmiştir. Klinik uygulamada hem topikal, hem de oral kullanımının psoriasis tedavisinde güvenli ve etkili olduğu saptanmıştır. Ancak bazı hastaların vitamin D tedavisine dirençli olduğu da görülmektedir. Vitamin D Reseptör (VDR) genindeki genetik polimorfizmlerin, keratinositlerin 1,25(OH)2D3 aracılığıyla ortaya çıkan normal fizyolojik yanıtını etkilediği ve 1,25(OH)2D3 ve onun analoglarıyla tedaviye yanıtındaki değişkenliği açıklayabileceği ileri sürülmektedir.

Amaç: Bu çalışmada VDR geninin Taq I polimorfizminin psoriasis ile aralarında herhangi bir ilişki olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: 102 psoriasis olgusuna ait venöz kan örneğinden tuzla çöktürme yöntemiyle DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA örnekleri VDR geninin ekson 2 bölgesine özgül primerler ile 2Ü Taq DNA polimeraz kullanılarak, 500-61549;I toplam reaksiyon hacminde amplifiye edilmiştir.

1000-61549;I amplifikasyon ürünü 2-5 Ü Fok I enzimi ile 2000-61549;I kesim reaksiyonunda 4-6 saat kesildikten sonra %2'lik Et-Br ile boyanmış agaroz jel elektroforezinde ayrılmıştır. Sonuçlar Arlequin programı ile analiz edilmiştir.

Sonuç: Olguların allel frekansları %74.5 t, %25.5 T, genotip frekansları %57.85 tt, %33.33 Tt ve %8.82 TT olarak saptanmıştır. Kontrollerin allel frekansları %68.6t ve %31.4 T iken genotip frekansları %50 tt, %37.25 Tt ve %12.75 TT olarak saptanmıştır. Ayrıca daha önce yapılan çalışmamızda bulunan diğer polimorfizmlerle (Apa I, Bsm I, Fok I) haplotip oluşturarak Arlequin programı ile yapılan haplotip analizlerinde elde edilen Likelihoods değerleri ise vitD tedavisine yanıt vermeyen gruptaki haplotipler için 9, geç başlama yaşı grubu için 3, guttat ve plak klinik tipteki psoriasis için 3 olarak saptanmıştır.

MEFV GENE MUTATION FREQUENCY IN SIVAS POPULATION: MUTATION TYPES, LARGE FAMILIES AND PHENOTYPE-GENOTYPE CORRELATION

**B. KÖKSAL 1, M. ACEMOĞLU 2, M. SARI 3, N. NUR 4, F. CANDAN 5, I. SEZGİN 1,
N. KOCAK 1, O. ÖZDEMİR 1**

Cumhuriyet Üniversitesi, SIVAS

binnur.koksal@hotmail.com

Abstract

Objectives: Over 50 mutations have been reported in the MEFV gene responsible for FMF in different population. In the current study it was aimed to find out the mutation frequency and phenotype and genotype correlation of FMF gene in Sivas population. **Material and Methods:** Peripheral blood samples were used for genomic DNA isolation. DNA was isolated from in a total of 200 patients who applied to our laboratory for the FMF diagnosis and screened for common 12 MEFV gene mutations using reverse hybridisation of strip assay technique. **Results and discussion:** Suspicious 200 patients were studied, 127 (63.5%) were positive either for one, two or three mutations and no mutation detected in 73 (36.5%) patients that applied to our laboratory. The frequency of positive mutations were; M694V (37%), E148Q(23%), M680I(G/C),(18.5%), V726A(10.5%) and A744S(7.5%) respectively. Those positive for mutations, 25 were homozygous, 30 were compound heterozygotes, three had complex alleles, and 16 patients had only one mutation. accounted for 45.8%, 26%, 13.9%, 4.8% and 6% of the alleles, respectively. A few large families of different mutation carriers were also detected, some minor and major clinical findings and mutation types were in the compared in the current results.

Keywords: MEFV gene; Mutation types; Sivas

AMILOID GELİŞTİREN VE GELİŞTİRMİYEN AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ HASTALARINDA İNTERLÖKİN-1 RESEPTÖR ANTAGONİSTİ VE İNTERLÖKİN-1 β GEN POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ.

Z. E. TAŞKIRAN 1, B. BALCI PEYNİRCİOĞLU 1, B. TÜREL 1, M. ARICI 2, S. ÖZEN 3, A. BAKKALOĞLU 3, E. YILMAZ 1

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
1 Tıbbi Biyoloji AD,
2 İç Hastalıkları AD,
3 Pediatrik Nefroloji ve Romatoloji AD, ANKARA

Amaç: Ailevi akdeniz ateşi (AAA) hastalarındaki amiloid gelişimi, akut faz cevabı ve IL-1 β tarafından tetiklenen Serum Amiloid A ile ilişkilidir. Serum Amiloid A'nın plazma konsantrasyonu inflamasyon sırasında 1000 kat artmaktadır. AAA hastalığında ortaya çıkan inflamasyon göz önünde bulundurulduğunda, bu çalışmada IL-1 β ve IL-1 Reseptör Antagonisti gen polimorfizmlerinin, AAA hastalarında görülen amiloid gelişimi ile ilişkili olup olmadığı araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Amiloid geliştirmeyen 99 AAA hastası; amiloid geliştiren 54 AAA hastası ve 60 sağlıklı kontrol örneği, IL-1 β -511 (C/T), IL-1 β +3953 (C/T) polimorfizmleri için PCR-RFLP; IL-1Ra VNTR polimorfizmi için PCR analizi kullanılarak genotiplendirildi.

Sonuçlar: IL-1 β -511 (C/T), IL-1 β +3953 (C/T) ve IL-1Ra VNTR polimorfizmlerinin amiloid geliştiren ve geliştirmeyen AAA hastalarındaki allel ve genotip oranları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında amiloid geliştiren ve geliştirmeyen AAA hastaları ve kontrol örnekleri arasında bu polimorfizmlerin oranları açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (tüm P değerleri > 0.05). Ayrıca bu polimorfizmlerin, amiloid geliştiren ve geliştirmeyen AAA hastalarındaki M694V mutasyonu ile ilişkili olmadığı görülmüştür.

Tartışma: IL-1 β -511 (C/T), IL-1 β +3953 (C/T) ve IL-1Ra VNTR polimorfizmlerinin AAA hastalarında görülen amiloid gelişimi ile ilişkili olmadığı gözlenmiştir.

SPONDİLOARTROPATİ ÖNTANILI HASTALARDA HLAB*27 SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

F. S. PALA 1, K. TABAKÇIOĞLU 1, H. GÜRKAN 1, Ç. ALGÜNEŞ 1

1 Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, EDİRNE

ktabakcioglu@trakya.edu.tr

Amaç: Spondiloartropatiler, özellikle omurga ve kalça eklemi tutan kronik enflamatuvar hastalıklardır. Ankilozan spondilit, reaktif artrit, reiter sendromu ve psöriatik artrit gibi seronegatif spondiloartropatiler özellikle HLA-B*27 ile ilişkilendirilmektedir. HLA-B*27 sağlıklı populasyonlarda %7 civarında gözlenirken, ankilozan spondilitli hastaların %90'ında, reaktif artritlerin %65-75'inde, psöriatik artritli hastalarda da %20-50 oranında gözlenmektedir. Bu çalışmada 2003-2007 yılları arasında Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji laboratuvarına çeşitli spondiloartropati ön tanısı ile başvuran hastalarda, retrospektif olarak HLA-B*27 varlığını ve B*27 ile birlikte kalıtılan diğer allellerin sıklığını saptamak amaçlandı.

Yöntem: Olgulardan alınan periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıldı ve PCR-SSP yöntemiyle olguların HLA-B genotiplendirmesi yapıldı.

Bulgular: Spondiloartropati tanısını desteklemek amacıyla; Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon, Ortopedi ve Romatoloji gibi kliniklerden HLA-B*27 tetkiki için başvuran 115 olgudan 57'sinde (%50) HLA-B*27 allelinin varlığı saptandı. Erkek olgularda kadın olgulara göre HLA-B*27'nin daha sık görüldüğü tespit edildi. HLA-B*27'nin pozitif olduğu haplotip frekansları incelendiğinde ise "B*27, B*35" haplotipinin en sık (%17,5) gözlenen haplotip olduğu saptandı. Diğer sık haplotipler de sırasıyla "B*27, B*18" ve "B*27, B*51" olarak tespit edildi.

Sonuç: Normal populasyonda HLA-B*27 sıklığının %7 civarındadır. Bizim olgu popülasyonumuzda bu oranın % 50 olması, HLA B-*27'nin bu hastalıkların tanısını koymada kuvvetli bir belirleyici olduğunun ve kliniklerin doğru bir yaklaşımla HLA-B*27 tetkiki istediklerinin göstergesidir. Bu çalışmada istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmasa da, erkek grubunda, kadın grubuna göre HLA-B*27'nin daha sık gözlenmesi diğer çalışma sonuçlarıyla da uyumaktadır.

GSTM1 VE GSTT1 GEN POLİMORFİZMLERİ BÖBREK HASTALIĞI İÇİN BİR RİSK FAKTÖRÜ MÜDÜR?

**S. BAYRAKTAR 1, B. BATAR 1, M. GÜVEN 1, M. R. ALTIPARMAK 2, A. TUNÇKALE 2,
S. TRABULUS3**

1 İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

2 İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD, İSTANBUL

3 SB İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İSTANBUL

Giriş:Böbrek hastalığının gelişiminde vücudun bağışıklık sistemindeki değişimlerin yanı sıra oksidatif stresin de önemli bir rol oynadığı ileri sürülmektedir. Ayrıca diyaliz hastalarında, diyalizle birlikte reaktif oksijen türlerinin oluşumunda artış ve major antioksidan sistemlerde azalma görülmektedir. Reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerine karşı savunma sistemlerinden biri glutatyon detoksifikasyon sistemidir. Bu sistemde, glutatyon S-transferazların (GST) önemli rol oynadığı bilinmektedir.

Amaç: Çalışmamızda, GSTM1 ve GSTT1 polimorfizmlerinin böbrek yetmezliğinin gelişimindeki rollerini belirlemeyi amaçladık. **Yöntem:** Multiplex polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak böbrek yetmezliği olan 44 hemodiyaliz ve 61 peritoneal diyaliz hastasında ve 134 sağlıklı kişiden oluşan kontrol grubunda GSTM1 ve GSTT1 gen polimorfizmlerinin analizi yapıldı.

Bulgular: GSTM1 ve GSTT1 gen polimorfizmleri açısından hemodiyaliz ve peritoneal diyaliz hastaları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında genotip dağılımında istatistiksel olarak herhangi bir fark gözlenmedi ($p>0,05$).

Sonuç: Çalışmamızda GSTT1 ve GSTM1 gen polimorfizmlerinin böbrek hastalığının gelişimi için genetik bir risk faktörü oluşturmadığını tespit ettik.

AİLEVİ AKDENİZ ATEŞİ ÖN TANISI İLE BAŞVURAN 202 OLGUNUN MEFV GENİ MUTASYONLARININ İNCELENMESİ

M. SOLAK 1, S. H. YILDIZ 1, **M.Ö. ERDOĞAN 1**, R. KÖKEN 2, B. ESER 1, N. EVİRGİN 1

1 Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,
2 Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD,
AFYONKARAHİSAR

mozdemir1977@gmail.com

Amaç: Ailevi Akdeniz Ateşi (AAA) klinik olarak tekrarlayan karın ağrısı, ateş, eklem ağrıları ve deri döküntüleri ile karakterize olup, otozomal resesif kalıtım kalıbı gösteren bir hastalıktır. Pýrin proteinini kodlayan MEFV gen mutasyonlarının AAA hastalığının etyolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Yapılan bu çalışmada Tel-Hashomer Kriterleri'ne göre AAA tanısı almış 202 olgunun MEFV genine ait en sık rastlanan 5 mutasyon açısından incelenmesi ve genetik veriler ile klinik ve demografik özelliklerin retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntem**

Çalışmada, Şubat 2005 - Mart 2007 tarihleri arasında Tel-Hashomer Kriterleri'ne göre AAA ön tanısı ile refere edilen 202 olguda MEFV genindeki M680I, M694V, M694I, V726A ve E148Q mutasyonları PCR-ELİSA yöntemi kullanılarak incelenmiştir.

Sonuçlar: Saptanan mutasyonlar sıklık sırasına göre M694V, E148Q, M680I, V726A, M694I idi. Mutasyonu olan hastalarda 45'inde (%22.2) homozigot, 103'ü (% 51) heterozigot, 52'sinde (%25.8) birleşik heterozigot, 2'sinde (%1) kompleks alleler saptandı.

En sık gözlenen klinik semptom karın ağrısı (%80.4) idi. Karın ağrısından sonraki klinik semptomlar ateş (%57.8), eklem ağrısı (%36.7), göğüs ağrısı (%4.5), döküntü (%2) olarak saptandı. Yedi hastada amiloidoz vardı. Amiloidozu olan hastaların 5'inde M694V homozigot, 1'inde E148Q heterozigot, 1'inde M694V/M694I tespit edildi.

Tartışma: AAA, ülkemizde sık görülen ve ayırıcı tanıda güçlük yaşanan bir hastalık tablosudur. Son yıllarda AAA tanısında moleküler genetik yöntemler önem kazanmıştır. Biz de bu çalışmada Türk toplumunda yüksek taşıyıcılık gözlenen MEFV genine ait 5 mutasyonun yüksek oranını gözlemledik.

METHOTREXATE TEDAVİSİ GÖREN ROMATOİD ARTRİTLİ HASTALARDA METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ (MTHFR) GEN POLİMORFİZMLERİNİN İLAÇ TOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

A. TETİK 1, G. KESER 2, V. İNAN 2, Z. EROĞLU 1

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji 1, Romatoloji 2 Bölümü, İZMİR

Romatoid artrit (RA) tüm dünya popülasyonlarını etkileyen, kronik, inflamatuvar ve sistemik bir hastalıktır. Tedavisinde en yaygın olarak kullanılan antiromatizmal ilaç, hastalık modifiye edici özelliğe sahip Methotrexate (MTX)' dir. Ancak yapılan gözlemler MTX kullanan hastaların hepsinde ilacın aynı derece de etkili olmadığını, bazı hastalarda beklenen yanıt gözlenirken, bazı hastalarda birtakım komplikasyonların oluşmasına neden olduğu ve dolayısıyla bu hastaların ilaç tedavisine devam edemedikleri belirtilmektedir. İlaça karşı oluşan bu farklı yanıtların, çevresel faktörlere bağlı olabileceği düşünülse de bundan başka genomik farklılıkların etkili olduğu ileri sürülmektedir. MTX, folik asit antagonisti olan ve etki mekanizması hala tam olarak bilinmeyen homosistein-metionin yolağındaki birçok metabolik yolakta etkili olan bir ilaçtır.

MTX tedavisinde, folat metabolizmasında yer alan enzimleri kodlayan genlerde meydana gelen polimorfizmlerin hastaların ilaca verdikleri farklı yanıtlarla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Folat metabolizmasında pek çok enzim bulunmakla birlikte bunların içinde en önemli olan enzim Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) gen ürünü olan ve homosisteinin metionine remetilasyonunu sağlayan Metilentetrahidrofolat Redüktaz (MTHFR) enzimidir.

Bugüne kadar MTHFR geninde pek çok polimorfizm saptanmış ve bunların içinden C677T ve A1298C gen polimorfizmlerinin en yaygın polimorfizmler olduğu belirlenmiştir. Bu polimorfizmler, hem enzim aktivitesinin hemde dolaylı olarak folat metabolizmasında 5-metil tetrahidrofolat seviyesinde azalmaya ve homosisteinin metiyonine dönüşmemesi nedeniyle plazmadaki homosistein seviyesinin artışına neden olmaktadır.

Bu çalışmada, MTX tedavisi gören romatoid artrit hastalarda MTHFR C677T ve A1298C gen polimorfizmlerinin belirlenmesi ve bu polimorfizmlerin toksisite gelişimi üzerinde etkili olup olmadığının incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışma grubu 53 RA tanılı hastadan kontrol grubu ise 50 sağlıklı bireyden oluşturulmuştur. Laboratuvar çalışmasının ilk aşamasında hasta ve kontrol grubuna ait tüm olgulardan alınan kan örneklerinde High-pure template DNA izolasyon kiti kullanılarak DNA izolasyonları yapılmıştır. Daha sonraki aşamada ise real-time online PCR yöntemi yardımıyla oluşan erime eğrisi pik derecelerine göre MTHFR C677T ve A1298C genotipleme homozigot wild type, homozigot mutant ve heterozigot olarak belirlenmiştir. Sonuçlar: MTHFR C677T gen polimorfizmleri kontrol ve çalışma grubunda sırasıyla (%56 CC, %42 CT, %2 TT) (%40 CC, %46 CT, %14 TT) olarak ve A1298C gen polimorfizmleri ise (%42 AA, %40 AC, %18 CC) (%42 AA, %50 AC, %8 CC) olarak belirlenmiş ve genotipler arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir.

KEMİK İLİĞİ TRANSPLANTASYONUNA HAZIRLANAN HASTALARDA VE DONÖRLERİNDE REKOMBİNASYON SIKLIĞI

Y. SEYHUN, Ç. KEKİK, G. KARAHAN, F. OĞUZ, M. ÇARİN.

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

Amaç: HLA (İnsan Lökosit Antijenleri) antijenlerinin özelliklerinden biri de yüksek polimorfik özellikler göstermesidir. HLA-A,-B,-DR antijenlerinden her insanda iki adet bulunmaktadır ve her biri ebeveynlerden aktarılmaktadır. Bu geçişler genellikle "haplotip" olarak ve gen bloğu şeklindedir. Aynı kromozom üzerinde bulunan alellerin mayoz bölünme ile aktarılması sırasında "crossing-over" meydana gelirse karşımıza farklı bir haplotip ortaya çıkar. "Rekombinasyon" olarak tanımlanan bu değişiklik, farklı haplotipe sahip bireyden sonra gelen kuşaklara aynı şekilde aktarılır. Çalışmamızın amacı rekombinasyon varlığını ortaya koymak, sıklığını saptamak ve hastalıklarla ilişkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi HLA Doku Tipi Laboratuvarına, 2000-2006 yılları arasında HSCT için başvuran hasta (n:1035) ve donörleri (n:5485) çalışmaya alınmış ve HLA tiplendirme sonuçları ve HLA aktarımları değerlendirilmiştir. Hastaların anne, baba ve kardeşleri donör grubunu oluşturmaktadır. HLA-A,-B tiplendirmesi, mikrolenfositotoksitesite yöntemi ile HLA-DR tiplendirmesi ise moleküler yöntem ile gerçekleştirildi. Her aile için, sonuçlar pedigree kullanılarak değerlendirildi ve olası dört haplotip belirlendi. Haplotip geçişlerine uygunluk göstermeyen olgular rekombinasyon açısından değerlendirildi. Moleküler yöntem ile "doğrulama testleri" yapıldıktan sonra rekombinasyon tanısı konuldu.

Sonuçlar: 1035 ailenin 12'sinde (%1.16) rekombinasyon saptandı. Bu rekombinasyonların beşi (%42) hastalarda, yedisi ise sağlıklı donörlerinde saptandı. Rekombinasyonlara en sık HLA-A bölgesinde (n:8) karşılaşıldı. Rekombinasyonlar, kendiliğinden gerçekleşen bir olay olsa da, rekombinasyon saptanan ailelerde karşılaşılan hastalıkları incelediğimizde, ALL (n:2) ve AML (n:2) tanısı konmuş hastalarda ve ALL tanısı konmuş hastaların donörlerinde (n:3) rekombinasyonun daha sık gözlemlendiğini tespit ettik.

Tartışma: Hematolojik malignitelerde olduğu gibi sağlıklı bireylerde de karşımıza çıkabilen rekombinasyonlar, toplumda görülme sıklığının az olması nedeniyle dikkatli incelenmelidir. Rekombinasyonların herhangi bir hastalık ile ilişkili olduğu bildirilmemiştir.

AKUT MİYELOİD LÖSEMİDE KROMOZOM ANORMALLİKLERİNİN SIKLIĞI YAŞLA VE CİNSİYETLE DEĞİŞİR Mİ?

K ÖZDİLLİ 1, F. AYDIN 2, , S. KALAYOĞLU 3, A. E. ÖNAL 4, S. TEMURHAN 2, GE KARAHAN 2, M. ÇARİN 2, G. GEDİKOĞLU 5

1 Türkiye Haliç Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
2 İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,
3 İstanbul Tıp Fakültesi, Hematoloji Bölümü,
4 İstanbul Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı AD,
5 Bizim Lösemili Çocuklar Vakfı, İSTANBUL

Giriş ve amaç: Akut miyeloid lösemi (AML) kemik iliği ve kanda olgunlaşmamış non-lenfositik hücrelerin birikimi ve lösemik transformasyonu ile karakterize bir hastalıktır. AML olgularının % 70-80'inde kromozom anormalliklerinin varlığı bildirilmiştir. AML olgularında çeşitli kromozom değişikliklerine ilaveten kemoterapiden sonra veya mutasyona neden olan çevresel faktörler varlığında en çok gözlenen anormallikler monozomi 7, del 5q, del 3q, del 11q, del 12p, del 7q ve t(1;7)'yi içerir. Beşinci ve 7. kromozomlardaki anormalliklerin miyelodisplastik sendromdan (MDS) AML'ye taşındığı yorumu yapılabilir. Beşinci ve 7. kromozomlarda sayısal ve yapısal anormalliklerin AML'de kötü prognoz göstergeleri olduğu kabul edilmektedir. Çalışmanın amacı hasta grubumuzda; cinsiyet, yaş, trizomi 8, -7/del7q, ve -5/del5q aberasyonlarının görülme sıklığını incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Retrospektif olarak gerçekleştirilen bu çalışmaya, İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'na 1999-2005 yılları arasında gönderilen 40 AML olgusu ile bir MDS tanılı hasta alınmıştır. Tüm hastalar trizomi 8 açısından değerlendirilirken bu hastaların 34'ü de -7/del7q, ve -5/del5q açısından floresan in situ hibridasyon (FISH) yöntemiyle araştırılmıştır.

Sonuçlar : FISH yöntemiyle yapılan bu retrospektif çalışmada 41 hastada (K/E: 17/24; yaş ortalaması. $31,73 \pm 17,55$ yıl) trizomi 8 araştırılmıştır. On dokuz hastada (K/E: 10/9) trizomi 8 olan hücrelerin yüzdesi %5-89 arasında olarak saptanmıştır. Ayrıca -7/del 7 q ve -5/del5q açısından değerlendirilen üç hastada monozomi 7, üç hastada trizomi 8'e ilaveten del 7 q ve 2 hastada da monozomi 5 saptanmıştır.

Tartışma: Trizomi 8 AML'de en sık rastlanılan anomali olup tek başına bulunması durumunda orta derecede bir prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bizim olgularımızda da trizomi 8 en sık rastlanan kromozom anormalliği olmuştur (%46.3). Ancak AML olgularında yaş, cinsiyet ve trizomi 8 varlığı arasında anlamlı bir korelasyon saptanamamıştır. M3 hariç AML alt tiplerinde görülebilen -7 ve -5 kötü prognoz göstergesi olduğu bildirilmektedir. Bizim hasta grubumuzda bu anomalilerin nisbeten az sıklıkta olduğu belirlenmiştir.

KAYNAK DUMANI VE GAZLARINA MARUZ KALAN PASLANMAZ ÇELİK KAYNAKÇILARININ LENFOSİTLERİNDE ARTAN MİKRONUKLEUS FREKANSI

N. İMAMOĞLU 1, H. ALTUNTAŞ DÖNMEZ 2, R. SARAYMEN 3

1 Erciyes Üniversitesi Halil Bayraktar Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu,

2 Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

3 Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, KAYSERİ

Amaç: Sanayide sıkça kullanılan kaynak yapımı sırasında duman ve gazlar ortaya çıkmakta ve kaynak işçileri de küçük metal partikülleri içeren bu duman ve gazlara sürekli olarak maruz kalmaktadırlar. Kaynak dumanı, Uluslararası Kansere Araştırma Kurumu tarafından insanlar için muhtemel karsinojen olarak sınıflandırılmıştır (Grup 2B). Bu nedenle, mesleki olarak kaynak dumanına maruz kalan kaynakçıların periferik lenfositlerinde mikronukleus (MN) yöntemi kullanılarak kaynak dumanının genotoksik etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bir mobilya fabrikasında çalışan 12 paslanmaz çelik kaynakçısı ve kaynak dumanına maruz kalmayan 12 eşleştirilmiş kontrol işçi çalışmaya alınmıştır. MN analizi, sitokalaz-B (Cyt-B) ile sitoplazma bölünmesi engellenmiş binükleer periferik kan lenfositlerinde MN'ler sayılarak gerçekleştirilmiş ve her bir kişi için 1000 binükleer hücrede MN rekansı hesaplanmıştır.

Suçlar: Kaynak dumanına maruz kalan kaynakçıların binükleer hücrelerindeki MN frekansının (3.51 ± 0.53) kaynak dumanına maruz kalmayan kontrol grubuna göre (1.37 ± 0.57) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($p < 0.001$).

Tartışma: MN analizi ile elde edilen sonuçlarımız, çeşitli küçük metal partikülleri içeren kaynak dumanına mesleki olarak maruz kalmanın insan periferik kan lenfositleri üzerinde enotoksik olabileceğine işaret etmektedir.

BOR MARUZİYETİNİN İNSANLAR ÜZERİNDEKİ GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

M. KORKMAZ 1, A. ÇEBİ 1, Z. UÇKUN 2, A. DUR 2, Y. DUYDU 2

1 Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, VAN

2 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji AD, ANKARA

Amaç: Bu çalışmanın amacı bora maruz kalan insanlardaki genotoksik etkileri araştırmaktır.

Yöntem ve Gereç: Borca zengin bölgede (Balıkesir-Bigadiç) yaşayan insanlardan periferik kan örnekleri alınarak sitogenetik değerlendirmeler için kardeş kromatid değişimi (sister chromatid exchange, SCE) ve mikroçekirdek (micronucleus, MN) test yöntemleri uygulanmıştır.

Tartışma ve Sonuç: Elde edilen sonuçlara göre, bora maruz kalan bireylerde SCE frekansı ($7,28 \pm 1,60$), kontrol grubuna ($9,50 \pm 1,83$) göre kontrollerden önemli derecede düşüktür (Mann Whitney U-test, $p < 0,05$). Aynı azalma bora maruz kalan bireylerdeki MN değerleri için de gözlemlendi. Bununla birlikte aradaki farkın istatistiksel anlamlı olmadığı görüldü (2 testi, $p > 0,05$). Bor maruz kalan ve kontrol grubundaki bireylerde MN değerleri sırasıyla $9,81 \pm 1,94$ ve $20,32 \pm 3,98$ olarak gözlemlendi. Sonuç olarak, bora maruz kalan grubun SCE frekansları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli derecede azalma gözlemlendi. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da bora maruz kalan bireylerde MN değerlerinin de daha düşük olduğu gözlemlendi. Bora maruz kalan bireylerdeki SCE ve MN değerlerinin kontrol grubundaki bireylerden düşük olması bor maruziyetinin çevresel ya da mesleki olarak maruz kalınan ve DNA hasarına sebep olabilen kimyasal maddelere karşı koruyucu bir etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bor, bor genotoksitesitesi, lenfositler, mikroçekirdek, kardeş kromatid değişimi.

