

TCCAGG AAGGGA AAGGGA AAGGGA
AACGGG AAGGGA AAGGGA AAGGGA
AGCTCT AAGGGA AAGGGA AAGGGA
GGACAG ATTACG ATTACG ATTACG
TATCCA CTGCTC CTGCTC CTGCTC
CGGTGTACTGC TACTGC TACTGC TACTGC
ACACCATCT CCATCT CCATCT CCATCT
GGAGTTG GAGTTG GAGTTG GAGTTG
ATAAAGGTG AAAGGT TAAAGG TAAAGG
AAGAGATAGAA GATAGAGAT GATAGAGAT GATAGAGAT
AGGCTT CACCCT CACCCT CACCCT
CTCTAC GAACCA GAACCA GAACCA
CTCTCA CATTAT CATTAT CATTAT
AGGGCG TGGCGT TGGCGT TGGCGT
GGCTAG TAGAGC TAGAGC TAGAGC



ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

ULUSLARARASI KATILIMLI

26-29 EKİM 2017

Liberty Lykia Resort Hotel
ÖLÜDENİZ **FETHİYE**



KONGRE KİTABI

www.tbgder.org



XV. ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 Ekim 2017 Ölüdeniz - Fethiye

XV. NATIONAL CONGRESS OF MEDICAL BIOLOGY AND GENETICS

26-29 October 2017 Ölüdeniz - Fethiye – TURKEY

BU KONGRE TÜBİTAK TARAFINDAN DESTEKLENMİŞTİR

İÇİNDEKİLER / TABLE OF CONTENTS

Önsöz <i>Foreword</i>	5
Bilimsel Program <i>Scientific Program</i>	6
Davetli Konuşmacı Sunumları <i>Invited Speakers Presentations</i>	17
Genç Araştırmacı Sunumları <i>Young Researchers' Presentations</i>	51
Sözlü Sunumlar <i>Oral Presentations</i>	64
Poster Sunumları <i>Poster Presentations</i>	141

ÖNSÖZ / FOREWORD

Değerli Meslektaşlarım ve Sektör Temsilcileri,

XV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 26 - 29 Ekim 2017 tarihleri arasında Fethiye Ölüdeniz Liberty Hotels Lykia World Resort'te düzenlenecektir. Uluslararası katılımı ile gerçekleştirilen kongremiz derneğimiz tarafından düzenlenen Tıbbi Biyoloji ve Genetik camiasının en önemli etkinliğidir.

Derneğimizin kuruluşundan bu yana düzenli olarak organize ettiğimiz kongremiz hem bilimsel hem sosyal açıdan doyurucu niteliklere sahip olarak sürmektedir. Derneğimizin düzenlediği ulusal kongremiz 500' ü aşkın üyesiyle hem sunulan bildiriler hem de katılımcı sayısı bakımından sürekli artan bir grafik çizmektedir.

Kongrelerimize geniş bir öğrenci katılımı olduğu dikkate alınarak 25. yılımızda ve 15' inci kongremizde de gelenekselleşen 25 katılımcımıza kayıt ve ulaşım burslarımız derneğimiz yönetiminin almış olduğu karar doğrultusunda uygulanacaktır.

Her zaman olduğu gibi 15' inci kongremizde de camiamızın kurucu isimlerinden olan Prof. Dr. Altan Günalp ödülünün yanısıra serbest bildiri ve poster ödülleri de verilecektir.

Uzun yıllardır sürmekte olan yine Tıbbi Biyoloji ve Genetik alanında tartışılan ve sıkıntı oluşturan konuların da geniş katılımlı olarak tartışma imkanının olacağı kongremizde gelenekselleşen 29 Ekim Cumhuriyet balosunu da siz değerli meslektaşlarımızla birlikte yaşayacağız.