TURNER SENDROMU TANISIYLA BAŞVURAN HASTALARDA GÖZLENEN SİTOGENETİK BULGULAR

Ş. YILMAZ 1, Y. TARKAN - ARGÜDEN 1, D. KURU 1, A. ÇIRAKOĞLU 1, S. G. GÜVEN 1, H. KURT 1, N. BİRİNCİ 1, İ. BAYAZIT 1, İ. M. GÜRSEL 1, S. EREN1, S. ARPAĞ 1, F. AYDOĞDU 1, E. PAŞALIOĞLU 1, M. SEVEN1, A. DEVİREN 1, S. HACIHANEFİOĞLU 1

1 İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

Turner Sendromu (Ulrich-Turner Sendromu) X kromozomu monozomisi ya da parsiyel delesyonu sonucu oluşur. Dünyada görülme sıklığı canlı doğan kız bebeklerde 1/2000 ile 1/5000 arasında değişmektedir. Sendromda gözlenen ana klinik bulgular yeni doğan döneminde lenf ödem ve yele boyun ve daha ileri yaşlarda ise kısa boy, fibröz gonadlar, düşük ense sağ çizgisi, kubitis valgus ve diğer somatik anomalilerdir. Turner Sendromu ayırıcı tanısında kromozom incelemesi önemli bir yer tutar. Bu çalışmada Turner Sendromu öntanısı, boy kısalığı, primer veya sekonder amenore nedeniyle sitogenetik inceleme için birimimize gönderilen 278 olguda gözlenen cinsiyet kromozom anomalileri sunulmaktadır. Toplam 68 vakada X kromozomuna ait sayı ve yapı anomalileri (Tablo) gözlenmiştir. 39 olguda (%57.35) kromozom anomalileri tüm hücrelerde gözlenirken, 29 olguda (%42.64) ise mozaik olarak tespit edilmiştir.

Gözlediğimiz X kromozom anomalileri ve sıklıkları:

- 45,X (%41.17)
- 46,X,i(Xq) (%14.70)
- 45,X/46,X,i(Xq) (%13.23)
- 45,X/46,X,+mar (%11.76)
- 45,X/46,XX (%2.94)
- 45,X/46,XY (%2.94)
- 45,X/46,X,del(Xp) (%2.94)
- 46,X,del(Xp) (%1.47)
- 45,X/46,X,del(X)(p?;q?) (%1.47)
- 45,X/46,X,+r(?) (%1.47)
- 45,X/47,XXX (%1.47)
- 45,X/47,XXX/46,XX (%1.47)
- 45,X/46,X,i(Xq)/47,X,i(Xq),i(Xq) (%1.47)
- 45,X,t(7;14)(q36;q13)/46,X,i(Xq),t(7;14)(q36;q13) (%1.47)

Serimizde en sık gözlediğimiz 45,X ve 46,X,i(Xq) karyotiplerindeki olgular literatürde de en sık bildirilen gruplardır. Olgularımızda üçüncü sıklıkta %13.23 oranında gözlediğimiz mos45,X/46,X,i(Xq) karyotipli olgular literatürde ~%5 oranında bildirilmektedir. Buna karşın, %2.94 oranında saptadığımız mos45,X/46,XX kromozom yapısındaki olguların literatürde %15 oranında görüldüğü bildirilmektedir. Serimizdeki

45,X,t(7;14)(q36;q13)/46,X,i(Xq),t(7;14)(q36;q13) karyotipi taşıyan olgu, monozomi X ve izokromozom Xq açısından mozaik olmasının yanısıra t(7;14)'te taşımaktadır. Yaptığımız literatür çalışması sonucunda bu anomalilerin tümünü taşıyan başka bir olguya rastlanmamıştır.

TERBİNAFİNİN KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİM METODU İLE İN-VİTRO İNSAN LENFOSİT KÜLTÜRLERİNDE ETKİLERİ

İ. BAYEL, N. ARAS ATEŞ 1, A. ÇELİK 2, E. DERİCİ 1, A. ÖZÇİMEN 2

1 Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,
2 Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, MERSİN

naras@mersin.edu.tr

Amaç: Bu çalışmada insan lenfosit kromozomlarında kardeş kromatid değişimi (KKD), replikasyon indeksi (RI) ve mitotik indeksi (MI) oranlarının karşılaştırılmasıyla, bir antifungal ajan olan allilamin grubundan terbinafinin etkilerinin araştırılması planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada, terbinafinin 3 ayrı konsantrasyon ($1\mu\text{g/ml}$, $0.1\mu\text{g/ml}$, $10\mu\text{g/ml}$) düzeyi ile negatif ve pozitif kontrol kullanılarak KKD, RI ve MI oranları karşılaştırılmıştır. Bu amaçla 5 bireyden periferik kan örnekleri alınmıştır ve lenfosit hücre kültürleri yapılmıştır. KKD analiz yöntemi uygulanarak KKD, RI ve MI oranları incelenmiştir. Bu sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde tekrarlanan ölçümlü varyans analizi kullanılmıştır.

Sonuçlar: In-vitro insan lenfosit kültürlerinde terbinafinin KKD, RI ve MI oranları üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0.05$).

Tartışma: Bu çalışmanın in vivo çalışmalarıyla desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: Terbinafin, KKD, DNA, MI, RI.

AİLESEL 14/21 ROBERTSON TİPİ TRANSLOKASYON**D. ORAL , M. N. ALP, T. BUDAK**

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, DİYARBAKIR

Parental kromozom yenisidendenlenmelerinin tekrarlayan abortus, ölü doğum ve doğumsal malformasyonlu çocukların oluşmasında önemli bir etken ve daha sonraki gebelikler için de önemli bir risk anlamı taşıdığı kabul edilmektedir.

Reprodüktif öyküsünde iki abortus bulunması nedeni ile sitogenetik çalışma için Anabilim dalı laboratuvarımıza refere edilen çiftte kromozom analizi yapılmıştır. Bunun için periferik kan kültürü yöntemi uygulanmış, hazırlanan preparatlar Giemsa-bantlama tekniği ile boyanarak her birey için 20-30 metafaz plağındaki kromozomlar sayısal ve yapısal düzensizlikler yönünden değerlendirilmiş ve en az 10 metafazdan karyotip yapılmıştır. Değerlendirme sonucunda çiftteki kadın eşte dengeli Robertson tipi translokasyon [45,XX,der(14;21)(q10;q10)], erkek eşte normal kromozom kuruluşu (46,XY) saptanmıştır.

Translokasyonun orijinini belirlemek amacı ile probandin ulaşılabilinen akrabalarında çalışma gerçekleştirilmiş, ailenin 3 kuşağında aynı translokasyon taşıyıcısı 5 ve 2 kuşağında da translokasyon tipi Down sendromu karyotipli [46,XY,der(14;21)(q10;q10), +21] 3 birey saptanmıştır.

Ailede gözlenen abortusların ve trizomik bireylerin dengeli Robertson tipi translokasyon taşıyıcıların dengesiz gamet oluşturma yönünden anlamlı oranda artmış riske sahip olmalarından kaynaklandığı düşünülmüştür.

47, XXY/46, XY KARYOTİP KURULUŞUNA SAHİP MOZAİK KLİNEFELTER SENDROMLU İNFERTİL OLGU

N. ÖZÇELİK 1, P. ASLAN - KOŞAR 1, A. ALTUNBAŞAK 1, A. KOŞAR 2

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, ISPARTA

Giriş: Azosperminin en sık karşılaşılan genetik nedenlerinden birisi Klinefelter sendromudur. Olguların yaklaşık %14'ünü oluşturur (Tüm insidans 1:500 erkek). Bu kromozom sayısı anomalisinde erkeklerin %90'ından çoğu, fazla bir X kromozomu taşımakta (47, XXY), %10'u ise XXY/XY kromozom kuruluşlarının, karışımının mozaizmine sahiptir.

Gereç-Yöntem: IVF kliniğine başvuran ve azospermi tespit edilen hastadan kan alınarak, periferik kan lenfositlerinde, klasik sitogenetik yöntemler kullanılarak kromozom anomali taşıyıp taşımadığı araştırılmıştır.

Bulgular: Fenotipik olarak normal olan ve sekonder seks karakter özelliklerini taşıyan azospermili hastanın GTG bantlama sonucu 46,XY/47,XXY kromozom kuruluşlarının mozaizmine sahip olduğu bulunmuştur.

Sonuç: Son derece düşük mozaizim oranına sahip hastaların genetik tanısında, sitogenetik çalışmaların moleküler sitogenetik çalışmalarla desteklenmesi mozaizmin gerçek oranını belirlemede yararlı olacaktır.

IVF KLİNİĞİNE BAŞVURAN 46, XY/46, XX/45, XO/47, XXY/ 48, XXXY KARYOTİP KURULUŞLARININ MOZAİZMİNE SAHİP İNFERTİL ERKEK OLGU

P. ASLAN - KOŞAR 1, N. ÖZÇELİK 1, E. SAKALLI ÇETİN 1, A. KOŞAR 2

1 Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,
2 Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji AD, ISPARTA

Giriş: Erkek infertilitesine yol açan nedenlerin bazıları sonradan olduğu halde bir kısmı genetik bozukluklar ile ilgilidir. Araştırmalarda azospermik erkeklerin %15'inde, oligospermik hastaların %5'inde ve normal sağlıklı erkeklerin ise %1'inde kromozom anormalliği olduğu gösterilmiştir. İnfertil erkekler ile yapılan çalışmalarda bulunan kromozom anomalilerinin yarısını Klinefelter sendromunun oluşturduğu görülmüştür.

Gereç-Yöntem: Hastadan alınan periferik kan klasik sitogenetik yöntemler ile kültüre edilerek GTG bantlama yöntemi ile analiz edilmiştir. Mozaiklik yüzdesini belirleyebilmek için preparatlara FISH tekniği uygulanmıştır.

Bulgular: GTG bantlama sonucu hastanın 46, XY/46, XX/45, XO/47, XXY/ 48, XXXY karyotip kuruluşlarının mozaizmine sahip olduğu bulunmuştur. Düşük mozaizm oranı FISH ile belirlenmiştir.

Sonuç: IVF uygulaması için kliniğe başvuran azospermik ve şiddetli oligospermik hastalarda kromozom anomalisinin olup olmadığı sitogenetik ve moleküler sitogenetik yöntemler ile belirlenmelidir.

**SULU TARIMLA AKTİF OLARAK UĞRAŞAN VE PESTİSİT UYGULAYAN
BİREYLERİN KAN ÖRNEKLERİNDE KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ (KKD)
SIKLIĞI VE ÖKSE OTU (*Viscum album L.*) EKSTRAKTLARININ KKD
ÜZERİNE ETKİSİ**

N. ÖZÇELİK, E. SAKALLI ÇETİN, P. KOŞAR

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, ISPARTA

Amaç: Yüzyıllardır tedavi amaçlı kullanılan ökse otundan (*Viscum album L.*) elde edilen ekstraktlar, 1926'dan itibaren Avrupa'da kanser tedavisine yardımcı olarak kullanılmaktadır. Pestisitlerin uzun süreli kullanımı ve tarımla uğraşan bireylerin bunlara uzun süreli maruz kalması, karsinogenik ve mutajenik risk faktörlerini toplumsal bir sağlık sorunu haline getirmektedir. Periferal kan lenfositlerinde kardeş kromatid değişim (KKD) analizi potansiyel çevresel mutajenlere maruz kalmayı tanımlamada kullanışlı bir yöntemdir. KKD sıklığı, sitogenetik hasarın ve mutajenitenin hassas ve spesifik göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda sulu tarımla aktif olarak uğraşan bireyler üzerinde KKD sıklığı araştırıldı. Bu amaçla pestisit uygulayan gönüllü 30 kişiden (Grup I) alınan kan örneklerindeki KKD sıklığı ile yine aynı yörede yaşayan ve pestisit uygulamayan kontrollerin (n=30) (Grup II) KKD sıklığı karşılaştırıldı. Ayrıca pestisit uygulayan grubun kan örneklerine *Viscum album L.*'un üç farklı alt türüne ait ekstraktlar [Helixor P (Grup III), Helixor A (Grup IV), Helixor M (Grup V)] eklenerek, ekstraktların KKD sıklığı üzerine etkisi araştırıldı.

Bulgular: Ortalama KKD değeri pestisit uygulayan vaka grubunda $10,4 \pm 1,0$, kontrol grubunda ise $6,1 \pm 1,3$ olarak tespit edildi. Her iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0,001$). KKD değeri III. grupta $6,5 \pm 1,1$, IV. grupta $6,6 \pm 1,3$, V. grupta $7,2 \pm 2,2$ olarak saptandı. Grup I'in KKD değeri, Grup III, Grup IV ve Grup V'in KKD değerleri ile ikili olarak karşılaştırıldığında, üç grup için de KKD değerleri arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0,001$).

Sonuç: Bulgularımız pestisit uygulayan bireylerin KKD sıklığının kontrollere oranla önemli ölçüde yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda uygulanan dozdaki *Viscum album L.* ekstraktlarının KKD'ndeki artışı önleyici etkisinin olduğu gözlenmiştir.

TİP 1 DİYABET GELİŞİMİNDE ROL ALAN TNF-RELATED APOPTOSIS INDUCING LIGAND (TRAIL) ÖLÜMCÜL VE YALANCI RESEPTÖRLERİNİN NORMAL İNSAN PANKREASINDAKİ SENTEZ PROFİLİ VE ARTAN APOPTOZİS İLE KORELASYONU

A. D. ŞANLIOĞLU 1, E. DİRİCE 1, Ö. ELPEK 2, A. F. KORCUM 3, M. K. BALCI 4, A. ÖMER 5, T. S. GRIFFİTH 6, S. ŞANLIOĞLU 1

1 Gen Tedavi Ünitesi ve Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

2 Patoloji, 3 Radyasyon Onkolojisi,

4 Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları, Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, ANTALYA

5 Section on Islet Transplantation and Cell Biology, Joslin Diabetes Center, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA

6 Department of Urology, University of Iowa, College of Medicine, Iowa City, IA, 52242, USA

Amaç: Son zamanlarda çıkan yayınlarda, FasL ve TNF-alfa gibi TNF ailesi üyeleri, Tip 1 diyabet gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Bu sitokinler, pankreatik beta hücrelerinin otoreaktif T hücreleri tarafından yıkımına aracılık eder. Başka bir TNF ailesi üyesi olan TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand (TRAIL) molekülünün ise, ailenin diğer üyelerinden farklı sitotoksik ve immunolojik özelliklerinin olduğu bildirilmiştir. TRAIL ekspresyonunun veya fonksiyonunun bloke edildiği çalışmalarda, Tip 1 diyabet gelişiminin hızlandığı gözlenmiştir. Bu çalışmada ise, TRAIL'ın Tip 1 diyabet gelişimindeki rolünün araştırılması amacıyla insan pankreas dokusunda TRAIL ligand ve reseptör ekspresyon profilleri araştırılmıştır.

Metod: Çalışmada 31 normal insan pankreas dokusunda TRAIL ligand ve reseptörlerine spesifik antikorlarla immunohistokimyasal analiz yapılmıştır. Apoptozisin belirlenmesi için Annexin V-FITC bağlanma deneyi ve TUNEL deneylerinden yararlanılmıştır.

Bulgular: Pankreasın asiner hücrelerinde TRAIL ligandının ve DR4'ün (ölüm reseptörü 4) ekspresyonunun yüksek olduğu gözlenmiş, bunun yanında düşük seviyede DR5 ekspresyonu belirlenmiştir. Duktal hücrelerin ise sadece TRAIL ve TRAIL yalancı reseptörlerini (DcR1, DcR2) sentezlediği gözlenmiştir. Benzer şekilde, Langerhans adacıklarında da TRAIL ve TRAIL yalancı reseptörlerinin sentezinin belirgin seviyelerde olduğu görülmüş, ölüm reseptörlerinin sentezinin ise minimal düzeyde kaldığı gözlenmiştir. Pankreasta yüksek TRAIL ekspresyonu ile apoptozis artışı arasında bir korelasyon belirlenmiştir.

Sonuç: Langerhans adacıklarında belirgin düzeyde TRAIL yalancı reseptör sentezinin gözlenmesi, bu reseptörlerin ölüm ligandı aracılı apoptozisten kaçışta rol oynayabileceğini göstermektedir. Bunun yanında, TRAIL ligand ekspresyonunun yüksek olması, sitotoksik T hücre saldırılarına karşı geliştirilen immun koruma mekanizmasının bir parçası olabilir.

İN VİTRO ORTAMDA TAURİN'İN İNSAN LENFOSİTLERİNE ETKİSİNİN KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

Y. SOYSAL 1, M. A. ERGÜN 2, M. N. İLHAN 2, C. AKAY 3, R. DÜNDARÖZ 3,
N. İMİRZALIOĞLU 1

1 Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD, ISPARTA

2 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD ve Halk Sağlığı AD,

3 GATA Farmakoloji ve Pediatri AD, ANKARA

Amaç: Taurin (2-aminoethane sulphonic asid) normalde bir çok memeli dokusunda ve özellikle lenfositlerde en bol bulunan, pek çok önemli fizyolojik aktivitesi olan serbest amino asittir. Merkezi sinir sisteminin fonksiyon görmesini ayarlama, hücre proliferasyonu, canlılık ve dokularda oksijenle uyarılmış hasarın önlenmesini içeren özelliklere sahiptir. İnek sütünden en önemli fark olarak insan sütünde Taurin seviyesi oldukça yüksektir. Çocukluk çağı karsinogenezi ve anne sütü ile beslenme arasında ters bir ilişki olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir. Çalışmamızda DNA'da hasar oluşturduğu bilinen bir maddeye karşı DNA kırıkları düzeyinde Taurinin koruyucu etkisinin olup olmadığını gösterilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışma grubu sekiz sağlıklı infanttan oluşmuştur. Heparinize edilmiş periferik kan lenfositlerine Taurin veya Mitomisin C (MMC) in vitro olarak eklenerek hücre kültürü yapılmış, kültür sonrası lenfositlerde kardeş kromatid değişimi oranları hesaplanmıştır.

Sonuçlar: Mitomisin C ile muamele edilen lenfositler ve edilmeyenler arasında, spontan ve MMC+Taurin ile muamele edilenler arasında, MMC ve MMC+Taurin ile muamele edilenler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($P=0.012$).

Tartışma: Bu sonuçlar göstermiştir ki insan lenfositlerinde in vitro ortamda Mitomisin C ile indüklenmiş kardeş kromatid değişiminde Taurin koruyucu rol oynamıştır. Bu bulgular ışığında bebeklerin anne sütü ile beslenmeleri sırasında aldıkları yüksek seviyede Taurin'in DNA hasarı ve malignensiye karşı koruyucu etkisi olabileceği değerlendirilmiştir.

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI DOĞUM ÖNCESİ TANI ÜNİTESİNDE İKİ YILIN SİTOGENETİK DEĞERLENDİRMESİ

S. SAVACI, Ş. YÜKSEL, E. YEŞİLADA, G. GÜLBAY, E. KAYGUSUZUOĞLU

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, MALATYA

Amaç: Bu çalışmada, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarında yapılan doğum öncesi tanı değerlendirmelerimiz sunulmaktadır.

Gereç ve Yöntem: 2005-2007 tarihleri arasında yüksek risk taşıdığı düşünülerek, fetal kromozom analizi yapılması istemi ile merkezimize yönlendirilen 246 olguya ait 232 amniyon sıvısı, 14 fetal kan örneğine ait bulgular değerlendirilmiştir. Amniyon sıvısı ve fetal kan örneğine ilişkin tanı endikasyonlarını risk tanımlanan üçlü tarama testi, ileri anne yaşı ve ailede anomali bebek öyküsü oluşturmuştur. Ayrıca 9 düşük materyaline de kromozom analizi yapılmıştır.

Sonuçlar ve Tartışma: Amniyon sıvısı değerlendirmeleri sonucunda 4 olguda (%1.72) sayısal kromozom anomalisi saptanmıştır. Bu olguların biri Turner (%0.43), üçü ise trizomi 21 (%1.29)'dir. Fetal kan örneğine uygulanan kromozom analizi sonucunda ise 1 olguda Trizomi 21 (%7.14) belirlenmiştir. Düşük materyallerine yapılan analiz sonucunda 3 olgunun (%33.3) 2'sinde trisomi 18 (%22.2), 1'inde ise (%11.1) mozaik trisomi 18 belirlenmiştir. Kromozom anomalisi saptanan olgularda kromozom anomalisi ile endikasyon ilişkisi değerlendirildiğinde sadece ileri anne yaşı endikasyonu ile uyumluluk ortaya konulmuştur.

İNFERTİLİTE NEDENİ ARAŞTIRILAN ERKEK OLGULARDA KLİNEFELTER SENDROMU

S. SAVACI, Ş. YÜKSEL, E. YEŞİLADA, G. GÜLBAY, E. KAYGUSUZUOĞLU

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, MALATYA

Amaç: Son yıllarda yapılan çalışmalarda erkek infertilitesinde genetik yapılanmanın önemli olduğu belirlenmiştir. Azospermi tanısı ile sitogenetik analiz yapılan erkekler arasında Klinefelter sendromuna oldukça sık rastlanılmaktadır. Tipik bir Klinefelter sendromlu birey uzun boylu ve önükoid'dir; testisler küçük olup jinekomastisi vardır. Testosteron düzeyleri nomalden düşük, FSH ve LH seviyeleri yükselmiştir. Ancak fenotipik olarak birçok farklılıkla karşılaşmaktadır. Bu gibi olgular daha çok infertilite ile ilgili araştırmalar yapılırken veya başka bir nedenle gerçekleştirilen sitogenetik çalışmalarda şans eseri saptanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Ekim 2004-Mayıs 2007 tarihleri arasında laboratuvarımıza azospermi ve primer infertilite tanısı ile refere edilen 81 olgunun fenotipik bulguları ile sitogenetik analiz sonuçları ile birlikte değerlendirilmiştir.

TEKRARLAYAN GEBELİK KAYIPLARI OLAN ÇİFTLERDE SİTOGENETİK SONUÇLAR

Ş. YÜKSEL, S. SAVACI, E. YEŞİLADA, G. GÜLBAY, E. KAYGUSUZUOĞLU

İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, MALATYA

Amaç: İki veya daha fazla gebelik kaybı, anomalili bebek riskini düşündürmektedir. Anomalilerin en önemli nedeninin dengeli translokasyon taşıyıcısı olan ebeveynlere ait gametler olduğu bilinmektedir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada, tekrarlayan gebelik kaybı olan çiftlerde kromozomal dengeli yeniden düzenlenmeleri araştırmak amacıyla 2004-2007 döneminde, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarına sitogenetik analiz yapılması için refere edilen 81 olgu değerlendirildi.

Sonuçlar ve Tartışma: Değerlendirme sonuçlarımıza göre 4 olguda yapısal yeniden düzenlenme belirlenmiştir (% 4.94). Olgulardan 3'ünde inversiyon 9, bir olguda ise robertsonian translokasyon [t(14;21)] bulunmuştur. Kromozom aberasyonu ve tekrarlayan düşüğü olan bu çiftler ebeveyn yaşı, akraba evliliği, anomalili bebek öyküsü bakımından tartışıldı ve sonuçlar literatür verileri ile karşılaştırıldı.

ROBERTSONİAN TİPİ 2 PATAU SENDROMU OLGUSUNUN PATOLOJİK SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

A. PAZARBAŞI 1, O. DEMİRHAN 1, D. S. KARAHAN 1, D. TAŞTEMİR 1, E. TUNÇ 1, İ. F. ÜRÜNSAK 2, D. GÜMÜRDÜLÜ 3

1 Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,
2 Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,
3 Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD, ADANA

Giriş: Homolog kromozomlar arasındaki yeniden düzenlenmeler çok nadirdir ve özellikle monozomik veya trizomik çocuklarda kendini gösterir. Patau sendromu, 47,+13 genotipi şeklinde serbest veya Robertsonian translokasyonu olarak 13. kromozomdan kaynaklanan ekstra materyal ile ilişkilidir. Trizomi 13 vakalarının yaklaşık %20'si, kromozom translokasyonu sonucu ortaya çıkar. Fiziksel bozuklukların doğru tahmin edilmesi ve tanımlanması, genetik problemin anlaşılmasını ve sendromun doğru tanımlanması için önemli ipuçları sağlayacaktır.

Amaç: De novo 13;13 Robertsonian translokasyonuna sahip iki trizomi 13'lü fötüsün klinik patolojik bulgularının karşılaştırılması ve translokasyonun etiyolojisi araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Kordon kanı ve amniyosentez sıvısında fötüsün kromozom analizleri ile ebeveynlerin periferik kan kültüründe kromozom analizleri, Ç.Ü. Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalımızda, Otopsi sonuçlarının değerlendirilmesi ise Patoloji Anabilim Dalında gerçekleştirildi.

Sonuçlar ve Tartışma: 24. gebelik haftasında anormal USG endikasyonu sonucu gelen 1.olgumuzun kordon kanı sitogenetik incelemesinde 46,XX,robt(13;13) karyotipi saptandı. Bebek doğduktan 1 ay sonra yaşamını yitirdi. Bebekte holoprosensefali, proboskis, mikroftalmi ve septal kalp defektleri tanımlandı. Kistik higroma, hidrotoraks ve hiperekojen böbrekler gibi anormal USG bulgusu ile 14. gebelik haftasında prenatal tanı için laboratuvarımıza gönderilen 2. olgumuzun amniyosentezinde; 46,XY,robt(13;13) karyotipi bulundu. Tahliye edilen fötüste; yarık dudak, ayaklarda postaksiyel polidaktili, mikrognatia, omfalosel, anormal helikse sahip düşük kulaklar ve gelişme geriliği saptandı.

Tartışma: Kromozom ayrılamamasına bağlı translokasyonlarda, kromozom yeniden oluşumlarındaki farklılıklara bağlı olarak, trizomi 13 de sık görülen çeşitli bozuklukların ekspresyonunda farklılıklar ortaya çıkabilir. Genetik danışma ile kalıtım, tekrarlama riski ve aile üyelerinin daha ileri genetik testleri için özgün bilgiler sağlanabilir.

Anahtar kelimeler: Trizomi 13, Patau sendromu, Robertsonian translokasyon.

İMATİNİB (GLEEVEC), KÜLTÜRE EDİLMİŞ PERİFERAL KAN LENFOSİTLERİNDE KROMOZOM KIRIĞINI İNDÜKLEMEDİR

G. G. AKAY 1, P. ÖZKAL 1, A. RÜSTEMOV 1, N. VAROL 1, D. AKÇORA 1, S. OSKAY 2, B. ALTINOK 2, A. KARADAĞ 1, T. ÖZKAN 2, D. ÖZTUNA 3, A. SUNGUROĞLU 1

1 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü,

3 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik AD, ANKARA

Amaç: Kronik myeloid lösemi (KML), hematopoetik kök hücrelerinin klonal neoplastik hastalığı olup kimerik BCR-ABL geni tarafından kodlanan P210 onkoproteini ile karakterize edilmektedir. P210 onkoproteininin spesifik inhibitörü olan imatinib kronik faz KML hastalarının tedavisinde kullanılmaktadır. Ph-negatif ve/veya pozitif klonlarda ilave kromozomal anomalilerin ortaya çıkması İmatinib ile KML tedavisinde karşılaşılan engellerin başında gelmektedir ve bu ilave kromozomal değişikliklerin nedeni henüz bilinmemektedir. Kromozomal kırılmaların, kromozomal yeniden düzenlenmelerinde mekanik rol oynayabileceği bilinmektedir. Bu çalışma, in vitro ortamda İmatinib'in kromozomal kırık oluşturma potansiyelini test etmek üzere planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: 20 sağlıklı bireyden elde edilmiş periferik kan örneği %10 fetal bovine serum, %1 penicillin-streptomycin içeren RPMI 1640 besiyerinde 37°C de, 72 saat kültüre edilmiş ve kültürler 24. saatte 0,5µM, 1µM ve 2µM İmatinib ile muamele edilmiştir. Her örnek için konvansiyonel sitogenetik yöntemi ile elde edilen 100 metafaz plağı kromozom kırıkları açısından değerlendirilmiştir. İmatinib ile muamele edilmemiş kültürler kontrol olarak kullanılmıştır. Kontrol grubuyla İmatinib ile muamele edilmiş grupların kromozom kırığı oranlarının karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ile analiz edilmiştir. 0.05 ten küçük P değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Sonuçlar: Kontrol grubu ve 0,5µM İmatinib ile muamele edilen örnekler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamaktadır. Bununla birlikte; 1µM ve 2µM İmatinib ile muamele edilmiş kültürlerde kontrol grubuna nazaran önemli derecede yüksek kromozom kırığı sıklığı saptanmıştır. Gruplar arasında kromozom kırığı yüzdeleri karşılaştırıldığında sonuç olarak; kontrol vs 0,5µM İmatinib, P=0,114; kontrol vs 1µM İmatinib, P=0,004; kontrol vs 2µM İmatinib, P=0,003 olarak bulunmuştur.

Tartışma: Bu ön sonuçlarımız; İmatinib'in kromozomal kırıkları indükleyerek yapısal kromozomal değişikliklere neden olabileceği yönünde potansiyel kanıtlar sağlamaktadır.

İLK TRİMESTER SPONTAN DÜŞÜKLERDE FETAL, MATERNAL VE PATERNAL SİTOGENETİK İNCELEMELER

E. TUNÇ 1, O. DEMİRHAN 1, C. DEMİR 2, D. TAŞTEMİR 1

1 Çukurova Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

2 Çukurova Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, ADANA

Amaç: Genetik değişimlerin tekrarlayan düşük riskini arttırdıkları ile ilişkili çok miktarda kanıt bulunmaktadır. Bu çalışmamızda kromozomal anomalilerin düşük olguları üzerine olan etkilerini, bir başka deyişle düşüklerde kromozomal anomali frekansını araştırdık. Yine düşüklerin ebeveynlerinde de kromozomal anomali frekansına baktık.

Gereç ve Yöntem: Toplam 41 düşük olgusunu ve bunların ebeveynlerini incelemeye aldık. Çalışmaya dahil ettiğimiz eşlerde 2-11 arası sayıda düşük vakası meydana gelmişti. Amacımıza uygun olarak koryonik villus ve fetal doku örneklerini kromozom analizine tabi tuttuk. Çalışmamızda G bantlama tekniğine dayalı standart sitogenetik metodu uyguladık.

Bulgular: Çalışmamızın sonunda, % 51 oranında büyük kromozomal aberasyonlar ve % 4.8 oranında da polimorfik varyantlar saptadık. Saptadığımız anomalilerin %34.4'ü yapısal %65.1'i sayısal anomali şeklinde idi. Sayısal anomalilerin %26.1'i fetal cinsiyet anomalileri, % 21.7'si triploidi, % 8.7'si mozaizizm ve % 8.7'si de trizomi şeklinde idi. Tüm anomalili olgularımız arasında %17.2 oranında dengeli olmayan, %8.6 oranında dengeli yeniden düzenlenme saptadık. İncelmeye aldığımız eşlerde % 4.9 oranında kromozomal anomali saptadık.

Sonuç: Fetal kayıpların ve tekrarlayan düşük olgularının daha çok sayısal kromozom anomalileri ile ilişkili olduklarını saptadık. Dengeli translokasyon oranını (tüm olgular içerisinde) % 4.9 olarak tespit ettik. Bu oran daha önceki çalışmalarda saptanan oranlar (%3-6) ile uyumludur. Yine saptadığımız bu oran genel popülasyonda gözlenen dengeli translokasyon oranından (% 0.3) daha yüksektir. Bu da, dengeli translokasyonların düşük olguları ile ilişkili olduklarını ortaya koymaktadır. Ebeveynlerde gözlenen büyük kromozomal aberasyonlar, düşük olguları ile kuvvetli bir ilişki göstermektedirler. Ayrıca gebelik kayıplarında mozaizizmin de bir etken olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Sonuç olarak klinik verilerle durumun açıklanamadığı tekrarlayan düşük olgularında ebeveynlerin sitogenetik analize yönlendirilmeleri önemlidir.

46,XY, t(2,5)(q23,q32) KARYOTİPLİ ERİŞKİN T-CELL ALL (AKUT LENFOİD LÖSEMİ) VAKASI

A. ALTUNBAŞAK, E. UZ, P. ASLAN - KOŞAR, H. R. YILMAZ, N. ÖZÇELİK

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, ISPARTA

Giriş: Hematopoetik sistemdeki anormal hücre proliferasyonu ile karakterize olan lösemilerin ALL tipi daha çok çocuklarda (%80) görülmekte, nadir olarak da (%20) erişkin lösemilerde gözlenmektedir. Hematopoetik sistemde klonal ve anormal hücre gelişimi gösteren lösemilerde; yaş, lökosit sayısı ve immün fenotiplendirme prognostik önem taşıyan parametrelerdir. Bunların yanında özellikle sitogenetik karyotiplendirme, moleküler sitogenetik ve moleküler teknikler yapısal düzensizliklerin değerlendirilmesi açısından önemlidir. Mevcut düzensizliklerin saptanması, bu düzensizlikler sonucu oluşan yeni genlerin ve gen ürünlerinin saptanmasına olanak sağlayacaktır. Bu durum olası yeni ürünlerin hastalığın prognozunu nasıl etkileyeceği hususunda hekimi hastanın takibine götürecektir.

Gereç-Yöntem: T-cell ALL vakasında yeni tanı anında, kemik iliği aspirasyonunda sitogenetik değerlendirme yapıldı, hastadan alınan periferik kan klasik sitogenetik yöntemlerle kültüre edilerek GTG bantlamayöntemi ile analiz edildi.

Bulgular: T-cell ALL vakasında yeni tanı anında kemik iliği aspirasyonunda yapılan sitogenetik değerlendirme sonucunda tüm sahalarda t(2;5) translokasyonu saptanmış, kemoterapi sırasında yapılan analizlerde de translokasyon devam göstermiştir. Periferik kan kültürlerinde de bu translokasyonun gözlenmesi translokasyonun konstitüsyonel olabileceğini göstermektedir.

Sonuç: Bu translokasyonla uyumlu ALL vakasına literatürde rastlanmamıştır. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesinde hala hastanın takibi yapılmakta olup, sitogenetik bir iyileşme olması ile tam iyileşme arasında bir bağlantı kemik iliği naklinden sonra değerlendirilebilecek bir durumdur.

JOUBERT SENDROMLU OLGULARDA KLİNİK, SİTOGENETİK VE MOLEKÜLER BULGULAR

**E. YOSUNKAYA FENERCİ, E. KARACA, M. SEVEN, A. DEVİREN,
S. HACIHANEFİOĞLU, J. GLEESON, A. YÜKSEL**

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpasa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

Joubert sendromu nadir, genetik bir hastalık olup, serebellar vermisin yokluğu veya az gelişimi ve beyin sapı malformasyonu ile karakterizedir. En sık rastlanan özellikler arasında ataksi, hipertermi, uyku apnesi gibi anormal solunum problemleri, anormal göz ve dil hareketleri, ve hipotoni bulunmaktadır. Fazla el ve ayak parmakları, yarık dudak veya damak, dil anomalileri ve kasılmalar gibi başka malformasyonlar da oluşabilmektedir. Hafif veya orta derecede mental retardasyon olabilir. Joubert sendromu tanısı koyduğumuz 13 kişilik hasta serimizde yapılan incelemeler sonucunda, bir olguda 46,XX, t(X;2)(p11.1;q37), bir diğerinde 46,XX, t(2;12)(q23;q21) karyotipi bulunmuştur. Bir başka hastada ise son zamanlarda Joubert sendromuyla ilişkilendirilen CEP290 genine ait yeni bir mutasyon tanımlanmıştır.

NON- OBSTRUKTİF AZOOSPERMİK ERKEKTE 3/21 TRANSLOKASYONU İLE 9 İNVERSİYONU BİRLİKTELİĞİ

M. SOLAK 1, T. FISTIK 1, M.Ö. ERDOĞAN 1, H. YILDIZ 1, B. ESER 1

1 Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, AFYONKARAHİSAR

betul_eser@yahoo.com

Amaç: Kompleks kromozomal düzensizlikler gametogeneze etkisi nedeniyle erkeklerde infertilite ya da subinfertiliteye neden olabilmektedir. Literatür taramasında olgunun nadir görülen bir kromozomal düzensizlik olan (3;21) translokasyonu ile perisentrik 9 inversiyonunu içermesi ve bu iki düzensizliği taşıyan ilk olgu olması nedeniyle genetik danışma sürecinde yararlı olacağı düşüncesiyle sunulması uygun görülmüştür.

Yöntemler: İnfertilite ön tanısıyla refere edilen olgunun sitogenetik ve moleküler genetik analizleri yapıldı. Kromozom analizi için fitohemaglutinin (PHA) ile indüklenmiş periferik kan lenfositleri kullanıldı. Elde edilen preparatlara Giemsa-Trypsin-Leishman (GTL) bantlama yöntemi uygulandı. İncelemeye alınan olgunun ayrıca Yq11'de yer alan AZFa (sY81, sY82, sY84), AZFb (sY127, sY142, sY164, RBM1), AZFc (CDY, BPY2, sY254, sY255, sY277), AZFd (sY145, sY152, sY153) bölgeleri mikrodelesyon açısından analiz edildi.

Bulgular: Sitogenetik analiz sonucunda olgunun kromozom kuruluşu 46,XY,t(3;21)(q23;q22), inv(9)(p21q21) olarak tespit edildi. Yq11'de yer alan 15 STS bölgesinin analizinde herhangi bir mikrodelesyona rastlanmadı.

Sonuç: Olguda var olan kromozomal düzensizliğin spermatogenezisi etkileyerek azoospermiye ve sonuç olarak infertiliteye neden olduğu görüşündeyiz.

KONJENİTAL HİDRONEFROZİSLİ YENİ DOĞAN BİR OLGUNUN FETAL İDRAR ÖRNEĞİNDEN PRENATAL OLARAK SAPTANAN VE ÜÇ KUŞAK BOYUNCA GÖZLENEN PERİSENTRİK İNVERSİYON 7'NİN KALITIMI

O. DEMİRHAN 1, K. ÖZCAN 2, D. TAŞTEMİR 1, C. DEMİR 3, E. TUNÇ 1,
H. A. Solğun 4, A. İ. GÜZEL 1

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
1 Tıbbi Biyoloji ve Genetik,
2 Yenidoğan,
3 Kadın Hastalıkları ve Doğum,
4 Pediatri AD, ADANA

tdeniz@cu.edu.tr

Amaç: Bu çalışmadaki amacımız, geniş bir ailede tekrarlayan düşüklerle neden olan, üç kuşak boyunca gözlenen ve bir vakada konjenital hidronefroze neden olduğu düşünülen perisentrük inversiyon 7'nin kalıtımını incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda fetal idrar ve periferik kan lenfositlerinden standart sitogenetik yöntemler kullanılarak olgunun ve aile bireylerinin kromozom analizleri yapıldı. **Sonuçlar:** 7'nci kromozom üzerinde geniş bir perisentrük inversiyon bölgesi taşıyan ailede konjenital hidronefrozi olan olgunun karyotipi 46,XY,inv(7)(p22;q22) olarak bulundu. Bunun yanı sıra probandin annesi, dayısı, dedesi ve dedesinin kardeşi ile kızının da aynı inversiyonun taşıyıcısı oldukları belirlendi.

Tartışma: Bu vaka, 7. kromozomun kısa ya da uzun kolu üzerinde (7p22-q22) olduğu düşünülen bir bölgenin, fetal dönemde böbrek hücre çoğalmasının kontrolünde önemli bir fonksiyonu olduğunu doğrulamaktadır. Inv(7), fetus kayıplarıyla da ilişkili bulunmuş olup, ayrıca ailelerde gözlenen düşüklerin etiyolojisinde de önemli bir rol oynamaktadır. Kromozom anomalisi olan çiftlerin saptanması, malformasyonu olan bebeklerin dünyaya gelmesini önlemeye yardımcı olabilecektir. Bu bulgular, ilerleyen dönemlerde, klinik genetik ve genetik danışmanlıkta geniş kapsamda kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Konjenital hidronefroze, tekrarlayan düşükler, fetal idrar, sitogenetik tanı, perisentrük inversion 7.

SPONTAN FRAKTÜR RİSKLİ JUVENİL OSTEOROPOZA SAHİP TURNER SENDROMLU OLGU SUNUMU

N. SAKAR 1, A. TÜRKYILMAZ 2, D. ORAL 2, T. BUDAK 2

1 Dicle Üniversitesi Tıp Fak Kadın Doğum Kliniği,

2 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Genetik AD, DİYARBAKIR

abbcan@dicle.edu.tr

18 yaşında, virgo olan olgu, hiç adet görememe ve boy kısalığı şikayetleri ile Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Doğum Kliniğine başvurdu. Hastanın boyu 137 cm, vücut ağırlığı 38 kg, bel çevresi 64 cm, tansiyon arterieli 120/70 mmHg, nabızı 84/dk olarak saptandı. Fizik muayenede memelerde sadece papillalarda yükselme izlendi ve meme gelişimi Tanner sınıflamasına göre evre 1 olarak belirlendi. Pubik kıllanma ise erişkin tipte olup uyluk iç yüzüne yayılma göstermiyordu ve tanner sınıflamasına göre evre 4 olarak değerlendirildi. Eksternal genitalya ve diğer sistem muayeneleri normal olarak saptandı. Psikolojik ve mental gelişimi normal olarak değerlendirildi. Rutin laboratuvar tetkikleri ile tiroid hormonları, prolaktin, IGFBP-3 seviyeleri normal olarak bulundu. Serum FSH 89.91 mIU/ml, LH 34.71 mIU/ml, estradiol 18.19 pg/ml, IGF-1 131 ng/ml idi. Hastanın kemik dansitometresi (Z-skor: -2.7) %31 oranında kemik mineral yoğunluğu kaybı ile ileri derecede artmış spontan fraktür riskli Juvenil Osteoropoz olabileceği kanısına varıldı. Doppler ekokardiografi ve odyometri normal olarak bulundu. Barr cisimciği pozitif (+), karyotipi 46,XX,i(X)(qter→q10::q10→qter) olan olgunun pelvik tomografide overleri izlenmedi. Uterusu rudimenter olarak saptandı. Siklik hormon replasman tedavisi verilen hastada menstrüasyon gerçekleşmedi.

t(6;8;21;17) GÖZLENEN BİR LÖSEMİ OLGUSU

D. KURU¹, A. ÇIRAKOĞLU¹, Ş. YILMAZ¹, Y. TARKAN - ARGÜDEN¹, S. G. GÜVEN¹,
Z. BAŞLAR², A. DEVİREN¹, S. HACIHANEFİOĞLU¹

¹ İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

² İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç hastalıkları AD, Hematoloji BD, İSTANBUL

dilhank@istanbul.edu.tr

Akut Myeloid Lösemi (AML) lerde rastlanan en yaygın sitogenetik anomali French-British-Amerikan (FAB) sistemine göre M2 alt grubunun sitogenetik bulgusu olan t(8;21) dir. Görülme sıklığı tüm AML'lerin %15'i ve AML M2 lerin %40'ıdır. 21q22'deki AML1 geni ile 8q22'deki ETO geninin translokasyonu sonucu AML1-ETO füzyon geni ve proteini oluşur. AML1-ETO gen ürünü hastalığın tanı ve tedavisinin izlenmesinde kullanılır. Bu translokasyonu taşıyan hastaların ilaç tedavisine yüksek cevap, iyi prognoz ve %85-90 oranında remisyon gösterdiği bildirilmektedir. t(8;21) bazen ilave kromozomların karıştığı kompleks translokasyonlar şeklinde de gözlenir. Bu oluşumlar varyant t(8;21) olarak adlandırılmakta ve nadir rastlanmaktadır. Varyant t(8;21) oluşumunda ilk aşamada basit t(8;21) değişiminin meydana geldiği daha sonra oluşan yeniden düzenlenmelerle ilave kromozomların olaya katıldığı bildirilmektedir. Basit t(8;21) genellikle konvansiyonel sitogenetik analizi ile belirlenirken, varyant translokasyonların tesbiti zorlaşmaktadır. t(8;21) ile birlikte erkeklerde Y, kadınlarda da X kromozomunun kaybı sıklıkla görülmektedir.

Bu çalışmada, Akut lökoz tanısıyla İ.Ü. CTF Hematoloji servisinde sitogenetik inceleme için birimize refere edilen, 38 yaşında erkek hastada gözlenen varyant t(8;21) sunulmaktadır. Olgumuza ait kemik iliği aspirasyon materyali overnight ve 24 saatlik kültür yapılarak çalışılmıştır. GTL bantlama yöntemiyle yapılan sitogenetik inceleme sonucunda 28 metafaz değerlendirilerek kompozit karyotip formülü;

43~45,X,-Y[21],t(6;8;21;17)(p22;q22;q22;q21)[21][cp21]/46,XY[5] şeklinde ifade edilmiştir. AML M2 tanısı alan hastaya kemoterapiye başlanmıştır.

t(8;21) ile beraber giden cinsiyet kromozomu kaybı bizim olgumuzda da tesbit edildi. Yapılan literatür araştırmasında, üç kromozomun karıştığı varyant t(8;21) olgularının bildirildiği gözlenirken, 4 kromozomun karıştığı translokasyona sahip olguya rastlanmamıştır. Kompleks translokasyona katılan 6 ve 17 numaralı kromozomların farklı kırık noktalarıyla tek tek yer aldığı üçlü varyant translokasyonlar bildirilmiştir. Olgumuzun taşıdığı kırık noktaları ve 4'lü t(8;21) translokasyonu nedeniyle literatüre katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

HABİTUEL ABORTUS VE MOZAİK X KROMOZOMLU İKİ OLGU

B. Ş. TURAL 1, N. KARA 1, İ. KOÇAK 2, G. ÖKTEN 1

1 Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,

2 Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, SAMSUN

stural@omu.du.tr

Amaç: X kromozomu mozaizminin kadınlarda üreme performansına etkisi incelenmektedir.

Gereç ve Yöntem: Standart periferik kan kültürü yöntemi ve tripsin giemsa bantlama (GTG) metoduyla çalışıldı.

Bulgular:

Olgu 1: 44 yaşında kadın hasta, bir sağlıklı kızından sonra tekrarlayan iki aylık üç spontan abortusu sebebiyle genetik analiz için laboratuvarımıza gönderilmiştir. Eşinin kromozom analizi sonucu normal bulunmuş olup, aralarında akrabalık bulunmamaktadır. Standart periferik kan kültürü ve tripsin giemsa bantlama (GTG) metoduyla çalışılarak incelenen 100 metafaz plağı sonucunda hastanın genotipi 46,XX(%96)/47,XXX(%4) olarak saptandı.

Olgu 2: 29 yaşında kadın hasta , birer aylık iki spontan abortusu sebebiyle laboratuvarımıza gönderilmiştir. Eşinin kromozom analizi sonucu normal bulunmuş olup, aralarında akrabalık bulunmamaktadır. Standart periferik kan kültürü ve tripsin giemsa bantlama (GTG) metoduyla çalışılarak incelenen 100 metafaz plağı sonucunda hastanın genotipi 46,XX(%85), 47,XXX(%15) olarak saptandı.

Sonuç: İncelediğimiz iki olgudaki benzer sitogenetik sonuçlar ile, X kromozomu mozaizminin kadınlarda üreme performansına etkisi vurgulanmaktadır.

Anahtar kelimeler: X kromozomu mozaizmi, Habituel Abortus

KOMPLEKS VARYANT PHILADELPHIA KROMOZOMLU BİR OLGU SUNUMU

Y. TARKAN - ARGÜDEN 1, A. ÇIRAKOĞLU 1, Ş. YILMAZ 1, D. KURU1, S. G GÜVEN 1,
Ş. ÖNGÖREN 2, A. DEVİREN 1, S. HACIHANEFİOĞLU 1

1 İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,
2 İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç hastalıkları AD, Hematoloji BD, İSTANBUL

KML'nin tipik sitogenetik bulgusu, olguların %90-95'inde gözlenen t(9;22)(q34;q11) sonucunda oluşan Philadelphia (Ph) kromozomudur. Olguların %5-10'unda ise 9q34 ve 22q11 noktalarının yanı sıra bir ya da daha fazla kromozomun katıldığı kompleks translokasyonlarla oluşan varyant Ph kromozomları gözlenir.

Olgu Sunumu: Ağustos 1993'te kalça ve bacaklarında morluklar başlayan 29 yaşındaki kadın hastaya CTF Hematoloji kliniğinde yapılan hematolojik testler sonucunda KML tanısı konulmuştur. Tanı konulduktan sonra uygulanan tedavi: İnterferon ve hidroksiürea (17 ay), hidroksiürea (~7 yıl), Glivec (~5 yıl). Tanıdan ~3,5 yıl sonra yapılan kemik iliği aspirasyonunun sonucu KML kronik faz ile uyumlu iken, bu tetkikten 9 yıl sonra yapılan kemik iliği aspirasyon bulguları ise akselere faz yönündeydi. Halen KML akselere faz olarak takip ve tedavi edilen hasta Hydrea ve ürikoliz kullanmaktadır.

Kemik iliği aspirasyon materyalinde yapılan sitogenetik tetkikler:

- İncelenen metafaz sayısı: 12; Ph(+) (sadece Ph kromozomu açısından değerlendirildi.) (Tanı aşaması)
- İncelenen metafaz sayısı: 4; Ph(+) (sadece Ph kromozomu açısından değerlendirildi.) (Tanıdan ~8,5 yıl sonra)
- İncelenen metafaz sayısı: 41; 29 metafaz Ph(+), 12 metafaz t(1;9;22;3)(q24;q34;q11;q21) translokasyonu sonucu oluşan varyant Philadelphia kromozomu (+) (varyant Ph %29) (Tanıdan ~10 yıl sonra)
- İncelenen metafaz sayısı: 11; 4 metafaz Ph(+), 7 metafaz varyant Ph(+) (varyant Ph %36) (Tanıdan 11 yıl sonra)
- İncelenen metafaz sayısı: 27; 4 metafaz Ph(+), 23 metafaz varyant Ph(+) (varyant Ph %85) (Tanıdan 12 yıl sonra)

Olgumuzda gözlediğimiz kompleks varyant Ph kromozom oranının yıllar içinde giderek artması dikkat çekicidir. 1. ve 3. kromozomların varyant Philadelphia kromozomlarında sık yer alan kromozomlar olduğu bilinmekle birlikte, yaptığımız literatür incelemesinde olgumuzda gözlediğimiz kompleks t(1;9;22;3)(q24;q34;q11;q21) bulgusuna rastlanmamıştır.

ÇİFTE ANÖPLOİDİ GÖSTEREN (48,XXY,+21) BİR ERKEK OLGU

E. AKBAŞ 1, F. SÖYLEMEZ 1, K. SAVAŞOĞLU 1, O. HALLIOĞLU 2, S. BALCI 2

1 Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

2 Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, MERSİN

fsoylemez@mersin.edu.tr

Amaç: Konuşamama ve yürüyememe şikâyeti ile ailesi tarafından Pediatri Kliniğine getirilen 2 yaşındaki erkek çocuk, "Down Sendromu" ön tanısı ile laboratuvarımıza sitogenetik analiz için gönderilmiştir. Hasta ayrıca: mongoloid yüz görünümü, basık burun kökü, hipertelorizm, epikantus, konjenital kalp hastalığı ve üfürüm gibi diğer klinik bulgulara sahipti. Aileden alınan anamnez bilgileri doğrultusunda ayrıntılı pedigrî analizi yapıldıktan sonra alınan kan örneği ile sitogenetik analiz yapılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Hazırlanan lenfosit kültüründen Giemsa-tripsin bantlama yöntemiyle elde edilen metafaz plakları incelendiğinde, hastanın 48 kromozoma sahip olduğu, cinsiyet kromozomlarından X kromozomunun 2 tane olduğu ve ön tanı ile uyumlu şekilde 21 numaralı kromozom için trizomik olduğu gözlemlendi. Herhangi bir mozaicism yoktu.

Sonuç ve Tartışma: Bu bilgiler doğrultusunda hastanın Klinefelter Sendromu ve Down Sendromu assosiasyonu gösterdiği ve kromozom kuruluşunun 48,XXY,+21 olduğu rapor edildi. 48,XXY,+21 karyotipine neden olan, X kromozomu ve 21. kromozomun çifte anöploidisiyle ilgili yapılan epidemiyolojik analizler, bu durumun ilerlemiş anne yaşıyla ilişkili olduğunu göstermiştir. Fakat, bağımsız parental mayotik olaylar da çifte anöploidinin temelini oluşturabilir. Alternatif olarak, bazı ailelerde tek (reküren) ve çifte kromozom ayırlanamamasının her ikisine de genetik yatkınlık neden olabilir. Bununla birlikte, sıklıkla paternal orijin gösteren cinsiyet kromozomunun kromozom ayırlanamaması da eşlik ettiği için, bu tip çifte anöploidilerin etiyolojisinde bağımsız kromozom ayırlanamaması gibi başka mekanizmaların da rol oynaması mümkündür. Bu nedenle, bu tip çifte anöploidilerin tam mekanizmalarını karakterize edebilmek

3-M SENDROMLU ÜÇ KIZKARDEŞ: OLGU SUNUMU

F. ÇABUK 1, S. BOZDOĞAN 1, S. BARIŞ 1, F. DEMİREL 2, A. BAYAR 3, A. DURSUN 1

1 Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD,

2 Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD,

3 Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji AD,

ZONGULDAK

Giriş: 3-M sendromu, prenatal başlangıçlı cücelik sendromlarının ender rastlanan bir formudur. Gelişme geriliği ve boy kısalığının yanı sıra belirgin alın, malar hipoplazi, antevert burun delikleri, uzun filtrum, dolgun dudaklar, kısa boyun, beşinci parmakların klinodaktilisi ve pes planus ile karakterizedir. Zeka gelişimi normaldir ve mikrosefali izlenmemektedir. Radyolojik olarak uzun kemiklerde silindirik yapı ve ince diafizler, dar pelvis, femur başı anomalileri ve uzun vertebra cisimcikleri izlenebilir. Sendrom, otozomal resesif olarak kalıtılmaktadır ve moleküler çalışmalar, 6p21.1 de lokalize olan cullin 7 (CUL7) genindeki 25 farklı mutasyonun klinik tablodan sorumlu olabileceğini göstermiştir.

Olgular: Bu çalışmada 3-M Sendromu tanısı alan 14, 12 ve 7 yaşlarındaki üç kızkardeş klinik ve laboratuvar sonuçları ile sunulmaktadır. Anne ve baba arasında 2. derece kuzen evliliği bulunmaktadır. Her üç kardeşte düşük doğum ağırlığı, 2SD altında kısa boy, tipik yüz görünümü, klinodaktili ve pes planus ortak bulgular olarak izlenmektedir. Uzun kemik ve diafizlerdeki radyolojik değişiklikler tüm hastalarda bulunmakla birlikte pelvis ve femur başı anomalileri sadece en büyük kardeşte saptanmıştır.

Sonuç: Olgular, 3-M sendromunun tipik bulgularını sergilemeleri açısından sunuma değer bulunmuştur. Ayırıcı tanıda göz önünde bulundurulması gereken diğer prenatal başlangıçlı cücelik sendromlarından Silver-Russel Sendromu vücut asimetrisinin; Dolikospondilik Displazi ise mental retardasyonun olmayışı ile dışlanmıştır. Anne baba arasında akrabalık bulunması otozomal resesif kalıtımı desteklemektedir. Pelvis, femur başı ve vertebra değişikliklerinin sadece en büyük kardeşte izleniyor olması, bulguların yaşla değişebilirliğini ve izlemin önemini göstermesi açısından önem taşımaktadır.

45,XO/47,XXX MOZAIİK GENOTİPE SAHİP BİR OLGU

E. AKBAŞ 1, K. SAVAŞOĞLU 1, F. SÖYLEMEZ 1, H. MUTLUHAN 1, G. YAZICI 2, İ. ÖZTÜRK 2

1 Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

2 Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, MERSİN

hicran_mutluhan@yahoo.com

Amaç: Menstruel döneminde aşırı kanama şikayeti ile Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran 20 yaşındaki bayan hasta, Turner Sendromu ön tanısı ile laboratuvarımıza sitogenetik analiz için gönderilmiştir. Cinsiyeti dişi olmakla beraber sekonder seks karakterlerinde gerilik gösteren hastanın ultrason bulgularında uterus mevcut ancak overler net izlenememişti. Ayrıca gelişme geriliği, boy kısalığı, ayaklarda ödem gibi diğer klinik bulgulara sahipti. Hastanın ayrıntılı pedigrî analizi yapıldıktan sonra alınan kan örneği ile sitogenetik analiz yapılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Hastadan alınan 1cc kan, stok besiyerine ekilerek 72 saatlik inkübasyona bırakılıp lenfosit kültürü hazırlandı. Bu kültürden Giemsa-tripsin bantlama yöntemiyle elde edilen metafaz plakları hem mikroskopik olarak hem de laboratuvarımızda bulunan görüntüleme sistemi ile analiz edildi.