Bu vesile ile sizleri kongremize davet etmekten onur duyar, bilimsel ve sosyal açıdan doyurucu bir program geçireceğimiz 26 - 29 Ekim 2017 tarihleri arasında Ölüdeniz Fethiye’de buluşmayı dilerim.

Saygılarımla,

Prof. Dr. Turgut Ulutin

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Derneği Başkanı

BİLİMSEL PROGRAM / SCIENTIFIC PROGRAM

SALON A

26 Ekim 2017 Perşembe / 26 October 2017 Thursday

09:00 - 12:30 KAYIT

13:00 - 13:30 **AÇILIŞ - OPENING CEREMONY**

13.30 - 14:15 KONFERANS 1 - PLENARY 1

Kişiselleştirilmiş Tıp / *Precision Medicine*

Moderatörler - Moderators: Prof. Dr. Turgut ULUTİN

Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK

Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir

Kişiyi özel hassas Tıp: Tanıdan tedaviye beklentiler / *Precision Medicine: Expectations for diagnosis and treatment*

14:15 - 14:30 KAHVE ARASI - COFFEE BREAK

14:30 - 16:30 OTURUM I

Tümör Metabolizması / *Tumor Metabolism*

Moderatör - Moderator: Prof. Dr. Ayşe ÖZER, Prof. Dr. Neşe ATABEY

14:30 - 15:15 KONFERANS 2 - PLENARY 2

Prof. Dr. Fahri SAATÇIOĞLU

Dept. of Biosciences, University of Oslo; Norway

Prostat kanserini yönlendiren stres sinyal yolları / *Stress signaling pathways drive prostate cancer*

15:15 - 16:30 **PANEL 1**

Tümör Metabolizması / *Tumor Metabolism*

Prof. Dr. Nese ATABEY

Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ABD, İzmir

Kanserde metabolizmanın yeniden programlanmasını düzenleyen sinyal yolları: c-Met reseptör tirozin kinazın yeni bir rolü / *Signaling pathways that regulate metabolic reprogramming in cancer: A new role of c-Met receptor tyrosine kinase*

Doç. Dr. Petek BALLAR KIRMIZIBAYRAK

Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya ABD, İzmir

Kanserde ER stres, metabolik adaptasyon ve ER-aracılı protein yıkımı / *ER stress, metabolic adaptation and ER-associated degradation in cancer*

Yrd. Doç. Dr. Duygu SAĞ

Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir

İmmüno-metabolizma: Kolesterolün kanser immünitesine etkisi / Immunometabolism: Effect of cholesterol on cancer immunity

16:30 - 16:45 KAHVE ARASI / COFFEE BREAK

16:45 - 17:15 TÜSEB (Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı) Tanıtımı

Moderatör - Moderator: Prof. Dr. Meral ÖZGÜÇ

Prof. Dr. Ali Osman KILIC

TÜSEB-Biyoteknoloji Enstitüsü Başkanı

SALON A

26 Ekim 2017 Perşembe / 26 October 2017 Thursday

17:15 - 18:30 SERBEST BİLDİRİLER - ORAL PRESENTATIONS
Oturum Başkanları - *Chairs*: Prof. Dr. Cumhur GÜNDÜZ, Prof. Dr. Nevin ERENŞOY

SS - 002

Gökhan Yıldız

Hepatoselüler karsinom hücrelerinde ilaç muamelesine hassas yeni moleküler hedeflerin entegre çoklu-omik veri analizleri kullanılarak belirlenmesi

SS - 003

Hale Şamlı

Prostat Kanserinde Palladyum (II) Kompleksi ve microRNA Ekspresyonu

SS - 004

Melda Sarıman

Multiple Myeloma Hastalarının Myeloma Hücrelerinde RNA Dizileme ve Insilico Analizler

SS - 005

Mustafa Akkiprik

Neoadjuvan kemoterapi alan lokal ileri evre meme kanseri hastalarında dolaşımdaki tümör hücresi moleküler analizleri