Sonuç ve Tartışma: Analiz sonucunda hastanın %70 oranında 45,XO, %30 oranında ise 47,XXX kromozom kuruluşuna sahip olduğu saptandı ve hastanın Turner Sendromu ve Triple-X Sendromu mozaisizmi (45,XO/47,XXX) gösterdiği rapor edildi. 45,X/47,XXX mozaisizmi, Turner Sendromunun nadir bir olgusudur. Fenotipik olarak bu karyotipe sahip olan bireyler ne Turner sendromunun ne de Trizomi X Sendromunun karakteristik özelliklerini tamamen gösterirler. Turner sendromlu bireylerde kısa boy, renal yetmezlik, kraniyofasiyel dismorfizm, ovaryum disgenezisi ve öğrenmede yetersizlik gibi anomaliler gözlenirken, 45,X/47,XXX karyotipli hastalarda ortalama boy uzunluğu, normal kranium çapı, normal renal ultrason bulguları ile birlikte normal uterus ve ovaryum bulunur. Bu karyotipli bireylerin algılamaları normal sınırlar içindedir. 45,X/47,XXX karyotipine sahip Turner sendromlu vakalarda hastalığın seyri daha hafif şiddetlidir. Yapılan çalışmalarda, 45,X hücrelerindeki X kaybından doğan negatif etkinin 47,XXX hücrelerindeki ekstra X ile dengelendiği düşünülmektedir. 45,X/47,XXX`li vakalar üzerinde bundan sonra yapılacak olan çalışmalar bu teorelinin ispatlanmasına veya çürütülmesine katkıda bulunacaktır.

TÜRKİYE'DE Y KROMOZOMUNA ÖZGÜ 10 STR LOKUSU POLİMORFİZMİ İNCELENMESİ VE HAPLOTİP SIKLIĞININ BELİRLENMESİ

A. RÜSTEMOV 1, G. GÜMÜŞ 1, H. G. KARABULUT 3, A.KARADAĞ 1, N. VAROL 1,
A. KADIKIRAN 2, I. BÖKESÖY 3

1 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,

3 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, ANKARA

Amaç: İnsan Y-kromozom STR alel sıklıklarının belirlenmesi, dağılımı ve buna bağlı olarak haplotip analizleri, insan evrimi sırasında gen göçünün araştırılması ve takibinde, erkekler tarafından gerçekleştirilen adli olayların aydınlatılmasında ve babalık tayinlerinde (erkek çocuklar için) gün geçtikçe artan oranda önemli rol oynamaya başlamıştır. Otozomal STR'lerden farklı olarak genomda tek kopya halinde bulunması ve çalışma kolaylığı, sınırlı çalışma gurubu içermesine rağmen Y-STR'leri daha avantajlı duruma getirmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada Türkiye sınırları içinde yaşayan insanlar arasında on iki Y-spesifik (DYS19, DYS385a/b, DYS388, DYS389/I, DYS389/II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, YCAIIa/b) STR lokusları incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışma gurubu, aynı bölgede en az üç nesil yaşamış sağlıklı erkeklerden oluşturulmuştur. Çalışma gurubunu oluşturan kişilerin periferik kanlarından izole edilen DNA örnekleri kullanılarak incelenmesi amaçlanmış STR bölgeleri PCR yöntemiyle çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinin boylarının belirlenmesi için Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi yöntemi kullanılmıştır. PAGE ile ayrılan ürünler ve uygun markerler gümüş boyama ile görünür hale getirilerek sonuçlar değerlendirilmiştir. İncelenen lokuslara ait alellerin dağılım sıklıkları incelenmiş, elde edilen sonuçların diğer coğrafik bölgelerle karşılaştırılmalı değerlendirilmesi yapılmıştır. Ayrıca bu lokuslara bağlı gözlenen haplotipler belirlenerek, bunların da dağılım sıklıkları belirlenmiştir.

Sonuçlar: Bu polimorfik lokuslar itibariyle en sık rastlanan alellerin uzunlukları, tekrar sayısı ve % bulunma sıklıkları sırasıyla DYS19'da 194(15) %41.45, DYS385a/b'de 269(14) %17.62, DYS388'de 131(13) %62.08, DYS389I'de 255(14) %40.59, DYS389II'de 371(30) %25.64, DYS390'da 215(24) %33.61, DYS391'de 287(11) %55.41, DYS392'de 248(11) %42.62, DYS393'de 119(12) %39,42 ve YCAIIa/b'de 150(19) %31.73 olarak çıkarılmıştır. Gözlenen alellerin oluşturdukları haplotip analizi yapılmıştır.

Tartışma: Elde edilen sonuçlara göre, YCC'nin önerdiği "Minimal" haplotip yerine (DYS19-DYS385a/b-DYS389I/II-DYS390-DYS391-DYS392-DYS393) "Alternatif" haplotip (DYS19-DYS385a/b-DYS389I/II-DYS390-DYS392-DYS393-YCAIIa/b) çalışılmasının daha uygun olacağı öngörülmüştür.

Y KROMOZOM MİKRODELESYONLARININ EŞLİK ETTİĞİ GERÇEK ERKEK HERMAFRODİTİZM OLGUSU

S. BOZDOĞAN 1, F. ÇABUK 1, S. BARIŞ 1, F. DEMİREL 2, A. DURSUN 1.

1 Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD,
2 Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD,
ZONGULDAK

feryalcabuk@yahoo.com

GİRİŞ: Kuşkulu genital yapı, dış görünüş olarak cinsiyet ayrımının yapılamadığı durumlardır. Yenidoğanda, kuşkulu genital yapı ile giden hastalıkların sınıflaması oldukça zordur, çünkü çeşitli nedenlere bağlı olarak benzer veya farklı fenotipler ortaya çıkabilmektedir.

OLGU: 23 yaşındaki annenin ilk gebeliğinden 33. haftada IUGR, oligohidramnios ve fetal distrese bağlı olarak C/S ile doğurtulan hasta kuşkulu genital yapı nedeni ile pediatri bölümüne sevk edildi. Fizik incelemede, gelişim geriliğine ek olarak testisler palpe edilemedi, mikropenis, hipospadias ve bifid skrotum saptandı; diğer sistemler ise normaldi. 17OH progesteron, ACTH ve kortizol değerleri normal bulunan hastada konjenital adrenal hiperplazi dışlandı. Radyolojik incelemede testisler inguinal kanalda idi, prostat yapısı görüldü, uterus ya da over yapısı izlenmedi. Kromozom kuruluşu 46,XY olarak belirlenen hastada, Y kromozom mikrodelesyon analizi yapıldı ve AZF-a, AZF-b ve AZF-c bölgelerinde delesyon saptandı. 5. ayda yapılan cerrahi girişim sırasında sağdaki disgenetik testis dokusu çıkartıldı ve patoloji sonucu immatür over dokusu olarak rapor edildi. Soldaki testisten yapılan biyopsi sonucu ise normal testis dokusu olarak belirtildi. Bu tetkikler sonucunda hastanın gerçek erkek hermafrodit olduğuna karar verildi.

SONUÇ: Olgu gerçek hermafroditizm ile Y kromozomu mikrodelesyonlarının birlikteliği nedeni ile sunmaya değer bulundu. AZF bölgesi her ne kadar cinsiyet gelişimi ile doğrudan ilgili bir gen içermiyor olsa da delesyonlarının inmemiş testis ve hipospadias olgularına eşlik ettiği bilinmektedir. Bu nedenle, özellikle şüpheli olgularda Y kromozom mikrodelesyonlarının değerlendirilmesi uygun olacaktır.

DOWN SENDROMU OLUŞUMUNDA EBEVEYNİN HOMOSİSTEİN/FOLAT METABOLİZMASINDAKİ MTHFR GEN POLİMORFİZMİN ROLÜ

F. ÖZEN, N. KOÇAK, B. KÖKSAL, **İ. SEZGİN**, Ö. ÖZDEMİR, E. ÇAKAR

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD, SİVAS

isezgin@tnn.net

Down sendromu (trizomi-21) mayoz esnasında kromozom ayrılması kusuruna bağlı olarak oluşan komplike bir hastalıktır. Son çalışmalarda ebeveynlerde rastlanan MTHFR ve ACE gen polimorfizminin etkisinin olabildiği/olabileceği rolü üzerinde durulmaktadır. Bu nedenlerle Down sendromlu çocukların anne ve babalarını çağırarak moleküler, klinik ve sitogenetik düzeyde araştırmaya tabi tuttuk. Bu bireylerde MTHFR geninin 677 C-T ve 1298 A-C polimorfizminin hamilelikteki risk faktörü olarak rolünü gösteren çalışmaları sürdürdük.

ADENOVİRAL VEKTÖRLER SİTOTOKSİK ETKİ OLUŞTURMADAN PANKREATİK ADACIKLARA ETKİN TRAIL GEN AKTARIMI SAĞLAR

**E. DİRİCE¹, A. D. ŞANLIOĞLU¹, A. ÖMER²,
M. K. BALCI³, T. S. GRİFFİTH⁴, S. ŞANLIOĞLU¹**

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Gen Tedavi Ünitesi ve Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,
ANTALYA

²Section on Islet Transplantation and Cell Biology, Joslin Diabetes Center, Harvard
Medical School, Boston, Massachusetts, USA

³Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD,
ANTALYA

⁴Gene Therapy Center and Department of Urology, University of Iowa, Iowa City, IA, 52242
USA

Özet; Tip-1 diyabet, pankreatik adacıklarda insülin üreten beta hücrelerinin otoreaktif T hücre aracılı yıkımı sonucu oluşan otoimmün bir hastalık olup, günümüzde yaklaşık 25 milyon insanı etkilemektedir. Pankreatik adacık transplantasyonu diyabet tedavisi için ümit verici olmakla birlikte, bugüne kadar kullanılan hiçbir farmakolojik ajan beta hücre ölümünü engelleyememiştir. Ayrıca nakil sonrası gözlemlenen greftlardaki fonksiyonel bozukluk ve greft reddi bu yöntemin başarısını oldukça kısıtlamaktadır. Bu nedenle adacık/graft sağkalımını arttıracak yeni gen tedavi metodolojilerinin oluşturulmasına ihtiyaç vardır. Son zamanlarda TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) 'in diyabet gelişiminde de önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Bu çalışmadaki hedefimiz, pankreatik adacıklara adenovirus aracılı TRAIL sentez ettirerek bu adacıkları otoreaktif T hücre saldırısından koruyup koruyamayacağımızı test etmektir.

Yöntem: Pankreatik adacıklar, saflıklarının belirlenmesi amacı ile DTZ ile, canlılıklarının belirlenmesi için ise PI ve FDA ile boyandı. Adacıklar, EGFP geni taşıyan adenoviral vektörler (AdEGFP) ile transdüksiyona uğratıldı. Transdüksiyon etkinliği hem florometrik ölçümlerle hem de floresan mikroskop aracılığıyla belirlendi. Ad5hTRAIL enfeksiyonu sonrasında pankreatik adacıkların yüzeyinde TRAIL sentezi, immünohistokimyasal yöntemlerle gösterildi. Pankreatik adacıkların TRAIL'a dirençli olup olmadıklarının belirlenmesi amacıyla, adacıklar artan dozlarda Ad5hTRAIL ile enfekte edildi. Ekzojen TRAIL ekspresyonunun sitotoksik olup olmadığı Annexin-V boyaması ile gösterildi.

Bulgular: Pankreatik adacıklar AdEGFP vektörü ile transdüksiyona uğratılarak adacıkların adenoviral vektörler ile enfekte edilebilecek optimum dozları belirlendi. Adacık hücrelerinin uygun dozlarda Ad5hTRAIL ile enfeksiyonu sonucu adacık yüzeyinde TRAIL sunumunun gerçekleştiği ve bu vektörün belirli dozlarda kullanımının adacıklar üzerinde toksik bir etki oluşturmadığı gözlemlendi.

Sonuç: Deneylerimizde gözlemlediğimiz etkin pankreatik adacık transdüksiyonu; adenovirusların adacıklara gen transferinde kullanabileceğimiz ideal vektörlerden biri olduğunu teyid etti. Pankreatik adacıkların yüzeyinde TRAIL'in yüksek oranda sentezlenmesi adacıklar için sitotoksik bir etki oluşturmadığından, TRAIL'in adenoviral vektörler ile aktarımı otoreaktif T hücrelerinin pankreatik adacıklara saldırısını önlemede potansiyel bir terapötik yaklaşım olarak göze çarpmaktadır.

TEKRARLAYAN DÜŞÜKLERDE TROMBOFİLİ MUTASYON SIKLIKLARI

F. İ. ŞAHİN 1, F. B. ATAÇ 2, Z. YILMAZ 1, H. B. ZEYNELOĞLU 3

1 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD,

2 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

3 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, ANKARA

Amaç: Gebeliklerin % 25'i anatomik, endokrinolojik veya immünolojik faktörler sonucunda düşükle sonuçlanır. Son yıllarda gebelik kayıpları ve trombofili arasındaki ilişki geniş oranda çalışılmakta ve tartışılmaktadır. Trombofili mutasyonlarının üç veya daha fazla kez tekrarlayan düşükle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada tekrarlayan düşük öyküsü olan ve olmayan kadınlarda üç trombofili mutasyonunun, faktör V Leiden (FVL), protrombin G20210A (PTG) ve metilentetrahidrofolat redüktaz C677T (MTHFR), sıklığının belirlenmesi ve karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamına iki veya daha fazla kez tekrarlayan düşük öyküsü olan 205 kadın ve kontrol grubu olarak tekrarlayan düşük öyküsü olmayan 100 kadın birey alınmıştır. Trombofili mutasyonları PCR-RFLP analizi ile belirlenerek hasta ve kontrol grubuna ait sonuçlar karşılaştırılmıştır. İstatistiksel değerlendirme iki oran testi yöntemi ile yapılmıştır.

Bulgular: Tekrarlayan düşük öyküsü olan grupta FVL, PTG ve MTHFR'nin allel sıklıkları sırasıyla %5.85, % 2.68 ve %29.02 olarak bulundu. Allel sıklıkları açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark belirlenmedi ($p>0.05$). Sadece MTHFR C677T mutasyonu için homozigot mutant sıklık açısından iki grup arasında anlamlı bir fark bulundu ($p<0.05$).

Sonuç: Birçok çalışmada tekrarlayan düşükler ve trombofili arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Ancak bizim sonuçlarımıza göre hasta ve kontrol grubu arasında toplam allel sıklıkları açısından anlamlı bir fark yoktur. Sonuçlarımız son yıllarda yayınlanmış çalışmaları desteklemektedir.

ŞİDDETLİ OLİGOZOOSPERMİ VE AZOOSPERMİ OLGULARINDA Y MİKRODELESYON SIKLIKLARI

Z. YILMAZ 1, F. İ. ŞAHİN 1, E. YUERTCU 2, H. B. ZEYNELOĞLU 3

1 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD,

2 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,

3 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, ANKARA

Amaç: Tüm infertil olguların %40 kadarından erkek infertilitesi sorumludur. Sperm sayısının 10.000.000/ml'nin altında olduğu erkeklerde genetik anomali düşünülmelidir. Y kromozomunun uzun kolu üzerinde bulunan AZF (Azoospermia Factor) bölgesinde AZFa, AZFb, AZFc ve AZFd lokuslarındaki delesyonların sperm sayısının çok düşük olduğu erkeklerin % 6'sında, azoospermik olguların %15'inde gözlemlendiği bildirilmiştir. Başkent Üniversitesi Yardımlı Üreme Teknikleri Merkezinde işlem öncesi değerlendirmeye alınan erkek bireylerde mikrodelsyon sıklığı ve delesyon saptanan bölgelerin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Ekim 2002-Mayıs 2007 arasında mikrodelsyon taraması yapılan toplam 202 olgu değerlendirmeye alındı. Mikrodelsyon taranan AZF bölgesi STS primerleri AZFa lokusuna ait sY84, sY86, AZFb lokusuna ait sY127, sY131, sY134, sY143, sY164, AZFc lokusuna ait sY254, sY255, sY277, sY283, AZFd lokusuna ait sY152, SRY ve ZFY lokuslarına ait uygun primerler kullanılarak PCR ile Y mikrodelsyonları araştırıldı.

Bulgular: 10 hastada (% 4.95) delesyon saptandı. Bu olgulardan iki tanesinde hem AZFb hem de AZFc lokusunu kapsayan delesyon bulundu. 8 olguda ise sadece AZFc lokusuna ait delesyonlar belirlendi. AZFb lokusundaki delesyonlar ve dağılımı sY134 (%25), sY164 (%25), sY131(%25) ve sY143 (%25) olarak belirlendi. AZFc lokusuna ait delesyonların dağılımı ise; 9 sY277 (%28,1), 8 sY283 (%25), 8 sY255 (%25), 4 sY254 (%12,5) ve 3 sY152 (%9,4) olarak belirlendi.

Sonuç: Y mikrodelsyonu saptanması infertil çiftlere verilecek genetik danışmanın içeriğini değiştireceğinden önem taşımaktadır. Azoospermik ve oligozoospermik olgularında Y mikrodelsyon sıklıkları literatürde oldukça değişken oranlarda bildirilmiştir. Bu kapsamda, tanı yöntemi standardizasyonu ve doğru endikasyon ile testin yapılması uygun olacaktır.

ERKEK İNFERTİL HASTALARDA HERPESVIRIDAE AİLESİ ÜYELERİNDEN HSV1, HSV2, EBV VE CMV VIRÜSLERİNİN SAPTANMASI

M. TAŞPINAR 1, S. AYDOS 1, F. ŞAHİN 2, D. KARASARTOVA 2, A. SUNGUROĞLU 1

1 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD, ANKARA

Amaç: İnfertilite, modern tıbbın sosyal ve tıbbi bir problemidir. Bu olguların %40-50'sinde, infertilite probleminin erkek kökenli olduğuna inanılmaktadır. Erkek infertil olgularının %50'sinden fazlasında etiyoloji bilinmemektedir ve idiyopatik olarak sınıflandırılmaktadır. Bir kaç çalışmada, erkek infertilisi ile Herpesviridae ailesinin üyelerinden herpes simplex virüs (HSV), cytomegalovirüs (CMV) ve Epstein-Barr virüs (EBV)'lerinin ilişkisi araştırılmıştır. Biz bu çalışmada, akut infeksiyon semptomlarını taşımayan idiyopatik infertil Türk erkeklerinde HSV, CMV ve EBV virüslerinin varlığını araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya 95 erkek infertil hasta ve 110 erkek sağlıklı kontrol birey katılmıştır. Kontrol bireylerin ve infertil hastaların EDTA'lı tüpe alınan periferik kan örneklerinden genomik DNA izole edilmiştir. Öncelikle, HSV, CMV ve EBV virüslerinin tek bir kopyasını dahi saptayabilen ve ayırt edebilen bir Multiplex PCR (M-PCR) geliştirildi. Çalışmamızda, izole edilen DNA'lardan HSV, CMV ve EBV DNA'larını analiz etmek için geliştirdiğimiz bu M-PCR kullanılmıştır. Ayrıca, pozitif kontrol olarak HSV, CMV ve EBV DNA'larını içeren pBSK vektörleri kullanılmıştır.

Sonuçlar: Hasta grubumuzun %4,21'inde HSV DNA'sı ve %10,52'sinde EBV DNA'sı saptanmıştır. Kontrol grubunda ise her hangi bir virüs DNA'sı saptanmamıştır.

Tartışma: Bu sonuçlar, HSV ve EBV virüslerinin erkek infertilisinde önemli rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu sonuçlarımızın doğrulanması için, semen örneklerinde de herpes virüsleri araştırılacaktır.

STZ-DİYABETİK NEFROPATİDE APOPTOZ VE CLUSTERİN EKSPRESYONU ARASINDAKİ İLİŞKİ

M. TUNÇDEMİR, M.ÖZTÜRK

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

Bu çalışmada, deneysel diyabetik nefropatide salgı (s-clu) ve nuklear clusterin, (n-clu) ekspresyonlarının saptanması ve apoptoz ile ilişkileri, ayrıca ACE inhibitörü ve AT-1 reseptör antagonisti uygulamalarının clusterin ekspresyonları ve apoptoz üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

Çalışmada 40 adet erkek Wistar tipi albino sıçandan oluşan 5 grup kullanıldı. (1) STZ-diyabetik, (2) irbesartan uygulanan diyabetik (15 mg/kg/gün, gavaj, 30 gün), (3) perindopril uygulanan diyabetik (6 mg/kg/gün, gavaj, 30 gün) ve (4) perindopril ve irbesartanın birlikte uygulandığı diyabetik (3 mg/kg/gün, 5 mg/kg/gün, gavaj, 30 gün) grup, (5) sağlıklı kontrol grubu olarak ayrıldı. Çalışma süresince kan glukoz ve mikroalbuminüri düzeyleri ölçüldü. Böbrek doku kesitlerine apoptoz için TUNEL metodu uygulandı. Clusterin- α (s-clu) ve clusterin- β (n-clu) antikorları kullanılarak immunohistokimyasal boyamalar yapıldı.

STZ-diyabetik tüm gruplarda kan glukoz düzeylerinin değerleri kontrol gruba kıyasla yüksek tespit edildi. STZ-diyabetik grupta özellikle tubüllerde apoptotik hücre sayısında belirgin artma, kombine ilaç uygulanan diyabetik grupta belirgin azalma gözlemlendi. Diyabetik grupta glomerül ve tubüllerde clusterin- α ekspresyonu artmış, tedavili diyabetik gruplarda ise ekspresyon azalmış olarak saptandı. Clusterin- β ekspresyonu tedavisiz diyabetik grupta glomerüllerde podosit ve mezangiyal hücrelerde ayrıca hasarlı tubül epitel hücrelerinde nükleuslarında artmış olarak tespit edildi. Tedavi uygulanan diyabetiklerde clusterin- α immunpozitif hücre sayısının özellikle kombine grupta belirgin olarak azaldığı saptandı.

STZ-DİYABETİK NEFROPATİDE İRBESARTAN VE PERİNDOPRİLİN KORUYUCU ETKİLERİ

M. TUNÇDEMİR, M. ÖZTÜRK

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

Bu çalışmada, deneysel diyabetik nefropatide Renin-Angiotensin-Sistemin (RAS) engellenmesi için ACE inhibitörü ve AT-1 reseptör antagonisti uygulamalarının TGF- β 1 ve β 2-SMA ekspresyonları üzerine etkileri incelendi

Çalışma Wistar tipi albino sıçandan oluşan 5 gruptan oluşturuldu; (1) STZ-diyabetik, (2) irbesartan uygulanan diyabetik (15 mg/kg/gün, gavaj, 30 gün), (3) perindopril uygulanan diyabetik (6 mg/kg/gün, gavaj, 30 gün) ve (4) perindopril ve irbesartanın birlikte uygulandığı diyabetik (3 mg/kg/gün, 5 mg/kg/gün, gavaj, 30 gün), (5) kontrol. Tüm gruplarda kan glukoz ve mikroalbuminüri düzeyleri, böbrek ağırlıkları ve doku kesitlerinde glomerül çapları ölçüldü. TGF- β 1 ve β 2-SMA antikorları kullanılarak immunohistokimyasal boyama uygulandı. İstatistiksel değerlendirmelerde Kruskal-Wallis, Friedman ve Dunn-testi kullanıldı.

STZ-diyabetik tüm gruplarda kan glukoz düzeyleri ve vücut ağırlığı/böbrek ağırlık değerleri ve glomerül çap ölçümleri kontrol gruba kıyasla yüksek bulunurken tedavi uygulanan diyabetik gruplarda azalma saptandı. STZ-diyabetiklerde gözlenen glomerül kapiller bazal membran kalınlaşmasının ve hipertrofinin, dilate ve atrofik tubüllerin, ayrıca tubül epitel hücrelerindeki glikojen birikimlerinin tedavi uygulanan diyabetiklerde belirgin olarak azaldığı saptandı. Kontrol grubunda β 2-SMA ekspresyonu sadece peritubüler kapillerlerde görülürken, STZ-diyabetik sıçanlarda hasarlı glomerüllerde ve tubüllerde saptandı. β 2-SMA ekspresyonunun; kombine ilaç uygulanan grupta tedavi uygulanmayan diyabetik gruba kıyasla belirgin olarak azaldığı gözlemlendi. STZ-diyabetik grupta özellikle glomerülde ayrıca tubüllerde ve interstisyel alanlarda yaygın TGF- β 1 immun immunpozitifliği saptandı. TGF- β 1 ekspresyonunun kombine ilaç uygulanan diyabetik grupta tedavisiz diyabetik gruba oranla azalmış olduğu gözlemlendi.

Diyabetik nefropatide erken dönemde TGF- β 1 ve β 2-SMA ekspresyonlarındaki artışın böbrek hasarının bir göstergesi olduğu, irbesartan ve perindopril uygulamalarının doku hasarını önlemede koruyucu etkilerine rağmen, birlikte kullanımının daha etkin ve üstün bir role sahip olduğu sonucuna varıldı.

DIABETİK SIÇANLARDAN İZOLE EDİLEN BEYİN DOKUSUNDA STOBADİN TEDAVİSİNİN OKSİDATİF PROTEİN HASARI ÜZERİNE ETKİSİ

A. CUMAOĞLU 1, N. NURLU 1, C. ÇEVİK 1, M. KAVUTÇU 1, O. CANBOLAT 1, Ç. KARASU 2

1 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD,

2 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD, ANKARA

acumaoglu@gazi.edu.tr

AMAÇ: Diyabette, proteinlerin reaktif radikaller ya da reaktif oksijen ara metabolitleri ile kovalent modifikasyonu sonucunda protein fonksiyon kaybı, enzim aktivitesinde azalma, protein agregasyonu gibi dejenerasyonlar oluşmaktadır. Bu çalışmada, streptozotosin ile oluşturulan deneysel diyabet modelinde, sentetik pridindol türevi stobadin tedavisinin ileri protein oksidasyon ürünleri (AOPP) ve nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Wistar albino sıçanlar kontrol, stobadinle tedavi edilen kontrol, diyabetik, stobadinle tedavi edilen diyabetik olmak üzere 4 grup altında toplandı. Diyabet, periton içine streptozotozin (55mg/kg) enjeksiyonu ile oluşturuldu. Kontrol ve diyabetik sıçanlara 16 hafta stobadin (STB; 24,7kg/mg/gün) tedavisi uygulandı. Beyin homojenatlarında AOPP ve NOS aktivitesi spektrofotometrik olarak belirlendi.

BULGULAR: Kontrol grubuna (Kontrol: AOPP; 2.73 ± 0.43 nmol/mg protein, NOS; 0.159 ± 0.033 IU/ml.dk) göre diyabetik grupta (Diyabet: AOPP; 3.90 ± 0.38 , NOS; 0.322 ± 0.066 IU/ml.dk) ileri protein oksidasyon ürünleri ve nitrik oksit sentaz aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı arttığı belirlendi (sırasıyla; $p=0,013$, $p=0,010$). Bununla birlikte diyabetik grupta AOPP ve NOS düzeylerinde gözlenen artış, STB tedavisi ile (Diyabet+STB: AOPP; 2.53 ± 0.41 , NOS; 0.156 ± 0.018 IU/ml.dk) anlamlı derecede düşürülmüştür (sırasıyla; $p=0,020$, $p=0,002$).

TARTIŞMA: Yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz bulgulara göre stobadin uygulaması, beyin dokusunda serbest radikal aracılı oksidatif protein hasarına karşı koruyucu etki göstermiştir.

STEVIA REBAUDIANA VE N – NİTRO-L-ARGİNİNİN, DENEYSSEL TIP II DİYABETTE BÖBREK İNCE YAPISINA ETKİLERİ*

C. ŞİMŞEK 1, H. KURT 2, S. KALENDER 3, H. V. GÜNEŞ 2, A. BAŞARAN 2,
Y. KALENDER 4, İ. DEĞİRMENCİ 2

1 Dumlupınar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Kütahya,
2 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, ESKİŞEHİR
3 Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi, Biyoloji Bölümü
4 Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANKARA

hkurt@ogu.edu.tr

Tip II diyabet artmış mortalite, morbidite ile ilişkili önemli bir hastalıktır. Bu metabolik hastalık hedef dokulardaki insulin rezistansı ve pankreatik insulin salgılanmasındaki bozuklukların bir sonucudur. Diabetes mellitusun (DM) patogeneğinde oksidatif stres de önemli bir role sahiptir.

Bu çalışmanın amacı, STZ-NA diyabetik sıçanlarda, Stevia rebaudiana Bertoni (SrB) yaprak ekstresi ve L-NNA'nın elektron mikroskopik olarak böbrek dokusu ince yapısındaki değişiklikleri belirlemektir. Bu deneyde 2-3 aylık dişi Sprague-Dawley sıçanları kullanıldı. Sıçanlar 3'ü kontrol olmak üzere 12 sıçanlı 7 grup oluşturuldu. Dört grupta, streptozotisin (STZ) ve nikotinamid'in (NA) sistemik olarak uygulanması ile diyabet indüklendi. Diyabetin indüklenmesinden 5-8 hafta sonra deneye başlandı. On beş gün boyunca diyabetik gruplar SrB, L-NNA ve SrB + L-NNA ile tedavi edildi. Deneyden sonra, eter anestezisi altında, böbrek dokuları alınarak takip aşamalarından sonra elektron mikroskopunda incelendi.

Çalışma sonunda, STZ uygulanmış sıçanların böbrek dokularındaki hücrelerin sitoplazmasında büyük çaplı vakuoller tespit edildi. Aynı zamanda bu gruptaki sıçanların hücrelerinde sitoplazmada çözümler ve bazı mitokondrilerin matriksinde vakuollerin meydana geldiği gözlemlendi. STZ+ Stevia rebaudiana Bertoni uygulanan sıçanların böbrek dokusundaki hücrelerin mitokondrilerinin bazılarında şişme ve bazı mitokondrilerde erime ve vakuolizasyon meydana geldi. STZ+L-NNA uygulanan sıçanların böbrek dokularındaki hücrelerinde mitokondrilerinde şişme ve vakuolizasyon gözlenirken, STZ+ Stevia rebaudiana Bertoni + L-NNA uygulanan sıçanların böbrek dokularında mitokondrilerin ve diğer organellerin normal yapıda olduğu gözlemlendi.

* Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Araştırma Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

DENEYSEL TİP II DİYABETİK SIÇANLARDA AKARBOZ VE F13'ÜN SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ VE KARACİĞER HİSTOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ

**C. ŞİMŞEK 1, M. C. ÜSTÜNER 2, H. KURT 2, K. ÇİVİ 3,
H. V. GÜNEŞ 2, A. BAŞARAN 2, İ. DEĞİRMENCİ 2**

1 Dumlupınar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, KÜTAHYA
2 Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, ESKİŞEHİR
3 İnegöl Devlet Hastanesi, Patoloji laboratuvarı, BURSA

Diabetes mellitus, hiperglisemi, hiperlipidemi ve hiperaminoasidemi ile karakterize bir hastalık olup, insülin salınım yokluğu, azlığı veya insülin etkisinin azalması ya da insülin reseptörlerinin cevapsızlığı sonucu meydana gelen kronik metabolik bir hastalıktır. Yapılan çalışmalarda diyabette serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiyolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu bildirilmiştir. Bunlara ilave olarak, uzamış oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin, diyabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkışı ile de ilişkili olabileceği araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır. Bu çalışma, tip II diyabette karışık bitkisel aromatik su (Karkim-f13) ve akarbozun anti-diyabetik etkisi ve serbest oksijen radikalleri üzerine olan etkilerini karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır.

Çalışmamızda, 2-3 aylık erkek Sprague-Dawley türü sıçanlara, STZ ve nikotinamidin kısmi koruyucu dozu ile kombine bir enjeksiyon sayesinde, β -hücre kütlesindeki %40'lık azalma ile karakterize olan ve insan tip II diyabeti ile birçok yönden benzerlik gösteren, STZ-NA modeli uygulandı. Sıçanlar 4'ü kontrol (K, Kf, Ka, SN) olmak üzere 6 gruba ayrıldı ve 15 gün süreyle f13 (SNf) ve akarboz (SNa) ile tedavi edildi.

Bu çalışma sonunda hücresel antioksidan savunma sistemindeki değişiklikler, antioksidan enzimler olan glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz'ın (CAT) eritrosit hemolizatında ölçülmesiyle belirlendi. Bununla birlikte serumda nitrik oksit sentaz (NOS) ve lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) seviyesi yine eritrosit hemolizatında ölçüldü.

Deney sonunda, MDA düzeylerinde, f13-kontrol grubu ile diyabetik kontrol ve f13 ile tedavi edilmiş diyabetik grup arasında önemli düzeyde fark bulunmuş olup, MDA bakımından, kontrol grubuna göre diğer gruplarda fark bulunmamıştır. SOD aktivitesi düzeyleri, f13-kontrol grubu ile karşılaştırıldığında f13 ile tedavi edilmiş diyabetik grupta önemli düzeyde düşük bulunmuştur. NOS aktivitesi f13 ile tedavi edilmiş diyabetik grupla karşılaştırıldığında akarboz ile tedavi edilmiş diyabetik grupta anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda, Gpx ve katalaz aktivitesi yönünden, kontrol grubuna göre diğer gruplarda fark bulunmamıştır. Yapılan çalışma sonucunda; kontrol gruplarının karaciğer histolojisinde normal yapılanma gözlenirken, diyabetik grupların karaciğer örneklerinde, nükleer hipertrofi ve binükleer hepatositler gözlenmiştir.

YENİDOĞAN STZ-DİYABET MODELİ UYGULANAN SIÇANLARIN ENDOKRİN PANKREASLARINDA SURVİVİN EKSPRESYONUNUN DAĞILIMI

F. KAYA DAĞISTANLI, M. VAFİMASTANABAD, M. ÖZTÜRK

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

Apoptoz inhibitör protein ailesinin bir üyesi olan survivinin apoptozun inhibisyonu ve hücre siklusunun düzenlenmesinde rolü vardır. Erişkin ve neonatal endokrin pankreasta alfa ve beta hücrelerinde ekspresyonu tespit edilmiştir. Bu çalışmada doğumlarının 2.günü STZ uygulanmış yenidoğan sıçan pankreasında survivin ve insülin ekspresyonunu karşılaştırmalı olarak incelemeyi amaçladık.

Çalışmada, her birinde 7 adet Wistar albino sıçanlardan oluşan yenidoğan yavru bulunan 4 grup oluşturuldu. 2 gruba doğumun 2. günü 100 mg/kg tek doz STZ uygulaması yapıldı ve gruplar sırasıyla doğumun 5. ve 10. günlerinde sağlıklı kontrol grupları ile birlikte dekapite edildiler. Alınan pankreas dokuları %10'luk formolde tespit edilerek parafine gömüldü. Doku kesitlerine insülin ve survivin antikorları kullanılarak immünohistokimyasal boyama yöntemi uygulandı.

STZ uygulanan gruplarda adacık büyüklüklerinin kontrol gruplarına göre daha küçük olduğu gözlemlendi. STZ uygulanan 5 günlük grupta adacık içerisindeki insülin pozitif beta hücre sayısının kontrole göre oldukça azaldığı buna karşı 10 günlük STZ uygulanan grupta ise adacıklardaki beta hücre içeriğinin kontrole benzer olduğu görüldü. 5 ve 10 günlük kontrol gruplarında adacıkların neredeyse tamamının survivin pozitif hücreler ile dolu olduğu gözlemlendi. STZ uygulanmış 5 günlük grupta insülin pozitif hücre dağılımına benzer olarak adacık içerisinde az sayıda hücrenin survivin pozitif reaksiyon verdiği, 10 günlük STZ uygulanmış grupta ise adacıkların kontrol grubuna benzer survivin ekspresyonu gözlemlendi.

Sonuç olarak, STZ'nin beta hücreleri üzerindeki hasarına karşı bazı beta hücrelerinin survivin ekspresyonunu artırarak korunduğunu, adacık beta hücre rejenerasyonunda survivin ekspresyonun rolü olduğunu düşündürmektedir.

KADMIYUM İLE FUNDUSDA OLUŞAN HASAR ÜZERİNE VİTAMİN E, VİTAMİN C VE SELENYUMUN ETKİLERİ

S. BOLKENT 1, O. SAÇAN 2, R. YANARDAG 2, Ş. BOLKENT 3

1 İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD

2 İstanbul Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Bölümü

3 İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İSTANBUL

Ozet: Kadmiyum oldukça toksik bir metal olup, çeşitli serbest radikallerin oluşumunda dolaylı bir role sahiptir. Metallothionein reaktif oksijen türlerinin etkisini yok etmede iş görür. Ghrelin esas olarak midede bulunan bir peptittir.

Bu çalışma kadmiyum ve antioksidanların serum lipid, fosfolipid düzeyleri ile mide glutatyon, ghrelin ve metallothionein üzerine etkilerini araştırmayı amaçladı.

Kadmiyum sıçanlara 2mg/kg/gün intraperitoneal olarak 8 gün süreyle, vitamin E (250mg/kg/gün) + vitamin C (250mg/kg/gün) + selenyum (0.25mg/kg/gün) birlikte oral olarak verildi. Antioksidanlar sıçanlara kadmiyum verilmeden bir saat önce uygulandı. Kesitler morfolojik ve ghrelin, metallothionein ekspresyonu bakımından incelendi. Doku homojenatlarında protein ve glutatyon, serumda fosfolipid ve total lipid düzeyleri tayin edildi.

Kadmiyum verilen grup kontrollerle karşılaştırıldığında, fundusda dejeneratif değişiklikler gözlemlendi. Oysa kadmiyum + antioksidan verilen grupta bu dejeneratif değişikliklerin azaldığı gözlemlendi. Gruplar karşılaştırıldığında, ghrelin ve metallothionein immünreaktif hücre sayısında belirgin bir değişiklik saptanmadı. Kadmiyum verilen grupta doku glutatyon düzeylerinde azalma, serum fosfolipid ve lipid düzeylerinde artma olduğu saptandı. Kadmiyum + antioksidan verilen grupta kadmiyum grubuna göre doku glutatyon düzeylerinde artma, serum fosfolipid ve total lipid düzeylerinde azalma olduğu görüldü.

Bu bulgulara göre antioksidanların sıçan mide fundusunda kadmiyum hasarını kısmen önlediği sonucuna varıldı.

ANGIOTENSİN-1 RESEPTÖR ANTAGONİSTİNİN HİPEROKSALOÜRİK SIÇAN BÖBREKLERİNDE APOPTOZ VE APOPTOZ DÜZENLEYİCİ GENLERİN EKSPRESYONLARI ÜZERİNE ETKİLERİ

T. TURAN 2, O. DEMİRKESEN 3, M. TUNÇDEMİR 1, F. KAYA- DAĞISTANLI 1,
O. L. TUNCAY 3, **M ÖZTÜRK 1**

1 İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi biyoloji AD,
3 Üroloji AD, İSTANBUL

2 Üroloji AD, Tıp Fakültesi, Pamukkale Üniversitesi, DENİZLİ

Hiperoksalüri, kalsiyum oksalata bağlı taş hastalığının ve renal hasarın risk faktörüdür. Hiperoksalüri esas olarak böbrek tübüllerindeki hasara bağlı ciddi renal lezyonlara neden olur. Angiyotensin-II birçok böbrek hastalığının ilerlemesine katkıda bulunur. Bu çalışmada hiperoksalürik sıçanlardaki böbrek lezyonlarının apoptoz ile ilişkisi ve AT1 reseptör antagonisti olan losartan uygulamasının apoptoz ve apoptoz düzenleyici proteinlerin ekspresyonları ve renal hasar üzerine etkileri araştırıldı.

Çalışmada Wistar albino sıçanlardan 4 grup oluşturuldu. (1) Kontrol, (2) Hiperoksalüri (Hou), (3) Hou+Losartan, (4) Losartan (L). 2. ve 3. gruplara 4 hafta süre ile içme sularında 0.8% etilenglikol (oksalat öncülü) verildi. 3. ve 4. gruplara losartan (300mg/L/gün) uygulandı. Deney bitiminde elde edilen böbrek doku kesitlerine rutin ışık mikroskopi yöntemleri uygulandı ve doku kesitlerine apoptoz tayini için TUNEL yöntemi ayrıca bcl-2, bax ve kaspaz-3 antikorları uygulanarak immunohistokimyasal boyama uygulandı.

Hou grubunda tübüler, glomerüler ve tübülointerstisiyel hasarlar gözlemlendi. Bu grupta tübül epitel hücrelerinde hem apoptotik hücre sayısında hemde kaspaz-3 ve bax ekspresyonlarında kontrole göre artış saptanırken, losartan uygulanan Hou grubunda ise Hou ile kıyaslandığında belirgin azalma saptandı. AT1 reseptör antagonisti losartanın, Hou+L grubunda bcl-2 ekspresyonunda belirgin artışa neden olduğu gözlemlendi.

Hiperoksalürinin, bax ve kaspaz-3'e bağlı olarak apoptozu uyardığı ve losartanın anti-apoptotik proteinler üzerinden renal tübüllerini apoptozdan koruyucu etkiye sahip olduğu sonucuna varıldı.

SIÇANDA RADYOTERAPİYE BAĞLI DOKU HASARINA ÇEŞİTLİ PEPTİDLERİN ETKİLERİ

C. ERZİK 1, C. ARAL 1, M. DENİZ 2, B. YEĞEN 2, B. M. ATASOY 3, Ş. ÇETİNEL 4

1 MÜTF Tıbbi Biyoloji AD,

2 MÜTF Fizyoloji AD,

3 MÜTF Radyasyon Onkolojisi AD,

4 MÜTF Histoloji ve Embriyoloji AD, İSTANBUL

Bilgiler ve Amaç: Glukagon benzeri peptid-1 ve 2 (GLP-1 ve GLP-2) yiyecek alımını takiben intestinal L hücrelerinden beraber salınmaktadırlar. Araştırmalara göre GLP-1 glikoz homeostazında rol oynarken GLP-2'de proliferatif, anti apoptotik etkiler göstermektedir. Pankreasta apoptozu azalttığı bilinmektedir. GLP-2 mide motilitesi ve asit sekresyonunun düzenlenmesinde, mukozal yüzeyin genişlemesi ve apoptozun inhibisyonunda rol oynamaktadır. Bağırsak geçirgenliğini azaltıcı etkisi, proliferatif ve anti-apoptotik etkileri, peptidin gastrointestinal sistemin inflamasyonunda faydalı olabileceğini akla getirmiştir. Oksitosin sistemik dolaşıma arka hipofiz üzerinden girer ve beyinde oksitosinerjik nöronları uyarır ve gastrik asit salgılamında azalma sağlar. İskemik cilt fleplerinin ve yaranın iyileşmesini arttırdığı gösterilmiştir. İyi bilinen bir anti-stres ajan olduğu bilinmektedir. İnflamasyon modellerinde etkili olduğunu gösterilen oksitosinin radyoterapiye bağlı oluşan yan etkiler üzerine etkileri araştırılmamıştır. Ghrelin özellikle büyüme hormonunun sekresyonunda, vücut ağırlığının düzenlenmesinde, gastrik asit sekresyonunda rol oynar. Yakın zamanda bağırsaklardan da salındığı tesbit edilmiştir. Stresle artan ghrelinin gastrik hasarı azalttığı bilinmektedir. Endojen olan bu peptitlerin mide, ince- ve kalın bağırsak üzerinde olumlu etkilerinin olup olmadığı önemlidir, çünkü radyoterapi kanser tedavisinde sık kullanılmaktadır. Çalışma radyoterapi sonrası ince ve kalın bağırsakta oluşan değişikliklere GLP-1, GLP-2, oksitosin ve ghrelinin etkilerini DNA fragmentasyonu üzerinden değerlendirmeyi hedeflemiştir.

Gereç - Yöntem: Çalışmada Sprague-Dawley türü sıçanlar kullanılmıştır. Gece açlığını takiben ketamin anestezisi altında abdominal bölge tek dozda 1100 cGy ışınlanmıştır. Üçüncü gün dekapitasyonun ardından alınan doku örneklerinden mikroskopik değerlendirme ve DNA fragmentasyon tayini yapılmıştır. İstatistik değerlendirme Mann-Whitney U testiyle yapılmıştır.

Sonuçlar: Kolon dokusunda radyoterapi sonrası ghrelin, GLP-1 ve -2'nin DNA fragmentasyonunu azalttığı, ince bağırsakta ise bu yöndeki etkinin GLP-2 ile sınırlı kaldığı görülmüştür.

β-TALASEMİ MUTASYONLARININ MICROARRAY İLE BÖLGESEL DAĞILIMININ ARAŞTIRILMASI

İ. PİRİM, G. Z. ÖNCEL, İ. KİKİ, N. EYERCİ, H. DOĞAN, M. BÜYÜKAVCI

Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji, Dahiliye, Çocuk Hematolojisi AD,
ERZURUM

Giriş ve amaç: B-Talasemi, B-globin zincir veya zincirlerinin sentezinde azalma ile karakterize olan kalıtsal bir hastalıktır. Moleküler seviyede B-globin genini etkileyen ve hastalık ile ilişkili yaklaşık 200 mutasyon tanımlanmıştır. Çalışmamız ile Erzurum ve civarını içine alan bölgede yaklaşık iki yıl içinde değişik kliniklere anemi şikayetiyle başvuran 92 hastada microarray yöntemi ile B-talasemi mutasyonları dağılımını görmek ve bu mutasyonların moleküler karakterizasyonunu araştırmaktır. **Yöntem:** Mutasyonları tespit etmek için; 14 farklı mutasyon için (IVS1.1, IVS1.110, IVS1.5(G/C), IVS1.5(G/A), IVS1.6, IVS2.1, IVS2.745, -30, -87, CD5, CD8-9, CD39, CD44, HBD, HBS) primer spesifik PCR ile elde edilen ampikonlar microarray chiplerine adreslendi. Chip üzerinde her bir hastanın 14 mutasyonu incelendi. Her bir mutasyon bölgesi açısından wild tip, heterozigot veya homozigot allellerin tespiti yapıldı. **Bulgular:** Çalışmamıza 92 talasemi ön tanısı ile gelen hastaları dahil ettik. Hastalar Çocuk. ve dahiliye kliniğinden alındı. Bütün talasemi ön tanılı hastaların klinik bulguları, ailesel hikaye ve kan transfüzyonları vardı. 92 hastanın 11 de inv1.110 (%11,95), 8 de inv1.6 (%8,69), 5 inde CD44 (%5,43), 3 ünde ivs2.1 (%3,26), 2 sinde inv1.5 (%5,43) ve 2 (%2,17) sinde CD39 tespit edildi. **Sonuç:** Bölgesel anormal Hb insidansını tespit etmek için rutin olarak taradığımız β-talasemi mutasyonlarının panelini artırılarak bölgede en sık görülen mutant alleleri bulmak hedeflendi.. Böylece bölgemizde ki β-Globin geninden kaynaklanan anemilere moleküler yaklaşım ve hastalığın prognozu üzerine farklı mutant allelerin etkisinin araştırılması planlandı. Yaptığımız bir ön çalışma olup, projemiz devam etmektedir.

LİPOZOMAL GEN TAŞIYICI SİSTEMLERİ KİTOZANLA GÜÇLENDİRMENİN ETKİSİ

N. ÖZLEN ŞAHİN, B. TEKE

Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Teknolojisi Bölümü, Farmasötik
Biyoteknoloji AD, MERSİN

nefisesahin@gmail.com

Gen tedavisinde viral ve viral olmayan vektörler üzerinde çalışılmaktadır. Bu çalışmalardan in vivo olanlar, farmasötik formülasyon uygulamasına yönelik olduğundan diğer yöntemlere üstünlük sağlamaktadır. Ancak, in vivo uygulamalarda en çok karşılaşılan sorun, biyoparçalanır, biyoyumlu, düşük toksisiteli, hedeflendirilebilir, dayanıklı ve optimum transfeksiyon verimine sahip vektörlerin geliştirilmesinin gerekliliğidir.

Son yıllarda, genetik hastalıkların tedavisinde, viral olmayan vektörlerin kullanımına yönelik çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Özellikle, lipozom-DNA kompleksleri en çok ilgi çeken gen taşıyıcı sistemlerdir. Viral vektörlere üstünlüklerine rağmen, lipozomlar, fiziksel stabilite açısından sorunlu sistemlerdir. Bu çalışmada, lipozomların dayanıklılığını arttırmak ve optimum transfeksiyon sağlamak amacıyla, lipozom-plazmid DNA kompleksleri hazırlanıp kitozanla güçlendirilmiştir. Önce, pGL2 plazmid DNA molekülü taşıyan, farklı elektriksel yüke sahip (anyonik, katyonik ve nötral lipozomlar) lipozom formülasyonları hazırlanmıştır. Partikül boyutu, zeta potansiyel, fosfolipid miktarı, tabaka sayısı, enkapsülasyon hacmi, vezikül ve DNA stabilitesi ile in vitro genetik etkin madde salımı incelenerek lipozomlar karakterize edilmiştir. Stabil lipozom-DNA kompleksi hazırlandıktan sonra, kitozanla güçlendirilmiştir. DNA'nın hazırlama sırasında stabil kaldığı ve yapısal özelliklerini koruduğu tespit edilmiştir. Hazırlanan boncuklar, in vivo transfeksiyon verimi açısından incelenmiştir. Fare bacak kasına i.m. uygulanan örneklerde 2 hafta sonra çıplak DNA'ya oranla daha yüksek gen ekspresyonu saptanmıştır.

Sonuç olarak, pGL2 plazmid DNA'sı ile yapılan bu model çalışmada, genetik materyal taşıyan lipozomal sistemlerin kitozanla güçlendirilmesi ile optimum in vivo gen ekspresyonu elde edilebileceği konusunda olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Literatürde, bu konuda yapılmış çalışma olmamasından ötürü özgün ve gen tedavisi açısından umut vaad edici bir çalışma olduğu söylenebilir.

KÜMEN HİDROPEROKSİTİN GENOTOKSİK ETKİSİNİN KOMET VE MİKRONUKLEUS TESTLERİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

H. KURT, A. DEVİREN

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, İSTANBUL

Reaktif oksijen türleri (ROS) başta DNA molekülü olmak üzere birçok molekülde hasar meydana getirmektedir. Çok çeşitli oksidan maddenin DNA hasarı oluşturduğu bilinmektedir. Ancak hidroperoksitlerin bu etkisi ile çalışma kısıtlıdır. Kümen hidroperoksit günümüzde reaktif oksijen türevlerinin etkilerini araştırmak için kullanılabilecek uygun bir kimyasal bileşiktir. Kümen hidroperoksitin genotoksik etkisini Mikronükleus (MN) testi ve komet deneyini kullanarak karşılaştırmalı olarak incelemesini amaçladık. Çalışmamızda eşit sayıda kadın ve erkekte oluşan sigara kullanmayan 20 sağlıklı bireyden alınan perifer lenfositler materyal olarak kullanıldı. Hücreler periferik lenfosit kültürlerinde üretildi. Komet deneyi ve MN tekniği için her örnekten 3'er tüp ekim yapılmıştır. Birinci tüplere herhangi bir kimyasal ilave edilmemiş ve kontrol örneğini oluşturmuştur. İkinci tüplere 1,2 μM DMSO ilave edilmiştir. Üçüncü tüplere ise 1,2 μM kümen hidroperoksit (15 μM) ilave edilmiştir. Komet deneyi ve mikronükleus testleri DNA hasarlarını tespit etmek için kullanılan kolay, hassas, güvenilir ve hızlı metotlardır. Komet deneyinde agaroz jelin içerisine gömülen hücreler deterjan ve yüksek tuz solüsyonlarında parçalanırlar. Hasarlı DNA molekülü elektroforez ortamında yürütülür. Kırık içeren DNA molekülleri süper sarmal yapıdan kurtularak anoda (artı uca) doğru hareket eder. Floresans boyalarla boyanan hücreler mikroskopta incelendiklerinde kuyruklu yıldız benzer bir görüntü oluştururlar. Kuyruk kısmındaki DNA yoğunluğu oluşan DNA hasarını gösterir. Mikronükleus, mitoz esnasında tüm kromozomları kutuplara göç edemeyen hücreleri tanımlamaktadır. Telofaz evresinde, çekirdek zarı geri kalmış kromozom veya kromozom parçalarının etrafını sarmaktadır. Böylece normal çekirdekten daha küçük interfaz çekirdek yapısı oluşmakta ve bu yapıya mikronükleus adı verilmektedir. Kimyasal maddelerle muamele sonucu oluşan bu mikronükleusların sayısı hücredeki DNA hasarının göstergesidir. Mikronükleus testi sonucuna göre 15 μM kümen hidroperoksit uygulaması, kontrol ve DMSO gruplarına oranla $P < 0,05$ güven aralığında anlamlı pozitif sonuçlar vermiştir. Komet deneyi sonucuna göre 15 μM kümen hidroperoksit uygulaması, kontrol ve DMSO gruplarına oranla $P < 0,05$ güven aralığında anlamlı pozitif sonuçlar vermiştir. Kümen hidroperoksitin genotoksik etkisini MN testi ve komet deneyini kullanarak karşılaştırmalı olarak incelemesini amaçladık. Her iki test sonucunda pozitif sonuçlar aldığımızdan dolayı kümen hidroperoksitin etkilerinin değerlendirilmesinde iki testin de kullanılabileceğini düşünüyoruz. Komet deneyinde DNA kırıklarının yanı sıra özel enzimler kullanılarak birçok hasar tipinin tespit edilebilmesinden dolayı daha hassas olduğunu düşünmekteyiz. Komet deneyinde hücre kültürüne gerek duyulmaması ve daha hızlı sonuçlar alınması deneyin avantajları olarak karşımıza çıkmaktadır. Fakat MN testi anoploidilerin tespit edilmesine olanak sağladığı için komet deneyine göre bir avantaj kazanmaktadır. Literatürde her iki test sisteminin farklı hasar tiplerini tespit edebilmesinden dolayı her iki testin de aynı anda kullanılması daha faydalı olabileceği bildirilmektedir.

PROTEİNLERİN POLİAKRİLAMİT JEL ELEKTROFOREZİNDE TESPİTİ İÇİN HIZLI BİR YÖNTEM

I. PERÇİN, E. SAĞLAR, S. ÜNLÜ, İ. Ç. KARAASLAN

Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji AD, ANKARA

Amaç: SDS-PAGE proteinlerin analizi için güvenilir bir yöntemdir. Fakat jellerin boyanması oldukça zaman alıcıdır. Bu çalışmada proteinlerin boyanması için hızlı ve kolay bir yöntem tanımlanmaya çalışılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada İnsan Serum Albumin'inin (HSA) SDS-PAGE'de etidyum bromür (EtBr) ile etkili ve tekrarlanabilir şekilde boyanabildiğini gösterdik. %6 'lık SDS-poliakrilamit jelin elektroforezi gerçekleştirildi. Elektroforez sonrasında jeller 15 saniye 30µg/ml EtBr çözeltisi ile boyandı. Protein bantları bir transillüminatör kullanılarak gözlemlendi. Yöntemin hassasiyeti çeşitli HSA konsantrasyonlarında analiz edildi. HSA konsantrasyonları sırasıyla 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 8 µg idi. Kontrol olarak, jeller Standart Coomassie metoduyla boyandı.

Bulgular: Her iki durumda da protein bantları boyamaya bağlı olarak kolayca tespit edildi. HSA konsantrasyonuna bağlı renklenmedeki yoğunluk gösterildi.

Sonuç: Bu çalışma -DNA elektroforezinde olduğu gibi- EtBr'ün, proteinlerin elektroforezinde elde edilen sonuçların hızlıca değerlendirilmesinde kullanılabileceğini göstermiştir.

HRM ANALİZİYLE NF1 MUTASYONLARININ HASSAS VE HIZLI OLARAK SAPTANMASI

A. KUZPINAR 1, Y. K.TERZİ 1, B. ANLAR 2, Ş. AYTER 1

1 Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji,
2 Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik Nöroloji, ANKARA

aslikuzpinar@gmail.com

Amaç: Nörofibromatosis tip 1 (NF1), pigmentasyon bozuklukları, nörofibromalar ve malign tümör riskinin artışı içeren değişik komplikasyonlarla karakterize, yaygın otozomal dominant bir hastalıktır. NF1 geninin büyüklüğü ve kompleksliği nedeniyle, mutasyonların çeşitliliği ve her bir aile içindeki spesifik mutasyonları tanımlama ihtiyacı, NF1 mutasyonlarının saptanmasını gerektirmektedir. Amacımız, HRM analiziyle, NF1 genindeki mutasyonları saptamaktır.

Gereç ve Yöntem: Moleküler tanı laboratuvarlarında real-time PCR teknolojileri, bir çok yoğun emek harcanan metodların yerini almış bulunmaktadır. HRM analizi, mutasyon taraması ve genotiplendirmede kullanılabilen uygulaması kolay ve etkili bir tekniktir. Bu tekniğin avantajı, mutasyon saptamanın amplifikasyon ile aynı reaksiyon tüpünde gerçekleşmesidir. İnterkalasyon yapan bir boya olan SYTO9, çift zincirli DNA'ya özgül olarak bağlanır. Artan sıcaklıkla beraber amplikonların çift zincirli DNA'dan tek zincirli DNA'ya ayrılması esnasında meydana gelen florasan işaretteki değişikliklerle özgül "melt" davranışları saptanır. Her amplikonun denatürasyon sıcaklığı farklı olduğu için mutasyonların saptanması, çalışılan DNA örneklerinin "melt" eğrileri ve Tm derecelerinin sağlıklı örneklerinki ile karşılaştırılması temeline dayanır.

Sonuçlar: Mutant örneklerin "melt" eğrileri, sağlıklı kontrollerin "melt" eğrileri ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. Kısa amplikonlarda mutasyon saptanması uzun amplikonlara oranla daha etkin olarak gerçekleşmiştir. Amplikonların GC içerikleri "melt" eğrilerini etkilemiştir. Sonuçlar DNA dizi analizi ile doğrulanmıştır.

Tartışma: HRM, klinik örneklerdeki mutasyonları görüntülemek için hassas, hızlı ve uygulaması kolay bir yöntemdir

ADENOVIRUS ARACILI TRAIL TRANSFERİ OSTEOARTRİTLİ HASTALARDAN İZOLE EDİLMİŞ NORMALDE APOPTOZA DİRENÇLİ SİNOVİYAL FİBROBLASTLARI YOK ETTİ

A. BISGIN 1, A. DİLŞAD ŞANLIOĞLU 1, S. TÜZÜNER 2, E. TERZİOĞLU 3, S. ŞANLIOĞLU 1

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi 1 Gen Tedavi Ünitesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,
2 Ortopedik Cerrahi AD,
3 Romatoloji Allerji-İmmunoloji BD, ANTALYA

Özet: Osteo artrit (OA), insanların %80'den fazlasını etkileyen en sık gözlenen eklem hastalığıdır. Yaşa bağlı olarak, kalıtsal olarak ya da bir hastalık veya travma sonrası hasarlanmaya bağlı olarak oluşabilir. Hastalık eklemlerin ağırlık taşıyan bölgelerinde kartilaj hasarı ve ağırlık taşımayan bölgelerinde ise osteofit oluşumlarıyla karakterizedir. IL-1 beta ve TNF alfa proinflamatuvar sitokinlerin artışı sonucu hastalığın progresyonu hızlanabilir ve sinovyal inflamasyona bağlı olarakda osteoartritte alevlenmeler gözlenebilir. Mevcut tedavi yaklaşımları tedaviye yönelik değil sadece eklem inflamasyonunu azaltarak ağrının azaltılmasına yöneliktir. Son yıllarda da, sinovyal hücrelerin TNF, FasL ve TRAIL gibi öldürücü ligandlar aracılığıyla apoptozise uğratılması yeni bir tedavi seçeneği olarak gündeme gelmiştir. Yakın bir zamanda yayınladığımız bir çalışmamızda romatoid artritli (RA) hastalardan elde edilen sinoviositlerdeki TRAIL reseptör kompozisyonunun, adenovirus aracılı TRAIL duyarlılığını (Ad5hTRAIL) belirleyen ana faktör olduğunu göstermiştik. Bu çalışmamızda ise başka bir eklem hastalığı olan Osteo artritli (OA) hasta gruplarında artroskopi sonucu elde edilen sinovyal hücrelerdeki TRAIL reseptör kompozisyonlarının belirlenerek bu hastalardan izole edilen sinovyal hücreler üzerinde adenovirus aracılı gen transferinin (Ad5.hTRAIL) terapötik etkinliğinin saptanması hedeflenmiştir.

Materyal – Metod: Sinovyal hücrelerin adenoviruslarla infeksiyon düzeyleri cerrahi olarak OA'li hastalardan elde edilen sinoviositlerin, yeşil floresan protein kodlayan adenoviruslar ile transdüksiyonu sonrası floresan mikroskopi kullanarak saptanmıştır. OA sinoviositlerinin TRAIL reseptör kompozisyonları öncelikle her bir gene spesifik tasarlanmış problemlerle gerçek zamanlı RT-PCR yöntemi kullanarak sonrasında ise her bir TRAIL reseptör subtipine karşı geliştirilmiş spesifik antikorlar kullanılarak akış sitometrisiyle belirlenmiştir.

Bulgular: OA'li hastaların sinoviositlerinde yapılan gerçek zamanlı PCR analizlerinde TRAIL reseptör kompozisyonunun hastadan hastaya farklılık gösterdiği tesbit edilmiştir. Ancak akış sitometri analizleri ise hücre yüzeyinde yalnızca TRAIL-R2 ölümcül reseptör gen ekspresyonunun varlığını göstermiştir. Sinovyal hücreler Ad5hTRAIL infeksiyonu sonrasında ölüme sürüklenmiştir.

Sonuç: Elde ettiğimiz veriler, adenovirus aracılı TRAIL transferinin RA nin yanısıra dejeneratif artritte etkin bir terapötik yöntem olarak kullanılabilirliğini desteklemektedir.

İNSAN PRİMER ENDOTEL HÜCRELERİNDE HOMOSİSTEİNİN TELOMER UZUNLUĞUNA ETKİSİ

C. ARAL 1, S. ÖZGÜR TEKELİ 2, A. ÖZER 1, K. EMERK 2

1 Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,
2 Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, İSTANBUL

aozer@marmara.edu.tr

Amaç: Telomerler kromozom uçlarında yer alan ve DNA replikasyonunda kromozom bütünlüğünün korunmasını sağlayan uzun DNA dizileridir. Her hücre döngüsü sonunda replikasyon sonucu kromozomların bu özel dizilerinde bir kısalma meydana gelir ve yapının kaybedilmesi ile hücre senesense girer. Fizyolojik telomer kısalmasına ek olarak çok sayıda faktörün kısalma üzerine etkili olduğu bildirilmiştir. Bu etkenlerden biri de oksidatif strestir. Bu çalışmanın amacı homosistein ile oluşturulan oksidatif stresin insan primer endotel hücrelerinde telomer uzunluğuna etkisini araştırmaktır.

Yöntemler: İnsan endotel hücreleri göbek kordonundan elde edilerek kültüre edilmiş ve ardışık pasajlamalarla 20 popülasyon çiftleyene dek bölünmeleri sağlanmıştır. Hücre serileri üzerine değişik konsantrasyonlarda homosistein uygulanarak her bir seride telomer uzunluğu DIG işaretli probalar kullanılarak Southern blot tekniği ile incelenmiştir. Her bir seride ortalama telomer uzunluğu jel analiz sistemi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Sonuçlar: Çalışma kapsamında incelenen hücrelerde popülasyon çiftlemesi ile telomer uzunluğunun tüm gruplarda azaldığı ve bu azalmanın özellikle yüksek homosistein (500 uM) uygulanan gruplarda daha hızlı olduğu belirlenmiştir.

Tartışma: Elde ettiğimiz bulgular yüksek homosisteinin endotel hücrelerinde telomer kısalmasını arttırdığını göstermektedir. Sonuç olarak, hiperhomosisteineminin endotel hücrelerinde daha hızlı yaşlanmaya yol açarak buna bağlı endotel fonksiyonlarında azalma/bozulmaya yol açabileceğini düşündürmektedir.

FAKTÖR V LEİDEN GEN MUTASYONUNUN BELİRLENMESİ VE REAL TIME PCR YÖNTEMİNİN KULLANILMASI

G. YORGANCIOĞLU 1, M. SARIMAN 1, C. SESAL 2

1 Marmara Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 3. Sınıf,

2 Bitki Hastalıkları ve Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL

guldenbio@yahoo.com

Amaç: Faktör V Leiden (FVLeiden) Gen Mutasyonu (G1691A) otozomal dominant kalıtılan bir pıhtılaşma bozukluğudur. Literatürde trombofiliye eğilim yarattığı çeşitli kaynaklarda belirtilen FVLeiden gen mutasyonunun, Real Time PCR yöntemiyle araştırılması için bir ön çalışma yapmayı amaçladık.

Yöntem: Hasta grubu tromboemboli ön tanısı konan 15 olgudan, kontrol grubu ise hikayelerinde patolojik herhangi bir sapma görülmeyen 30 kişiden oluşmaktadır. Çalışmada olgulardan alınan 5 cc venöz kan EDTA'lı tüplere konulmuştur. Genomik DNA izolasyonu QIAamp® DNA Mini Ekstraksiyon Kiti(QIAGEN) protokolüne uygun olarak yapılmıştır. Genomik DNA'larda FVLeiden mutasyonunun varlığı Real Time PCR (Applied Biosystems, ABI PRISM® 7000 Sequence Detection System) kullanılarak ölçülmüştür.

Sonuçlar: Real Time PCR işlemi sonunda Single Nucleotide Polymorphism (SNP) analizi ile sonuçlar yorumlanarak hasta genotipleri belirlenmiştir. Olgulardan ikisinin FVLeiden mutasyonu bakımından homozigot mutant ve üçünün de heterozigot mutant olduğu tespit edilmiştir. Diğer 10 hastada ve kontrol grubunda ise mutasyona rastlanmamıştır.

Tartışma: Son yıllarda tromboza sebep olduğu düşünülen kalıtsal pıhtılaşma bozuklukları ile ilgili moleküler çalışmalar hız kazanmıştır. Dölek'in tezine göre, genel tromboemboli grubunda FVLeiden mutasyonu hasta grubun %28,5'inde pozitif olarak görülmüş, FVLeiden mutasyonunun tromboz için dikkate değer bir risk faktörü olabileceği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre de hasta grubun yaklaşık % 33'ünde FVLeiden mutasyonu pozitif olarak belirlenmiş; ancak hasta sayısının azlığı nedeniyle ortaya istatistiksel bir veri konulamamıştır.

MATERNAL PERİFERİK KANDA FETAL GENOMİK DNA'NIN BELİRLENMESİ

U. AKPULAT 1, Ç. ERESEN YAZICIOĞLU 1, S. KIZILDAĞ 1, H. O. SERCAN 1,
S. ALTUNYURT 2, S. GÜÇLÜ 2, M. CELİLOĞLU 2, N. DEMİR 2, M. SAKIZLI 1

1 Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,
2 Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, İZMİR

Amaç: Anne kanından fetüse ait serbest DNA'nın saptanabilir olması, girişimsel olmayan prenatal tanı yöntemleri için yeni uygulamaların başlatılmasını sağlamıştır. Gelişen teknolojiyle birlikte anne kanındaki fetüs DNA'sının analizi ile fetüsün cinsiyeti saptanabilmektedir. Bu çalışmada, konvansiyonel PCR analizi ile hamile kadınların periferik kanındaki fetüse ait genetik materyalin varlığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Periferik kan örnekleri 11-24'ncü gebelik haftasındaki hamile kadınlardan elde edildi. DNA 400µl serum örneğinden izole edildi. Maternal serumda Y kromozomuna özgü DYS14 dizisini belirlemek için her bir DNA örneğine 45 döngülük PCR kuruldu. PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinden sonra, etidyum bromid ile boyanarak görüntülendi. PCR sonuçları, amniyosentezin sitogenetik analizi ya da ultrason bulguları ile karşılaştırıldı.

Sonuçlar: İncelenen 40 olgunun 25'inin amniyosentez ya da ultrason sonucuna ulaşılabilmiştir. Tüm istatistiksel analizler bu 25 olgu üzerinden yapılmıştır. Sitogenetik analizler ve ultrason bulguları, 20 fetüsün erkek geri kalan 5 fetüsün dişi cinsiyette olduğunu göstermiştir. DYS14 lokusu, erkek fetüs taşıyan 20 hamile kadının serumlarının 17'sinde ve dişi fetus taşıyan 5 hamile kadının serumlarının 2'sinde belirlenmiştir.

Tartışma: Çalışmamız, maternal serumda fetal DNA'nın varlığını %80 doğrulukla göstermiştir. Anne kanındada fetal DNA'nın varlığı PCR analizi ile belirlenebilmektedir. Ancak, rutin bir izlem ve tanı yöntemi olabilmesi için %100 duyarlılığa ulaşılması gerekmektedir.

HeLa HÜCRE KÜLTÜRLERİNDE EPİRUBİSİN VE DAUNORUBİSİN'İN TEŞVİK ETTİĞİ APOPTOZUN ARAŞTIRILMASI

G. ÖZCAN ARICAN 1, U. SERBES 1, E. ARICAN 2

1 İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü;

2 İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü; İSTANBUL

Giriş ve Amaç: Epirubisin ve Daunorubisin, kanser kemoterapisinde kullanılan antrasiklin türevi antibiyotiklerdir. Bu araştırmada Epirubisin ve Daunorubisin'in IC90 dozlarının hücre çoğalması ve hücre ölümü üzerine hem ayrı ayrı hem de kombine etkileri insan serviks karsinoması kökenli HeLa hücre soyunda araştırıldı.

Gereç ve Yöntemler: Bu amaçla, HeLa hücre kültürlerine hem Epirubisin hem de Daunorubisin'in saptanan IC90 dozları (sırasıyla, 0,5 µg/ml, 0,1 µg/ml) 24 ve 48 saat süresince uygulandı. Deneyler Kontrol, Epirubisin, Daunorubisin ve Epirubisin + Daunorubisin olmak üzere dört grup halinde gerçekleştirildi. İlaçların hem tek başlarına hem de kombine olarak uygulandıkları anda oluşturdukları sitotoksikite tesbitinde çoğalma hızı (MTT analizi) ve apoptotik indeks gibi hücre kinetiği parametreleri kullanıldı. Ayrıca DNA fragmentasyonu agaroz jel elektroforezi ile araştırıldı.

Bulgular ve Sonuç: Araştırmamızda değerlendirilen parametrelerin ışığında ilaçların kombine uygulamalarının tek başlarına uygulamaya göre daha sitotoksik bir etkiye sahip olduğu sonucuna varıldı. Deneylerimizde ortaya çıkan bu sitotoksik etki uygulama zamanına bağlı olarak HeLa hücrelerinin çoğalma hızında anlamlı bir azalma ve apoptotik indeks değerlerinde de anlamlı bir artış olarak saptandı ($p < 0.001$).

TÜRK TOPLUMUNDA AURORA-A GEN POLİMORFİZMLERİ VE AKCİĞER KANSERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ

İ. DOĞAN 1, A. EKMEKÇİ 1, A. S. YURDAKUL 2, İ. H. ÖNEN 1, C. ÖZTÜRK 2,
E. KONAÇ 1, A. ACAR 2, M. YALINAY ÇIRAK 3

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

2 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları AD,

3 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, ANKARA

Protein kinaz ailesinin bir üyesi olan Aurora kinazlar hücre bölünmesi sırasında, kromozom ayrılmasında, iğ ipliklerinin birarada bulunması ve düzenliliğinde, kromozomların yoğunlaşmasında ve sitokinezde yer alırlar. Aurora-A'nın kinaz fonksiyonu ve tümörün anöploidi derecesi gende bulunan Phe31Ile ve Val57Ile polimorfizmleriyle değişebilir. Bizim amacımız Türk toplumunda bu genin kodon 31 ve 57'deki polimorfik değişimlerini ve akciğer kanseri ile ilişkisini ortaya çıkarmaktır.

Gereç ve Yöntem: Akciğer kanserli hastalarda Aurora-A genindeki polimorfizmleri saptamak için 2 grup oluşturulmuştur. Birinci grup, 80 adet ,yeni tanı alan akciğer kanserli hastalardan elde edilen kanlardan, ikinci grup ise 100 adet, ailesinde kanser öyküsü bulunmayan, sigara içmeyen ve yaş aralığı hastalarla uyumlu sağlıklı bireylerden alınan kanlardan oluşturulmuştur. Tam kandan genomik DNA izolasyonunun ardından, PZR yapılmış ve tüm örnekler DNA dizilim tekniğiyle genotiplendirilmiştir.

Bulgular: Sonuçlarımıza göre akciğer kanserli hasta ve kontrol grubunda Phe31Ile ve Val57Ile polimorfizmleri bakımından karşılaştırıldığında risk faktörü oluşturabilecek bir ilişki bulunmamıştır. Pearson's χ^2 p değerleri sırasıyla; 0,364 ve 0, 480'dir($P>0.05$).

Tartışma: Yapılan bazı özefagus, kolon, meme ve over kanseri çalışamalarında Phe31Ile ve Val57Ile değişimlerinin anlamlı olduğu ortaya koyulsada, çalışmamızda akciğer kanserli hastalarda Aurora A polimorfizmi alel frekansları arasında anlamlı bir değişim bulamadık. Akciğer kanseri grubunda olgu sayısının az olması bu etkinin ortaya çıkması için yetersiz kalmış olabilir. Bu nedenle grup genişletilerek çalışma devam edecektir.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı'nca 01/2006-01 Kod No.'lu proje ile desteklenmiştir.

TRAKYA BÖLGESİ POPÜLASYONUNDA HLA ALLEL SIKLIKLARI

F. S. PALA 1, H. GÜRKAN 1, K. TABAKÇIOĞLU 1, Ç. ALGÜNEŞ 1

1Trakya Üniversitesi, Tıp fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, EDİRNE

ktabakcioglu@trakya.edu.tr

Amaç: Trakya Bölgesi'nde HLA (Human Leucocyt Antigens) allellerinin dağılım ve frekansları belirlenerek, Türkiye genelindeki HLA allellerinin dağılım ve frekansları ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışma grubu HLA doku tiplmesi istemi ile Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.D.'na başvuran, üç kuşaktır Trakya Bölgesinde yaşayan, birbirileri ile akrabalık ilişkisi olmayan ve aynı dil özelliklerini gösteren sağlıklı 127 kişiden oluşturuldu. HLA- A, B ve DRB1 genotiplendirmesinde PCR-SSP (polymerase chain reaction - sequence specific primers) yöntemi kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmeler MINITAB 13.32 Release paket programı (Lisans No: wcp 1331.00197) kullanılarak yapıldı.

Bulgular: Tüm alleler içinde en sık HLA-B*35 (% 23.62) gözlemlendi. Diğer yüksek oranda görülen alleler HLA-A*02 (% 20.86), HLA- A*24(A9) (% 14.56), HLA-B*51 (% 10.23), HLA-DR*11 (% 17.71), HLA-DR*15 (% 11.41) oldu..

Sonuç: Akdeniz Bölgesinin allel frekansları ile karşılaştırıldığında, Trakya popülasyonunun allel frekanslarının farklılık gösterdiği saptanmıştır ($p < 0.05$). Akdeniz Bölgesinde HLA-A*03 allel frekansı % 21.32, HLA-B*05 allel frekansı % 28.68, HLA-DR*52 allel frekansı % 42.97 iken, Trakya Bölgesi'nde bu allelerin frekansı %1'in altında gözlemlenmiştir. Ancak, Arnaiz ve ark.'nın Türkiye genelini kapsayan çalışmalarının sonuçları ile karşılaştırıldığında, HLA allellerinin dağılım ve frekanslarının istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı ($p > 0.05$) saptanmıştır.

HLA allellerinin sıklığı HLA'nın polimorfizminden dolayı toplumlar arasında farklılık göstermektedir. Bu nedenle yapılan çalışmalarda kullanılan örneklemin genel olarak o toplumun HLA sıklığını yansıtmaması ve toplum değerlerinden farklılık göstermemesi önemli olmaktadır.

Pek çok otoimmün hastalığa yatkınlıkla ilişkilendirilen farklı HLA alleleri vardır. Toplumdaki allel frekanslarının bilinmesi, toplumun belli hastalıklara yakalanma riskleri hakkında fikir verebilecektir.

ERKEK PSÖDOHERMAFRODİTİZM DÜŞÜNÜLEN OLGU SUNUMU**A. TÜRKYILMAZ 1, D. ORAL 1, O. İSSİ 2, T. BUDAK 1**

1 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,
2 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji AD, DİYARBAKIR

abbcan@dicle.edu.tr

Bu çalışmada Anabilim dalı laboratuvarımıza gönderilen, öyküsünde inmemiş testis, cinsel farklılaşma bozukluğu bulunan erkek görünümlü hasta incelenmiştir. Yapılan X kromatin sonucu (+), kromozom analiz sonucu da 46,XX olarak bulunmuştur. Üroloji kliniğinde de takip edilen hastanın, yapılan USG'sinde uterus ve overleri saptanması üzerine overektami yapılan ve erkek psödohermafroditizm olabileceği düşünülen hastanın etyolojisini araştırmak üzere kliniğe yatırılmıştır. Yapılan tetkiklerle birlikte konu mevcut literatür bulguları ışığında tartışılmıştır.

TİP2 DİYABETLİ HASTALARDA ABCA1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ

H. A. ERGEN 1, S. İSBİR 2, A. TEKELİ 1, T. İSBİR 1

1 İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp AD,
2 Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi AD, İSTANBUL

e-mail:tisbir@superonline.com

Amaç: Dislipidemi, diyabetik olsun veya olmasın ateroskleroz ve koroner arter hastalığına neden olan en önemli faktörlerden biridir. Diyabetik hastalarda en önemli dislipidemi göstergeleri düşük HDL-kolesterol ve yüksek trigliserid seviyeleridir. Ayrıca diyabetik hastalarda gliseminin iyi kontrol edilememesi ve insülinin yetersizlik derecesinde hiperlipidemi ve makrovasküler komplikasyonlar oluşmasında önemlidir. Diyabetiklerdeki bir diğer lipid metabolizması bozukluğu olan düşük HDL-kolesterol düzeyi, HDL'deki fonksiyonel bozukluklar sonucu oluşabilir. Adenozin trifosfat bağlayan kaset transporter (ABC) süper ailesi, metabolik ürünler, lipidler, steroller ve ilaçlarında aralarında bulunduğu çeşitli moleküllerin hücre dışına taşınmasında rol oynayan bilinen en geniş membran transporter proteinleridir. Bu ailenin bir üyesi olan ABCA süper ailesi oniki farklı transporter içerir. ABCA1 geni, 9q31.1 bölgesinde yerleşmiş olup kolesterolün ters transportunda önemli rol oynamaktadır. Çalışmamızda, bu bilgilerin ışığı altında ABC1 genine ait polimorfizmlerin, diyabet tanısı konulmuş hastalarda dağılımı ve lipid profilleri üzerine etkisinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Yöntemler: Çalışmamızda 33 tip2 diyabet tanısı konulmuş hasta ve 50 sağlıklı kontrol kullanılmıştır. EDTA'lı tüplere alınan 10ml.lik kan örneklerinden alkolle presipitasyon yöntemi ile DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA örneklerinden PCR-RFLP tekniği ile ABCA1 C69T ve G191C gen polimorfizmleri tayin edilmiştir.

Bulgular: Çalışma grupları arasında ABC1 C69T genotip ve alellerinin dağılımları açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Kontrol grubunda diyabetik gruba göre ABCA1 G191C B alleli taşıma oranı istatistiksel olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Diyabetik hastalarda ABCA1 G191C AA genotipi taşıma riski kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Diyabetik hastalarda ABC1 G191C BB genotipi taşıyanlarda AB genotipi taşıyanlara göre açlık kan şekeri daha yüksek bulunmuştur.

Sonuç: Çalışmamızda diyabetik hastalarda ve sağlıklı kontrol grubunda ABCA1 C69T ve G191C gen polimorfizmleri açısından farklılık gözlemlemekle beraber bu polimorfizmlerin lipid profilleri üzerinde bir etkisi saptanmamıştır.

VİTAMİN D RESEPTÖR (VDR) GENİ APA 1 GEN POLİMORFİZMİ ve KOLOREKTAL KANSERE YATKINLIĞIN ARAŞTIRILMASI

İ. YAYLIM - ERALTAN 1, H. A. ERGEN 1, S. ARIKAN 2, N. BOZKURT 1, Ü. ZEYBEK 1, E. KAYTAN 3, B. TOPTAŞ 1, T. İŞBİR 1

1 Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp AD,
2 İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Cerrahi Kliniği,
3 İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, İSTANBUL

Amaç:1,25-dihidroksivitamin D3 etkilerini, çeşitli dokularda tanımlanmış bir spesifik hücre içi reseptör olan vitamin D reseptörü aracılığıyla göstermektedir. VDR'deki belli bazı polimorfizmler çeşitli kanser tipleri ile ilişkilidir. Bu amaçla çalışmamızda VDR Apa1 genotipinin 36 kontrol, 23 kolorektal kanserli vakada serum 25-hidroksivitamin D3 seviyeleri ile ilişkili olup olmadığını araştırdık.

Materyal Metod: PCR ve RFLP ve agaroz jel teknikleri bu polimorfizmi saptamak amacıyla kullanıldı. 25-hidroksivitamin D3 serum seviyeleri ELISA ile ölçüldü. **Sonuçlar:** Kolorektal kanserli ve kontrol grubunda Apa AA, Aa ve aa genotipleri sırasıyla, %43.5,%56.5,%0; %58.3, %38.9,%2.8 olarak saptanmıştır. VDR Apa 1 Aa genotipi taşıyan kolorektal kanserli hastalarda serum 25 OH vitamin D3 düzeyleri kontrollerdekine oranla istatistiksel anlamlı derecede düşüktü ($p<0.01$).

Yorum: Bu veriler ışığında, düşük serum 25 hidroksi vitamin D3 ve VDR Apa 1 gen polimorfizminin özellikle kolorektal kanser için değerlendirilebilir birer risk faktörü olarak ele alınabileceği kanısındayız..

PRİMER NOKTURAL ENÜREZİSLİ ÇOCUKLARDA KİR 4.1-KCNJ10 GENİ POLİMORFİZMLERİ

A. BALAT 1, M. PARLAK 1, S. OĞUZKAN 2, B. GÖĞEBAKAN 2, M. BÜYÜKÇELİK 1

1 Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Nefroloji BD,

2 Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, GAZİANTEP

Amaç: Son çalışmalar enüretik çocuklarda idrar elektrolitlerinde, özellikle de potasyumda bazı farklılıklar olduğunu göstermiştir. Potasyum taşıyıcı kanallar olan Kir 4.1 ve Kir 1.1 böbrek distal tübüllerinde sentezlenmekte ve iyon taşınmasında anahtar rol oynamaktadır. KCNJ10 kanal proteini Kir 4.1 ailesinin bir üyesidir. Bu çalışmada primer nocturnal enürezis (PNE) ile KCNJ10 geni polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: 85 PNE'li çocuk ile yaş ve cinsiyeti benzer 92 sağlıklı kontrol, KCNJ10 geninde görülen tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) için analiz edildi. Bu SNP'ler; intron 1'de GA transversiyonu (SNP1), ikincisi ekzon 2'deki GA transversiyonu (SNP2), üçüncüsü ise promotör bölgede TC transisyonudur (SNP3). Tüm SNP'ler PCR-RFLP yöntemi ile analiz edildi.

Sonuçlar: KCNJ10 geninde bulunan intron 1'deki SNP1 ve ekzon 2'deki SNP2 Türk toplumu için bilgi verici değildi. Promotör bölgedeki SNP3 ise genotip dağılımı ve allel sıklığı bakımından enürezis hastaları ile güçlü bağlantı gösterdi. SNP3'ün hasta grubundaki genotip dağılımı; TT (%71.7), TC (% 25.8) ve %2.3 (CC) kontrol grubundaki genotip dağılımı TT(%38.2), TC (%58.6), CC (%3.2) ile karşılaştırıldı ($\chi^2=21.32$, $p= 0.00002$). TT genotipi enüretik çocuk grubunda yüksek bulundu. PNE grubundaki T (%84.7) ve C (1%5.3) allel sıklıkları kontrol grubundaki T (%67.3) ve C (%32.7) allel sıklıkları ile karşılaştırıldı ($\chi^2=13.33$, $p=0.00026$).

Tartışma: Bu çalışmada KCNJ10 geni polimorfizmleri PNE'li çocuklarda ilk defa analiz edilmiştir. Sonuç olarak KCNJ10 geni promotör bölgesindeki SNP3 ile PNE'li Türk çocukları arasında ilişki olabileceğini öne sürmekteyiz.

NEFROTİK SENDROMLU ÇOCUKLARDA ÜROTENSİN II GEN POLİMORFİZMİ: ÖN ÇALIŞMA

A. BALAT 1, B. GÖĞEBAKAN 2, M. BÜYÜKÇELİK 1, S. OĞUZKAN 2,
N. ÇÖL ARAZ 3, M.ÇİFTÇİ 3, F. GÖK 4

1 Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik Nefroloji BD,

2 Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

3 Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, GAZİANTEP

4 Gülhane Askeri Tıp Akademisi Pediatrik Nefroloji BD, ANKARA

Amaç: İnsan ürotensin II enzimi (hU-II), memelilerdeki en yaygın vazokonstriktörlerden biri olup, son çalışmalar; U-II'nin böbrekte muhtemel bir otokrin/parakrin fonksiyonunun olduğunu ve renal patofizyoloji çalışmalarında önemli bir hedef molekül olabileceğini ortaya koymaktadır. Bu peptid zincirini kodlayan gen 1p36'da yerleşik olup 5 ekzon içermektedir. Bilgilerimiz dahilinde nefrotik sendromlu (NS) çocuklarda U-II gen polimorfizmi ile yapılan bir çalışma mevcut değildir. Biz bu çalışmada NS'lu çocuklar ile U-II geni protein kodlayan bölgesinde bulunan T21M polimorfizmi arasındaki olası bir ilişkiyi araştırdık.

Gereç ve Yöntem: 87 NS'lu çocuk (48 steroid-duyarlı, 39 steroid-dirençli) ile yaş ve cinsiyetleri benzer 77 sağlıklı kontrol U-II geni T21M polimorfizmi için analiz edildi. Ekzon 1' de CT transisyonu ile oluşan bu polimorfizm sonucunda 21. pozisyonda bulunan treonin amino asiti yerine metiyonin kodlanmaktadır. Bu polimorfizm PCR-RFLP yöntemi ile analiz edildi.

Sonuçlar: T21M polimorfizmi için NS grubundaki genotip dağılımları; TT (% 32.2), TC (%56.3), CC (%11.5) ile kontrol grubundaki genotip dağılımları TT (%26.0), TC (%39.0), CC (%35.0) karşılaştırıldı. TC genotipi nefrotik sendromlu çocuk grubunda yüksek bulundu ($\chi^2=8.16$, $p=0.025$). TT genotipi steroide-duyarlı çocuklarda daha yüksek olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Tartışma: Bu çalışma nefrotik sendromlu çocuklarda U-II geni T21M polimorfizminin analiz edildiği ilk araştırmadır. Sonuç olarak, T21M polimorfizminde görülen TC genotipi ile NS'li Türk çocukları arasında bir ilişki olabileceği sonucuna vardık. Ancak bu peptidin nefrotik sendromdaki rolünün aydınlatılması için fazla sayıda örnek ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

AKUT POSTSTREPTOKOKAL GLOMERULONEFRİT VE "HENOCH-SCHONLEİN" NEFRİT'Lİ ÇOCUKLARDA ÜROTENSİN II GEN POLİMORFİZMİ: ÖN ÇALIŞMA

A. BALAT 1, S. OĞUZKAN 2, M. BÜYÜKÇELİK 1, B. GÖĞEBAKAN 2,
N. ÇÖL ARAZ 3, M. ÇİFTÇİ 3

1 Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik Nefroloji BD,
2 Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, GAZİANTEP

Amaç: İnsan ürotensin II (hU-II) enzimi, memelilerdeki en yaygın vazokonsrikörlerden biri olup, son çalışmalar; U-II'nin böbrekte muhtemel bir otokrin/parakrin fonksiyonunun olduğunu ve renal patofizyoloji çalışmalarında önemli bir hedef molekül olabileceğini ortaya koymaktadır. Bu peptid zincirini kodlayan gen 1p36'da yerleşik olup 5 ekzon içermektedir. Bilgilerimiz dahilinde glomerulonefrit (GN)'li çocuklarda U-II gen polimorfizmi ile yapılan bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada akut poststreptokokal glomerulonefrit (APSGN) ve "henoch-schönlein" nefrit'li (HSN) çocuklar ile U-II geni protein kodlayan bölgesinde bulunan T21M polimorfizmi arasındaki olası bir ilişkiyi araştırdık.

Gereç ve Yöntem: APSGN'li 16 çocuk, HSN'li 10 çocuk ile yaş ve cinsiyetleri benzer olan 77 kontrol, U-II geni T21M polimorfizmi için analiz edildi. Ekzon 1' de CT transisyonu ile oluşan bu polimorfizm sonucunda 21. pozisyonda bulunan treonin amino asiti yerine metiyonin kodlanmaktadır. Bu polimorfizm PCR-RFLP yöntemi ile analiz edildi.

Sonuçlar: APSGN grubundaki genotip dağılımı TT (%50.0), TC (%43.7), CC (%6.3) ile kontrol grubundaki genotip dağılımı TT (%25.9), TC (38.9 %), CC (%35.2) karşılaştırıldı ($p<0.001$). TT genotipi ve T alleli (71.8 % vs 45.4 %, $p=0.01$) APSGN hastalarında yüksek bulundu. HSN'li çocuklardaki genotip dağılımı TT (%50), TC (%40) ve CC (%10), kontrol grubundaki genotip dağılımı ile karşılaştırıldı ($p=0.01$). TT genotipi HSN'li çocuklarda daha yüksek bulundu. TT genotipi ile APSGN'de makroskopik hematüri arasında pozitif ilişki olduğu saptandı ($r=0.51$, $p=0.04$).

Tartışma: Bu çalışmada U-II gen polimorfizmi, APSGN ve HSN'li çocuklarda ilk defa analiz edilmiştir. Sonuç olarak Türk Toplumunda, TT genotipi ile APSGN ve HSN'li çocuklar arasında bir ilişki olabilir. Ancak bu peptidin çocukluk çağı glomerulonefritteki rolünün ortaya konulması için çok sayıda örnekle çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KOLOREKTAL KANSERLİ BİR TÜRK POPULASYONUNDA DPYD GENİ IVS14+1G>A POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

A. UZUNKÖY, F. DİLMEÇ, A. ÖZGÖNÜL, F. AKKAFA

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ve Tıbbi Biyoloji AD, ŞANLIURFA

Amaç: Dihdropirimidin dehidrogenaz (DPD), kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan 5-Flurourasilin (5-FU) katabolizmasında kritik bir enzimdir. DPYD geninde IVS14+1G>A genetik polimorfizmi, 5-FU zehirlenmesine sebep olabilir. Biz bu çalışmada, kolorektal kanser (KRK) hastaları ve sağlıklı Türk bireylerinde DPYD geni üzerindeki IVS14+1G>A tek nükleotid (SNP) polimorfizm oranını araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: 218 bireyden (56 KRK hastası ve 162 sağlıklı birey) kan örneklerini topladık ve onların DNA'larını izole ettik. Populasyonumuzda IVS14+1G>A polimorfizm oranını belirlemede PCR-RFLP metodunu kullandık.

Sonuçlar: DPYD geni üzerinde IVS14+1 GA (heterozigot) genotipini, bu Türk populasyonunda sadece 2 sağlıklı bireyde belirledik.

Tartışma: 5-FU verilmeden önce Kanserli hastalarda bu polimorfizm için DPYD geni IVS14+1G>A polimorfizmi taranmalıdır. Ayrıca, Türk Populasyonunda gerçek allel oranını belirlemek için çok sayıda birey üzerinde çalışılmalıdır.

FETAL HEPATOSİT HÜCRELERİN İNVİTRO DOKU KÜLTÜRÜ İLE PLGA POLİ (DL-LAKTİK KO-GLİKOLİD) POLİMERİNDEKİ FARKLILAŞMASI VE OMENTUM MAJUSA İMPLANTASYONU

B. YİĞİT 1, M. KORKMAZ 2, A. NARCI 2, T. YAKUT 1, M. KARKUCAK 1, T. GÜLTEN 1

1 Uludağ Üniversitesi,Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, BURSA

2 Afyon Kocatepe Üniversitesi,Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi AD, AFYON

barbiconan@hotmail.com

AMAÇ : Son zamanlarda yapay doku elde etmek amacıyla karaciğer hücrelerinin hızlı rejenerasyon ve farklılaşma mekanizmalarında daha iyi incelenebilmesi açısından primer ve sekonder hepatosit hücre kültürleri kullanılmaktadır. Çalışmamızda erişkin tavşan hepatositlerini invivo hücre kültürü ile çoğaltarak tekrar erişkin tavşanın omentum majusuna implante ederek yapay karaciğer dokusunu elde etmeyi amaçladık.

MATARYEL METOD: Çalışmamızda erişkin Yeni Zellanda türü tavşanları hepatosit donörü ve aynı zamanda implantasyon amacıyla kullanıldı. Erişkin bir karaciğer kollajenaz tip I'le enzimatik yolla parçalanarak hepatosit süspansiyonu halinde elde edildi. Hepatosit süspansiyonu daha önce tip I kollajenle kaplanan 25 cm²'lik kültür flasklarına ekildi. Besiyeri olarak hepatosit medium (H1777 Sigma) kullanıldı. İki hafta boyunca besiyeri yaklaşık üç günde bir değiştirilerek kültür işlemine devam edildi. Üreyen hücrelerin morfolojisi, ışık mikroskobu ile boyanmadan canlı olarak ve H&E ile boyanarak incelendi. İki hafta sonrasında tüm flask yüzeyini dolduran hücreler tripsinizasyonla kaldırılarak süspansiyon haline getirildi ve sayımları yapıldı. 10x10⁷ miktarındaki hücre süspansiyonunu Kollajen tip I'le kaplanmış örgülenmemiş PLGA polimerleri (2X2 cm) üzerine ilave edilerek yeni doku kültürü flasklarına ekildi. PLGA polimerine üremesi için ilave edilen hepatositler 37 C⁰ %5'lik CO₂ inkübatöründe yaklaşık 10 gün takip edildi. Aynı tavşanın omentum majusu laparotomi ile çıkarıldı ve hücre-polimer kompleksi distal omentum içine sarılarak 5-0 vicrylle tespit edildi, implant batına konularak kapatıldı. İki hafta sonra implant alınarak parafine gömüldü ve kesitler H&E ile boyanarak incelendi.

SONUÇLAR: Erişkin karaciğer hepatosit hücreleri elde edilip ışık mikroskobunda ve H&E boyama ile teyid edildi. Hücrelerin sferoid yapıda ve santral yerleşimli nükleuslara sahip olduğu gösterildi. PLGA polimerlerindeki hepatosit hücrelerinin hem mikroskobik hem de H&E ile boyanması ile tespit edildi. İki hafta sonunda implante edilen tavşandaki polimer-hücre kompleksindeki vaskülarizasyon yapının adaptasyonunun sağlandığı gözlemlendi. İmplant edilen polimer hepatosit kompleksinin de karaciğer doku kitlesi oluşturduğu görüldü.

TARTIŞMA: Tip 1 Kollajenle kaplanmış PLGA (DL-lactic co-glucolid) polimerleri karaciğer hücrelerini taşımak için uygun yapılardır. Omentum hepatositlerin adaptasyon ve vaskülarizasyonu için iyi bir dokudur. Bu model yapay karaciğer dokusu ve diğer özefagus mesane gibi düz kas içeren organların da elde edilmesi ve ortotopik transplantasyonu için kullanılabilir.

CYP1A1 VE GSTM1 POLİMORFİZMLERİNİN ERKEK İNFERTİLİTESİ İLE İLİŞKİSİ

S. AYDOS 1, M. TAŞPINAR 1, K. AYDOS 2, A. SUNGUROĞLU 1

1 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,

2 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kısırlık Araştırma Merkezi, ANKARA

Amaç: Bir çok çevresel, fizyolojik ve genetik faktörler infertilite ve zayıf sperm fonksiyonu üzerine etkilidir. Sitokrom P450(CYP) enzimleri, CYP1A1 gibi, Glutasyon S-Transferazlarla (GSTs) birlikte çoğu çevresel kimyasal maddelerin ve mutajenlerin detoksifikasyonundan sorumludur. GST'lerde olduğu kadar, CYP enzimleri içinde çok sayıda genetik polimorfizmler bildirilmiştir. Bu güne kadar, ksenobiyotiklerin metabolize edilmesinde genetik çeşitliliğin erkek üreme fonksiyonlarındaki etkisi geniş bir şekilde çalışılmamıştır. Bu çalışmadaki amacımız, erkek infertilitesi ile (GST) M1 and T1, CYP1A1*2B(m2) gen polimorfizmleri arasında bir ilişkinin olup olmadığını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya 63 idiopatik infertil tanılı erkek birey ve 66 sağlıklı fertil erkek birey çalışmaya dahil edilmiştir. Polimorfizmlerin genotiplendirilmesinde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi(RFLP) metodları kullanılmıştır.

Sonuçlar: Tek değişkenli varyans analizi ile GSTM1, CYP1A1(m2) genotipleri ve infertilite arasında önemli farklılıklar saptanmıştır(sırasıyla, $p=0,043$, $p=0,039$). CYP1A1(m2) genotipinde, G aleli taşıyan bir kişinin infertilite riski 2,71 kat daha fazla ve GSTM1 negatif olan kişinin infertilite riski 2.24 kat daha fazladır. GSTM1 negatif olan ve CY1A1 AG veya GG genotiplerinden birini taşıyan erkeklerin infertil olma riski diğerlerinden 2,45 kat daha fazladır ($p=0,033$).

Tartışma: Bizim sonuçlarımız ksenobiyotik metabolize eden enzimlerin genetik polimorfizmlerinin inferilitede önemli rol oynayabileceğini göstermektedir. Bundan dolayı, CYP1A1 ve GSTM1 polimorfizmleri, erkek faktör infertilite olgularında fertilité potansiyelinin tahmininde önemli parametreler olabilir.

SIÇAN KOLON EPİTELİ PROLİFERASYONUNA ORLISTAT VE YEŞİL ÇAYIN ETKİSİ, β -KATENİN İLE OLAN İLİŞKİSİ

E. İ. TAŞKIN 1, K. AKGÜN DAR 2, A. KAPUCU 2, K. ALTUNBAŞ 3,
İ. FIRAT 4, H. DOĞRUMAN 1

1 İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi,

2 Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji AD, İSTANBUL

3 Afyon Kocatepe Üniversitesi Histoloji Embriyoloji AD, AFYON

4 İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji AD, İSTANBUL

Amaç: Orlistat (tetrahidrolipstatin: THL) yaygın olarak obezite tedavisinde kullanılan lipofilik bir ilaçtır. Orlistat, lipaz inhibitörüdür ve diyetdeki lipitlerin sindirim ve emilimini engelleyerek vücut ağırlığının azalmasına neden olur. Yeşil çay yan etkileri olmadığı için birçok ülkede yaygın olarak tüketilir. İçerdiği polifenollerin anti-mutajenik, anti-inflamatuvar ve anti-tümoral etkilerinin olduğu in vitro ve in vivo hayvan deneyleriyle gösterilmiştir. β -katenin, kolon epitel hücrelerinde hücre çoğalmasının kontrolünde rol oynayan bir proteindir. Kolon kanserinin erken dönemlerinde β -katenin geni ve ürünündeki değişimlerin tümör oluşumu ile ilişkili olduğu da bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı, Orlistat ile yeşil çayın gastrointestinal semptomatik etkilerinin β -katenin ve proliferasyon ile olan ilişkisini immunohistokimyasal olarak araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 40 adet erkek Wistar albino sıçan eşit şekilde kontrol, Orlistat, Yeşil Çay Ekstresi, Orlistat+Yeşil Çay Ekstresi gruplarına ayrıldı. Deney gruplarına Orlistat (10 mg/kg/gün), yeşil çay ekstresi (40mg/kg/gün) gavaj yoluyla 1 ay süreyle uygulandı. Bu sürenin sonunda hayvanlardan alınan kalın bağırsak dokuları rutin laboratuvar yöntemleri uygulanarak parafine gömüldü. Elde edilen parafin kesitlere β -katenin ve Ki-67 uygulanarak, sonuçlar değerlendirildi.

Sonuçlar ve Tartışma: Orlistat ve Orlistat+Yeşil Çay Ekstresi uygulanan grupta kontrol ve yeşil çay ekstresi grubuna göre proliferasyon ve β -katenin H-skoru sonuçlarında artış olduğu gözlemlendi ($p<0.001$). Yeşil Çay Ekstresinin uygulandığı grupta ise kontrole göre değişiklik gözlenmedi. Çalışmamızda, orlistatın proliferasyonu uyardığı, yeşil çayın ise proliferasyon üzerine etkisi olmadığı sonucuna varıldı.

**MESANE PAPİLLER ÜROTELİYAL (TRANZİSYONEL HÜCRE)
NEOPLAZMLARDA MUTANT PROTO-ONKOGEN C-MYC SSCP
PROFİLLERİ: HÜCRE PROLİFERASYONU, EVRE VE TEKRARLAMA
RİSKİNE MOLEKÜLER YAKLAŞIM**

E. YILDIZ 1, O. ÖZDEMİR 2, S. AYAN 3, E. GÜL 2, G. GÖKCE 3,
O. F. GÖZE 1, E. Y. GÜLTEKİN 3

1Department of Pathology, Faculty of Medicine, Cumhuriyet University,
2Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Cumhuriyet University,
3Department of Urology, Faculty of Medicine, Cumhuriyet University, SIVAS, TURKEY

eylemgul05@yahoo.com

Amaç: Araştırmada, mesane tranzisyonel tümörlerinde proto-onkogen c-myc ekspresyonu ve hücre proliferasyonu ile olası ilişkisinin ortaya konması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Araştırma toplam 88 adet mesane kanseri tanısı almış hasta bireylere ait parafinize doku örnekleri üzerinde yapılmıştır. Dokulardan total genomik DNA izolasyonları yanı sıra Ki-67 ekspresyon oranları immünohistokimyasal değerlendirildi. Tümör dokularına ait proto-onkogen c-myc ekson 2 bölgesine ait genotipleme PCR tabanlı SSCP analizi ile yapıldı.

Sonuçlar: Evrelemeleri yapılan toplam 88 tümör dokusunun 83 tanesinde (%90.4)) c-myc ve Ki-67 ekspresyonu saptanmıştır. Non-invazif 36 dokunun toplam 32 tanesinde (%89), invazif toplam 20 (pT1) dokunun 19'unda (%95) sadece c-myc ekspresyonu saptanmıştır. Kas dokusu infiltrasyonu yapmış (pT2) toplam 27 dokunun 24'de (%89) c-myc ekspresyonu saptanmıştır. Evre 2 tümörlerin toplam iki tanesinde yapısal c-myc nokta mutasyonu saptanmıştır. Tümör evreleri ile Ki-67 ekspresyon oranları anlamlı olması yanı sıra prognostik faktör olarak anlamsız bulunurken c-myc ekspresyonu önemsiz bulunmuştur.

Tartışma: Gerek literatür bilgileri ve gerekse elde edilen sonuçlara göre proto-onkogenler c-myc yapısal nokta mutasyonları ve Ki-67 aşırı ekspresyonunun üroteliyal mesane karsinogeneziinde önemli prognostik değerlerinin olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: c-myc, Ki-67, mesane, papiller üroteliyal neoplazm, derece, basamak, tekrarlama, ilerleme.

MEME TÜMÖRLERİNDE SİKLOKSİJENAZ VE LİPOKSİJENAZ YOLUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ö. ÇİFTÇİ 1, İ. BÜTÜN 1, H. SÖNMEZ 1, E. KÖKOĞLU 1, V. ÇELİK 2,

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, 1 Biyokimya AD,
2 Genel Cerrahi AD, İSTANBUL

esonmez@superonline.com

Giriş ve Amaç: Çoklu doymamış yağ asitlerinin siklooksijenazlar ve lipooksijenazlar üzerinden oksidatif metabolizması hücresel çoğalmayı, apoptozu, hücre farklılaşmasını ve yaşlanmasını düzenlediği gibi; lipid peroksitlerinin ve bioaktif lipidlerin oluşumuna da yol açabilir. Meme kanserlerinde; tümör dokusunun angiogenesisindeki artırıcı rolü nedeniyle siklooksijenaz-2 (COX-2); tümör başlangıcı ve ilerlemesinde etkili olduğu düşünülen lipooksijenazlar (LO) birçok çalışmaya konu olmuştur.

Yöntemler: Bizim çalışmamızda 20 meme kanserli hastanın tümöral ve peritümöral dokuları ve operasyon öncesi alınmış serumları kullanıldı. COX-2 düzeyleri ELISA yöntemi ile, LO aktivitesi ise kolorimetrik yöntemle saptandı.

Bulgular: Her iki parametremiz de tümöral dokularda peritümöral dokulardan ,hasta serumlarında kontrol serumlarından istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$). COX-2 düzeyleri büyük çaplı, yüksek grade, invaziv tip tümörlerde ve premenapozal hastalarda anlamlı olarak daha fazla iken; lipoksijenaz aktivitesi yaş, menopozal durum, tümör tipi, çapı yada grade gibi değişkenlere göre anlamlı farklılık olmadığı saptandı.

Sonuç: Kanser gelişmesinde çok önemli olan, membran lipid bütünlüğü ve lipid kökenli otakoidler önemli çalışma alanlarından biri haline gelmiştir. Çalışmamızda lipid kökenli otakoidlerin oluşmasında önemli olan bu iki yolun kanser gelişmesinde de etkili olabileceğini destekler nitelikte sonuçlar elde edildi.

DOKUDA EKSPRESYON ANALİZİ İÇİN TAVUK NÖRONAL KATANİN ve SPASTİNE ÖZGÜ RİBOPROP DİZAYNI

E. EROĞLU 1, E. KAPLAN 1, Ş. KOURLU 1,2, A. YILDIZ 1,2, **A. KARABAY*** 1,2

1 İstanbul Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

2 İstanbul Teknik Üniversitesi, Dr. Orhan Öcalgıray Moleküler Biyoloji Biyoteknoloji ve Genetik Araştırmalar Merkezi, İSTANBUL

korulusi@msn.com, ayyildiz81@hotmail.com, *

Amaç: Katanin ve spastin mikrotubul (MT) kesici enzimlerdir. Katanin, iki alt üniteden oluşur, p60 ve p80. P60 enzim aktivitesi ile mikrotübülleri keserken, p80 enzimin hücre içindeki lokalizasyonunda görevlidir. Diğer bir MT bölme proteini ise spastindir ve p60-katanin alt ünitesi ile büyük benzerlik göstermektedir. Spastin mutasyonunun kalıtsal spastik parapleji rahatsızlığına neden olduğu bilinmektedir ve bu anlamda spastin, MTer iler temel hücre biyolojisini nörolojik hastalıklarla birleştirmektedir.

Bu çalışmada model organizma olarak tavuk (*Gallus gallus*) seçilmesinin sebebi insan ve tavuk genomu arasında olan benzerliktir. Tavuk genomundan kodlanan genlerin %60'ının insan genomunda karşılığı bulunmaktadır. Ayrıca gelişimsel çalışmalarda tavuk model bir sistem olarak bilinen ve sıklıkla kullanılan bir organizmadır.

Bu çalışmadaki amacımız, tavuk embriyolarından alınan kriyostat kesitlerinde spastin, katanin p60 ve p80 alt ünitelerinin embriyoların farklı gelişim evrelerinde hücre içindeki dağılımlarını izleyebilmek için gerekli olan digoxigenin işaretli RNA problemlerini sentezlemektir.

Yöntemler: Spastin, katanin p60 ve p80 dizilerinde prob sentezlenecek bölgeler için kesim enzimi tanıma bölgesi içeren primerler tasarlanıp, ilgili kısım PCR yöntemi ile çoğaltılarak kesildi. Aynı kesim enzimleri ile katanin p60 ve p80 için pSPT19; spastin için pSPT18 transkripsiyon vektörleri açıldı ve ilgili bölgeler bu vektörlere yerleştirildikten sonra digoxigenin-dUTP, T7 ve SP6 RNA Polimeraz enzimleri yardımı ile seçilen DNA dizilerini tanıyacak işaretli RNA problemleri sentezlendi.

Bulgular ve Sonuç: Sentezlenecek bölge seçilerek PCR ile başarılı bir şekilde çoğaltıldıktan sonra sonuçlar agaroz jel üzerinde görüntülendi. Transkripsiyon vektörüne yerleştirilen ilgili DNA bölgeleri dizileme yöntemi ile de doğrulandı. Son aşamada ise, digoxigenin-dUTP ile RNA problemleri işaretlendi. Sonuçlar denaturant RNA agaroz jeli üzerinde ve RNA marker kullanılarak doğrulandı.

Bu çalışma, TÜBİTAK (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu) ve TWAS (Third World Academy of Science)'ın Arzu Karabay'a proje desteği kapsamında gerçekleştirilmiştir.

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI 2005-2007 YILLARI ARASINDAKİ PRENATAL VE POSTNATAL SİTOGENETİK SONUÇLARIMIZ

**N. ALTINTAŞ, M. AŞCI, S. ÖRENAY, S. TÜREL, F. KARATEKE,
A.ÇATALKAYA, E. KARAGÖZ, E. ARSLAN**

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik ve Genetik AD, MANİSA

Amaç: Anabilim Dalımızın Sitogenetik ve Prenatal Tanı Laboratuvarında Ekim 2005-Temmuz 2007 tarihleri arasında 293 periferik kan, 81 kemik iliği, 66 amniyosentez, 47 kord kanı, 3 CVS materyali gönderilmiştir. Prenatal tanı endikasyonları ileri anne yaşı, yüksek ikili/üçlü test ve patolojik ultrasonografidir. Postnatal tanı endikasyonları primer ve sekonder infertilite, primer amenore, ambiguous genitale, hipogonadizm, habitüel ve spontan abortus, Down Sendromu, cinsiyet kromozom anomalisi, mental ve motor retardasyon, gelişme geriliği, kronik myeloproliferatif hastalık, trombositopeni, pansitopeni, bisitopeni, lenfoma, multiple myelom, KML, AML, ALL ve MDS'dir. Anabilim dalımıza gönderilen Periferik kan, Kemik iliği, Kordosentez, Amniyosentez ve CVS materyalleri; polimorfik varyant kromozom, kalıtsal anomaliler ve de novo değişiklikler açısından değerlendirildi.

Gereç ve Yöntem: Gönderilen Amniyosentez ve CVS materyallerine standart fetal doku kültürü yöntemi, periferik kan, kemik iliği ve kordon kanı materyaline ise standart periferik kan kültürü yöntemi uygulandı. Her materyal için iki kültür yapıldı ve elde edilen kromozom preparatlarına GTG bantlama metodu uygulanarak karyotip analizi yapıldı.

Sonuçlar: 116 fetal örneğin 109'unda normal karyotip, 1 fetusta 47,XXY karyotipi, 1 fetusta 47,XX+18 karyotipi, 4 fetusun tüm hücrelerinde 47,XX+21/47,XY+21 karyotipi elde edilmiştir. 1 fetusta 47,XX+mar? karyotipi saptanmıştır. FISH metoduyla marker kromozomun 21 numaralı kromozomdan kaynaklandığı gösterilmiştir.

Sitogenetik laboratuvarımıza toplam 374 hasta başvurusu gerçekleşmiştir. 6 hastada 47,XY,+21 karyotipi, 4 hastada 47,XX,+21 karyotipi, 1 hastada 46,XY, t(13;21) karyotipi, 1 hastada 47,XXY karyotipi, 1 hastada 46,XX,inv(9) karyotipi, 1 hastada 46,XY,inv(9) karyotipi, 1 hastada 46,XY, del 15(q11-13) karyotipi, 1 hastada 45,X, 1 hastada 46,X,i(Xq) karyotipi, 1 hastada 47,YYY/46,XX karyotipi, primer amenore tanısı konmuş 1 hastada 46,XY karyotipi ve ambiguous genitale tanısı konmuş 1 hastada 46,XY karyotipi saptanmıştır.

BİR TÜRK AİLEDE HAIM-MUNK SENDROMLU İKİ KARDEŞ

N. ALTINTAŞ, N. DELİAĞA, E. ARSLAN, S. TÜREL, O. TÖK, S. ÖRENAY, M. AŞCI

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik ve Genetik AD, MANİSA

Amaç: Manisa Ağız ve Diş Sağlığı Merkezinden Papillon-Lefevre Sendromu olduğu düşünülerek Genetik Laboratuvarımıza gönderilen iki kardeşin klinik bulguları sonucunda, Haim-Munk Sendromu tanısı konmuştur. Sitogenetik ve moleküler çalışması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Celal Bayar Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalına başvuran 2 kardeşe standart periferik kan kültürü uygulandı. Elde edilen kromozom preparatlarına GTG bantlama metodu uygulanarak karyotip analizi yapıldı.

Sonuç: Klinik bulguları sonucunda Haim-Munk Sendromu tanısı konan Türk ailenin 2 çocuğunun sitogenetik analizlerinde sayısal ve yapısal kromozom anomalisi saptanmamıştır. İki kardeşin Catepsin-C mutasyonu açısından araştırılmaları planlanmıştır.

FEBRİL KONVULZİYONDA APOLİPOPROTEİN E'NİN ROLÜ

Ö. GİRAY 1, E. BORA 1, A. ÜLGENALP 1, N. URAN 2, E.YILMAZ 3, A. ÜNALP 2,D. ERÇAL 1

1 Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Genetik BD,

2 Behçet Uz Çocuk ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Departmanı,

3 Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, İZMİR

Amaç: Erken başlangıçlı temporal epilepsi gibi, sık görülen pek çok nörodejeneratif bozukluğun gelişmesinde ve prognozunda, Apolipoprotein E (ApoE)'nin rol oynadığı bilinmektedir.

Biz de temporal lob epilepsisi ile febril konvulziyon arasındaki ilişkiyi göz önünde bulundurarak, APOE geni aminoasit dizilimindeki farklılıkların febril konvulziyon gelişimindeki rolünü araştırmayı planladık.

Gereç ve yöntem: APOE genindeki varyasyonları görüntülemek amacıyla PCR/RFLP yöntemi uygulandı. Atmış-dokuz febril konvulziyonlu hasta (basit/kompleks) ve 75 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi.

Bulgular: Febril konvulziyonlu ve kontrol grubundaki örnekler değerlendirildiğinde, APOE geninde nükleotid dizilimleri arasında belirgin bir fark saptanamadı. 3/4 genotipindeki hastaların kliniklerinin daha iyi seyirli olduğu görüldü.

Sonuç: Elde ettiğimiz veriler APOE genindeki çeşitliliğin, febril konvulziyona yatkınlıkta rol oynamadığını gösterdi. Bunun yanında, 3/4 genotipine sahip febril konvulziyonlu hastaların tümünün basit febril konvulziyonlu olması bu genotipin iyi klinik seyirle ilişkili olduğunu düşündürdü.

INDEX

A

A. ACAR	P201
A. ALTINTAŞ	P33,P38
A. ALTUNBAŞAK	P109, P120
A. ALTURFAN	P55,P87
A. ARIBAŞ	S11
A. ARMAN	P34,P36,P92
A. BAKKALOĞLU	P96
A. BALAT	P206,P207,P208
A. BAŞARAN	P5,P16,P141,P142,P14
A. BAYAR	P129
A. BEKAR	S6
A. BERDELİ	P66
A. BIŞGIN	P153
A. COKER	P36,P92
A. CUMAOĞLU	P140
A. Ç. ÖZKILIÇ	P17,P45
A. ÇATALKAYA	P216,P217
A. ÇEBİ	P105
A. ÇELİK	P107
A. ÇENGEL	P56,P57
A. ÇETİN	P17
A. ÇIRAKOĞLU	P106.P125.126
A. ÇOKER	S34
A. ÇOLAK	P72
A. DEVİREN	P106,P121.P125,P127,P 150
A. DUR	P105
A. DURSUN	P129.P132
A. E. ÖNAL	P103
A. E. YALIN	P82
A. EKMEKÇİ	P3,P18,P201
A. F. YILMAZ	P27
A. GEPEĐİRMEN	P31
A. GÜNEL ÖZCAN	S1
A. H. ELHAN	P25
A. HATİPOĞLU	P5
A. İ. GÜZEL	P4,P32,P123
A. KADIKIRAN	P131
A. KANLI	P19
A. KAPUCU	P212
A. KARABAY	P215
A. KARADAĞ	P118,P131
A. KARGI	P26
A. KILIÇ	P55,P77,P87
A. KOŞAR	P109,P110
A. KUTLU	P47
A. KUZPINAR	S21,P152
A. MENEVŞE	P49
A. N. ANAKKAYA	P81
A. NARCI	P210
A. ÖĞÜŞ	P50,P51
A. ÖZAYDIN	S4,P52,P60
A. ÖZÇETİN	P45
A. ÖZÇİMEN	P8,P9,P10,P107
A. ÖZER	S16,S20,P23,S35,P64, P154

A. ÖZGÖNÜL	S10,P209
A. PAZARBAŞI	P1,S32.P117
A. RUHENSTROTH	S31
A. RÜSTEMOV	P118,P131
A. S. DEMİR	S7
A. S. YAR	P54
A. S. YURDAKUL	P18,P201
A. SAĞCAN	P66
A. SARICI	S4,P52
A. SAV	P38
A. SİVA	P38,P47
A. SUNGUROĞLU	P25,P53,P70,P71,P118 ,P137,P211,S8
A. Ş. KÜÇÜKASLAN	P61
A. TEKELİ	P204
A. TETİK	P32,P61,P100
A. TEZCANER	P42
A. TUNÇKALE	P98
A. TÜRKMEN	S3
A. TÜRKYILMAZ	P124,P203
A. UZUNKÖY	S10,P209
A. ÜNER	P20
A. VAROL	P18
A. YALÇIN	P7
A. YILDIRIM	S34
A. YILDIZ	P215
A. YILMAZ	P49
A. YÜKSEL	P121
A. YÜZBAŞIOĞLU	P39
A. ZENGİ	P61
A. ZORLUOĞLU	P24
A. ÜLGENALP	P218

B

B. ALTINOK	P118
B. ANLAR	P152,S21
B. BALCI	S15
B. B. PEYNİRCİOĞLU	P96,S29
B. BATAR	P52,P60,P98,S4
B. BAYOĞLU	S33
B. BİLGİÇ	S27
B. BOZKURT	P50,P93
B. ÇOKSEVİM	P76
B. ÇOŞAR	P44
B. DÖHLER	S31
B. ERSOY	P55,P87
B. ESER	P99,P122
B. GÖĞEBAKAN	P206,P207,P208
B. GÜÇLÜ	P38
B. GÜNDÜZ	P49
B. HAZAR	P7
B. KAYAHAN	S28
B. KOSAVA	S24,S28
B. KÖKSAL	P95,P133
B.M. ATASOY	P146
B. M. GÜLLÜOĞLU	P23,S16
B. MÜSELLİM	P81

B. SÜSLEYİCİ DUMAN P62,P69,S33
 B. Ş. ERDOĞAN P94
 B. ŞERBETÇİOĞLU S5
 B. TALİM S15
 B. TANDER P90
 B. TEKE P149
 B. TEZCANLI S28
 B. TOPTAŞI P205
 B. TUNCA P24,S6
 B. TURNA S18,S25
 B. TUTLUOĞLU P81
 B. TÜREL P96
 B. VEZNADAROĞLU S28
 B. YAŞAR P48
 B. YEĞEN P146
 B. YİĞİT P210

C

C. AKAY P113
 C. AKYERLİ P20
 C. ARAL P64,P146,P154,S20,S35
 C. AYDIN P74,P78
 C. BİNGÜL P77
 C. ÇEVİK P140
 C. DEMİR P119,P123
 C. ERZİK P146
 C. GÜNDÜZ P14,S17,S18,S25
 C. K. PARSAK P1
 C. KEKİK P89,P91
 C. ÖZTÜRK P18,P201
 C. SESAL P63,P155
 C. SÜSAL S31
 C. ŞEKUR P66
 C. ŞİMŞEK P141,P142
 C. TATAROĞLU P22
 C. TERZİ P21

Ç

Ç. ALGÜNEŞ P43,P97,P202,S19
 Ç. ATAİZİ ÇELİKEL P23
 Ç. B. AVCI P14,S17,S18,S25
 Ç. BAYRAM GÜREL P34,P81,S12
 Ç. ÇAL S24
 Ç. ÇİFTÇİ P62,P69,S33
 Ç. ERESEN S23
 Ç. E. YAZICIOĞLU P26,P156
 Ç. KARASU P140
 Ç. KEKİK P33,P84,P101,S3
 Ç. KOCAEFE P35,P37,P39,P42,S13
 Ç. ÖZKARA P30,P33
 Ç. POYRAZ P45

D

D. AKAY P44
 D. AKÇORA P118
 D. ALPTEKİN P4,P59
 D. AYDIN S1

D. COŞAN P5,P147
 D. DAYANGAÇ ERDEN S7
 D. DEVECİ P93
 D. DURMUŞ P85
 D. GEZEN AK P6,S27,S38
 D. GUMUCİO S29
 D. GÜÇ S1
 D. GÜL P41
 D. GÜMÜRDÜLÜ P117
 D. KAN P44
 D. KARASARTOVA P70,P137
 D. KURU P106,P125,P127
 D. ONATOĞLU S32
 D. ORAL P108,P124,P203
 D. ÖZTUNA P53,P71,P118
 D. S. KARAHAN P117
 D. SANLIOĞLU P112
 D. SARGIN S9
 D. TAŞTEMİR P117,P119,P123
 D. TORUN P41
 D. TUĞCU S9
 D. ÜREN P35,P39
 D. ÜSTÜNER P16
 D. YÜCEL P51
 DORAK MT P91
 D.ERÇAL P218

E

E. AKBAŞ P128,P130
 E. AKGÜN P72,S30
 E. ALİOĞLU P66
 E. ALP P54,P56,P57,P65
 E. ALTAYLI P27
 E. ALTINTOPRAK S28
 E. ARAL P147
 E. ARICAN P157
 E. ARSLAN P216,P217
 E. AY S23
 E. BAKAR S21
 E. BASKIN P86
 E. BAYSAL P49
 E. DERİCİ P107
 E. DURSUN P6,S27,S38
 E. EKER S27,S38
 E. ERCAN P66
 E. ERDAL S22
 E. ERKEN P93,S31
 E. EROĞLU P215
 E. G. GÜNEŞ P72,S30
 E. GÜRTUNÇ P1
 E. İ. TAŞKIN P212
 E. İNCE P74,P75,P78
 E. KANSU P20,S1
 E. KAPLAN 215
 E. KARACA P121
 E. KARAGÖZ P216
 E. KAYGUSUZUĞLU P114,P115,P116

E. KAYTAN	P205
E. KONAÇ	P3,P18,P201
E. KÖKOĞLU	S12
E. ÖZ	P60
E. ÖZEN	P69
E. PAŞALIOĞLU	P106
E. PINARBAŞI	P72,S30
E. SAĞLAR	P50,P151
E. SAKALLI ÇETİN	P110,P11
E. TAHİR TURANLI	P38
E. TAŞKIN	P13,P85,P102
E. TEKİN	P3
E. TUĞ	P46,73
E. TUNÇ	P117,P119,P123
E. TUTAR	P53,P71
E. UZ	P120
E. YEŞİLADA	P114,P115,P116
E. YILMAZ	P96,P218,S29
E. YILMAZ GÜLEÇ	P80
E. Y. FENERCİ	P121
E. YURTÇU	P11,P12,P86,P88,P136
E. BORA	P218

F

F. AKKAFA	P209,S10
F. AYDIN	P91,P103,S3
F. AYDOĞDU	P106
F. B. ATAÇ	P12,P135
F. BALABAN	P79
F. CANDAN	P95
F. CANDAN	P36,P95
F. CANTÜRK	P85,P90
F. ÇABUK	P129,132
F. DEMİREL	P129,P132
F. DİLMEÇ	P209,S10
F. ENGİN	S27,S38
F. GÖK	P207
F. İ. ŞAHİN	P11,P12,P86,P88,P135,P136
F. KARATEKE	P216
F. K. DAĞISTANLI	P6,P143,P145,S39
F. KOÇ	S32
F. KUTLUTÜRK	P84
F. OĞUZ	P84,P89,P91,P101,S3
F. ÖZDEMİR	S35
F. ÖZEN	P133
F. P. ALPASLAN	P126
F. PARALI	S23
F. PAYDAK	S11
F. PINARLI	P102
F. S. ÇAM	P66
F. S. OĞUZ	P83,S9
F. S. PALA	P43,P97,P202,S19
F. SAVRAN OĞUZ	P33
F. SÖYLEMEZ	P128,P130
F. ŞAHİN	P14,P70,P137

G

G. ALAYLI	P90
G. ASLAN	P7
G. BORA	S7
G. BOZKURT	P43
G. ÇEÇENER	P24,S6
G. DÖNMEZ	P72,S30
G. ESENDAĞLI	S1
G. G. AKAY	P118
G. GEDİKOĞLU	P83,P91,P103
G. GÜLBAY	P114,115,P116
G. GÜLER	P7
G. GÜMÜŞ	P131
G. KARAHAN	P101,P103
G. KESER	P100
G. KILIÇ	P81
G. KIRKIM	S5
G. OPELZ	S31
G. OZAN ÇETİN	P41
G. Ö. ÖZGÖN	S37
G. ÖKTEN	P102,P126
G. ÖZCAN ARICAN	P157
G. ÖZGEN	P61
G. ÖZİŞİK	P64,S20,S35
G. ÖZSOYLAR	P44
G. ÖZTÜRK	P40,S9
G. S. GÜVEN	P60
G. SAKMAN	P1
G. SAYDAM	P14
G. YAZICI	P130
G. YORGANCIOĞLU	P63,P155
G. Z. ÖNCEL	P148
G. Y. DEMİREL	P38

H

H. A. ERGEN	P204,P205
H. A. SOLGUN	P123
H. AKÇA	S14
H. AKSOY	P55,P77,P87
H. A. DÖNMEZ	P104
H. ARIKOĞLU	S11
H. B. ZEYNELOĞLU	P135,P136
H. BAĞCI	P13,P58,P85,P90,P94,S14
H. ÇOŞKUNOL	S28
H. DEMİRCİ	P54,P65
H. DEMİRTAŞ	P2,P76
H. DİRESKENELİ	P92
H. DOĞAN	P148
H. DOĞRUMAN	P212
H. D. ALTUNTAŞ	P2
H. DURUKAN	P51
H. EKMEKÇİ	S12
H. ERDEM YURTERİ	S7
H. G. KARABULUT	P131
H. GÖK	S11
H. GURVİT	S38
H. GÜNDEŞLİ	S15

H. GÜRKAN	P43,P97,P202
H. GÜRVİT	S27
H. HANAĞASI	S38
H. İŞSEVER	P83
H. KASAP	S32
H. KAYA	S16
H. KURT	P106,P141,P142,P150
H. MOHEBBATIKALJAHİ	P54,P65
H. MUTLUHAN	P130
H. O. SERCAN	P156
H. ÖZDEN	P15,P16
H. R. YILMAZ	P120
H. SAVLI	P19
H. SÖNMEZ	S12
H. SÜMER	P88
H. T. E. ÖZER	P93
H. TIĞLI	S26
H. TOPALOĞLU	S15
H. Ü. LÜLEYAP	P4
H. ÜNAL	P6
H. V. GÜNEŞ	P5,P16,P141,P142,P147
H. YILDIZ	P122
H. YÜCE	P46,P73

I

I. APAYDIN	P3
I. BÖKESÖY	P131
I. KUNTER	S22
I. PERÇİN	P151
I. SEZGİN	P95,P133
I. TENGİZ	P66
I. V. DÜZEN	P53,71

İ

İ. AÇIKBAŞ	P94
İ. BAYAZIT	P106
İ. BAYEL	P107
İ. CAN	S11
İ. Ç. KARAASLAN	P151
İ. DEĞİRMENCİ	P5,P15,P16,P141,P142,P147
İ. DOĞAN	P18,201
İ. F. ÜRÜNSAK	P117
İ. FIRAT	P212
İ. H. ATAKAN	S19
İ. H. ÖNEN	P3,P18P44,P201
İ. KIRAN	P15,P16
İ. KIRIŞ	P68
İ. KİKİ	P148
İ. KOÇAK	P126
İ. M. GÜRSEL	P106
İ. ONBAŞILAR	P35,P37,P39
İ. ÖZTÜRK	P130
İ. PİRİM	P31,P148
İ. ULMAN	P32
İ. YAYLIM ERALTAN	P205
İ. YETKİN	P54,P65

J

J. ALTINIŞIK	P47
J. GLEESON	P121
J. LAWRY	P9,P10
J. MYTİLİNEOS	S3
J. YOKOTA	S14

K

K. AKGÜN DAR	P212
K. AKSOY	S6
K. ALTUNBAŞ	P212
K. AYDOS	P211,S8
K. BURLİNG	P79
K. CENGİZ	P85
K. ÇİVİ	P15,P16,P142
K. DEVRANOĞLU	P52,S4
K. EMERK	P154
K. ÖZCAN	P123
K. ÖZDİLLİ	P33,P83,P89,P91, P103
K. S. BECİT	P36
K. SAVAŞOĞLU	P128,P130
K. TABAKÇIOĞLU	P43,P97,P202,S19
K. YELEKÇİ	S7
K. YÖRÜKOĞLU	P28

L

L. HANOĞLU	P30
------------	-----

M

M. A. ERGÜN	P113
M. ACEMOĞLU	P95
M. AKBABA	P3
M. AKKİPRİK	P23,S16,S20,S35
M. ARICI	P96
M. AŞÇI	P216,P217
M. BAKIR	S30
M. BERKÖZ	P7,P82
M. BÜYÜKAVCI	P148
M. BÜYÜKÇELİK	P206,P207,P208
M. C. ÜSTÜNER	P15,P16,P142
M. CELİLOĞLU	P156
M. CENGİZ	P17,P45
M. ÇALAPOĞLU	P79
M. ÇARİN	P33,P83,P84,P89,P91, P101,P103,S3,S9
M. ÇETİN	P8
M. ÇİFTÇİ	P207,P208
M. D. GÜLKAÇ	P19
M. DENİZ	P146
M. DİKMEN	P5
M. DİŞBUDAK	P55,P87
M. E. AY	P21
M. EMRE	S27,S38
M. ERDOĞAN	P61
M. ERK	P80
M. ERSÖZ	P62,P69,S33

M. GÜVEN P52,P60,P98,S4
M. HEPDOĞRU S11
M. İRKEÇ P50
M. İZMİRLİ P4,P59
M. KAPLAN S19
M. KARA P46
M. KARADENİZ P61
M. KARKUCAK P210
M. KASAP P1
M. KAVUTÇU P140
M. KILIÇGEDİK P62
M. KORKMAZ P40,P105,P210,S2,S36
M. LEKİLİ S2
M. N. ALP P108
M. N. İLHAN P113
M. OĞUZ GÜÇ S1
M. Ö. ERDOĞAN P99,P122
M. ÖZATA P64,S20,S35
M. ÖZGÜÇ P35,P37,P39
M. ÖZTÜRK P6,P138,P139,P143,P145
,S38,S39

M. PARLAK P206
M.R. ALTIPARMAK P98
M.S. SERİN P7
M. SAKIZLI P26,P28,P156,S23
M. SARI P95
M. SARIMAN P63,155
M. SEVEN P106,P121
M. SOHTAOĞLU P33
M. SOLAK P99,122
M. SOYÖZ P48,68
M. Ş.TOPÇUOĞLU P59
M. TANI S14
M. TAŞPINAR P53,P70,P71,P137,P211,
S8

M. TULMAÇ P56,P57
M. TUNÇDEMİR P138,P139,P145
M. UZAN P30,P33
M. ÜNAL P52,S4
M.VAFİMASTANABAD P143
M. Y. KARAOĞUZ P44
M. YALINAY ÇIRAK P201
M. YILMAZ P72,S30
MT. DORAK P89

N

N. AKAR P20
N. ALTINTAŞ P216,P217
N. ARAS ATEŞ P107
N. ATABEY P28,S22
N. ATEŞ ARAS P29
N. B. TÖMEKÇE P80
N. BAŞARAN S36
N. BİRİNCİ P106
N. BOZKURT P205
N. BUYRU P30,P47,P80,S37
N. CENGİZ P40

N. ÇÖL ARAZ P207,P208
N. DALAY S26
N. DELİAĞA P215
N. DEMİR P156
N. DOMANIÇ P60,S12
N. EMEKLİ P55,P87
N. ERSÖZ S11
N. EVİRGİN P99
N. EYERCİ P148
N. GÖKSU P49
N. IŞIK P36
N. İMAMOĞLU P104
N. İMİRZALIOĞLU P113
N. KARA P58,P90,P102,P126
N. KARAKUŞ P85,P102
N. KOÇAK P95,P133
N. L. ŞATIROĞLU TUFAN P22
N. MENAGER S1
N. NEŞE S2
N. NUR P95
N. NURLU P140
N. Ö. ŞAHİN P82
N. ÖZÇELİK P68,P109,P110,P111,P120
N. ÖZLEN ŞAHİN P149
N. ÖZTEN KANDAŞ P25
N. RICHARDS S29
N. SAKAR P124
N. SARITAŞ P76
N. SELVİ P32
N. ŞAHİN ÇALAPOĞLU P48,P68,P79
N. TAMÇELİK P52,S4
N. TOPÇUOĞLU S24,S28
N. TÜRK P67
N. VAROL P118,P131
N. URAN P218

O

O. ALTUNGÖZ P26,S5,S23
O. BAYKARA P30,P80
O. CANBOLAT P140
O. ÇETİN P34
O. DEĞER P79
O. DEMİRCAN P1
O. DEMİRHAN P117,P119,P123
O. DEMİRKESEN P145
O. DENİZ P31
O. HALLIOĞLU P128
O. ISSI P203
O. İNCİ S19
O. NAZLI S18,S25
O. ÖZDEMİR P95
O. PUSULUK P38
O. SAÇAN P144
O. SARIÖZ P92
O. SOYLU S34
O. TERZİOĞLU P21
O. TOK P215

O. YAVUZ ATAMAN S2
O. YEŞİLDAG P58
O. L. TUNCAL P145
O. AY S23
O. GÜBE P32
O. HERGÜNER S32
O. İZCI AY P21, P28
O. ÖZALP YÜREĞİR P11
O. ÖZDEMİR P133
O. ÖZER P29
O. SÖNMEZ P23, S16
O. UYSAL P33, S27
O. GİRAY P218
P AKIN S12
P AKPINAR P53
P ASLAN KOŞAR P68, P109, P110, P120
P AYHAN S7
P ÇAĞATAY P6, P62, P69, S33
P DİNÇER S15
P EROĞLU P7, P82
P KOŞAR P111
P ÖZKAL P25, P53, P118
P SHARAFI P42
R DÜNDARÖZ P113
R. GÜNEŞAÇAR P93, S31
R. K. ÖZGÜL P50
R. KÖKEN P99
R. ÖZEL S24
R. SARAYMEN P104
R. SOYLU P37, P39
R. TATLIŞU P32
R. YALÇIN P56, P57
R. YANARDAĞ P144
S ALTUNYURT P156
S. ANAK S9
S. ARIKAN P205
S. ARPAĞ P106
S. AYDIN S36
S. AYDOS P71, P137, P211, S8
S. B. YILMAZ P14
S. BAKIRDERE S2
S. BALCI P128
S. BARIŞ P129, P132
S. BAYRAKTAR P98
S. BECİT P92
S. BEKPINAR P34
S. BOLKENT P67, P144
S. BOZDOĞAN P129, P132
S. BOZKURT P20

S. ÇAĞLAYAN P64, S20, S35
S. ÇELİK KARAKAŞ P29
S. DALKARA S7
S. DEMİRYOĞURAN S18, S25
S. DİNKÇİ P93
S. DÜZENLİ P31
S. EREN P106
S. ERTÜRKAN P81
S. G. GÜVEN P106, P125, P127
S. GÜÇLÜ P156
S. GÜNEŞ P13, P27, P90, P102, P126
S. H. YILDIZ P99
S. HACIHANEFİOĞLU P106, P121, P125, P127
S. İSİR P204
S. KALAYOĞLU P103, S9
S. KALENDER P141
S. KIZILDAĞ P41, P156
S. KOCATÜRKSEL S32
S. KOZAN P41
S. KUL P82
S. MELİL P62
S. MENEVŞE P44, P49, P54, P56, P57, P65
S. N. YENİ P30
S. NUMANÖĞLU P14, S17, S18, S25
S. OĞUZKAN P206, P207, P208, S21
S. OSKAY P118
S. ÖRENAY P216, P217
S. ÖZEN P96
S. ÖZGÜR TEKEİ P154
S. PELZİ S31
S. SAİP P38
S. SARIKAYA P13
S. SAVACI P114, P115, P116
S. SEVİL ŞAHİN P64
S. SÜR S12
S. TARABULUS P98
S. TEMURHAN P103
S. TEZCAN P7
S. TÜMER P26, S5, S23
S. TÜREL P216, P217
S. TÜRKEL P78
S. ÜNLÜ P151
S. YALIN P7, P82
S. YARMAN P84
S. YILMAZ S17, S18, S25
S. YILMAZER P67, S27, S38
S. YIGİT P58, P102
S. YÜKSEL P58
S. U. BOZKURT P38
Ş ALTINYAY P49
Ş. AYTER P152, S21
Ş. B. TURAL P126
Ş. BEYHAN ÖZDAŞ P81
Ş. BOLKENT P144
Ş. ÇAKMAKOĞLU S23

Ş. ÇETİNEL	P146
Ş. ERGİN	P94
Ş. İLVAN	P6
Ş. KOPARAN	P74,P75,P78
Ş. KORULU	P215
Ş. ÖNGÖREN	P127
Ş. SOYYİĞİT	P80
Ş. TETİK	P55,P77,P87
Ş. TOLUNAY	S6
Ş. TURAL	P102
Ş. YILDIRIMCAN	P26
Ş. YILMAZ	P106,P125,P127
Ş. YÜKSEL	P114,P115,P116

T

T. ALTUĞ	P38
T. AVŞAR	P38
T. BUDAK	P108,P124,P203
T. CANGÜL	P74,P78
T. ERTAN	S27,S38
T. FISTIK	P122
T. GÜLTEN	P210
T. İSBİR	P204,P205
T. MÜZEZZİNOĞLU	S2
T. ÖZKAN	P118
T. PATIROĞLU	P2,P76
T. TEZEL	S34
T. TUĞ	P73
T. TURAN	P145
T. TÜRKMEN	P34
T. ULUTİN	P34,P47,P60,P74,P75, P78,P81,S12,S37
T. YAKUT	P210
T. YARDIMCI	P55,P77,P87
T. YILMAZLAR	P24

U

U. ABACIOĞLU	S16
U. AKPULAT	P156
U. ÖZBEK	S37
U. SERBES	P157
U. YILDIRIM	P32
U. YILMAZ	P88

Ü

Ü. EGELİ	P24
Ü. EGELİ	S6
Ü. ÖZBEY	P46,P73
Ü. ÜNDEGER	S36
Ü. ZEYBEK	P205

V

V. A. VURAL	S12
V. B. ÇETİNTAŞ	P61
V. G. GÜLER	P82
V. İNAN	P100

Y

Y. A. BAYAZIT	P49
Y. ASLAN	S2
Y. BAYAZIT	P4
Y. BÜLBÜL	P79
Y. ÇEBİ	P62
Y. DODURGA	P22
Y. DUYDU	P105
Y. ERŞAHİN	P32
Y. K. TERZİ	P152,S21
Y. KALENDER	P141
Y. ÖĞRET	P83,P89,P91,S9
Y. SEYHUN	P101,S3
Y. SOYSAL	P113
Y. ŞAHİN	P55,P87
Y. TARKAN ARGÜDEN	P106,P125,P127
Y. ÜNLÜÇERÇİ	P34

Z

Z. AYDOĞDU DİNÇ	P26
Z. BAŞLAR	P125
Z. E. TAŞKIRAN	P96
Z. EROĞLU	P32,P61,P100
Z. HAMURCU	P2,P76
Z. KAYA	S20
Z. KEŞAN	P22
Z. KIRKALI	P28
Z. Ö. DOĞAN	P14,S17,S18,S25
Z. TANSUĞ	P4
Z. UÇKUN	P105
Z. YILMAZ	P86,P135,P136