18:30 - 19:30 AÇILIŞ KOKTEYLİ - *WELCOME COCKTAILS*

20:30 - 22:00 Tıbbi Biyoloji Eğitim Forumu
Moderatör - *Moderator*: Prof. Dr. Meral ÖZGÜÇ

SALON A

28 Ekim 2017 Cumartesi / 28 October 2017 Saturday

08:30 - 10:05 OTURUM V

Hücre Moleküler Biyolojisiindeki Yeni Gelişmeler / *New Developments in Molecular Cell Biology*

Moderatörler - Moderators: Prof. Dr. Müjgan CENGİZ, Prof. Dr. Sibel Berker KARAÜZÜM

08:30 - 09:15 KONFERANS 6 - PLENARY 6

Dr. Erdiñç SEZGİN

Weatherall Institute of Molecular Medicine, University of Oxford, Oxford, UK

Yüksek çözünürlüklü mikroskop yöntemleri ile hücresel görüntüleme; genel bakış ve güncel araştırma sonuçları
Cellular imaging with super-resolution microscopy; overview and update

09:15 - 10:05 **PANEL 4**

Hücre Moleküler Biyolojisiindeki Yeni Gelişmeler / *New Developments in Molecular Cell Biology*

Dr. Onur BAŞAK

Hubrecht Institute, Utrecht, NL

Organoid teknolojisinin kök hücre araştırmalarında kullanımı / *Use of organoid technology in stem cell research*

Doç. Dr. Seda KIZILEL

Koç Üniversitesi, Kimya ve Biyoloji Mühendisliği, İstanbul

Hücre fonksiyonlarının incelenmesinde, tanı ve tedavide biyomateriyaller / *Biomaterials in examination of cell functions, diagnosis and treatment*

10:10 - 10:50 KAHVE ARASI - POSTER ZİYARETLERİ / COFFEE BREAK - POSTER PRESENTATIONS

10:50 - 12:50 SERBEST BİLDİRİLER - ORAL PRESENTATIONS

Moderatörler - Moderators: Prof. Dr. OSMAN DEMİRHAN, Doç. Dr. Tuba EDGÜNLÜ

SS - 034

Mustafa Gökhan Ertosun

Hücrenin Kaderini Belirleyen Yeni Bir İlişki: E2F1 & PKA

SS - 035

Ufuk Mert

DR5'in hücre yüzeyi ifadesinde HuR ve Vps39'un rolü

SS - 036

Ceren Sümer

Epidermal farklılaşmanın iki önemli proteini; reseptörle etkileşen serin-tireonin kinaz 4 (RIPK4) ve keratin 14 (KRT14)'ün etkileşiminin gösterilmesi

SS - 037

Asiye Büşra Boz Er

Reseptörlle etkileşen serin/tireonin kinaz 4 (RIPK4) ve pleimorfik adenoma gen benzeri 2 (PLAGL2) proteinlerinin etkileşimlerinin incelenmesi

SS - 038

Tuba Dinçer

TGF β sinyal yolağının Reseptörle Etkileşen serin/treonin Kinaz 4 (RIPK4) tarafından baskılanması

SS - 040

Günnur Demircan

Floresan İşaretli Wheat Germ Agglutinin Yardımıyla İki Farklı Kanser Hücre Soyunda Hücre Yüzey Glikanlarının Analizi

SS - 041

Erkan Ermis

Karaciğer iskemi/reperfüzyon hasarında, karaciğer ve uzak organlarda endoplazmik retikulum (ER) stresinin rolü

12:50 - 13:50 ÖĞLE YEMEĞİ - *LUNCH*



ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



SALON A

28 Ekim 2017 Cumartesi / 28 October 2017 Saturday

13:50 - 14:15 KONFERANS 7 - PLENARY 7

Moderatörler - Moderators: Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ, Prof. Dr. Melek ÖZTÜRK

Prof. Dr. Aykut ÜREN

Georgetown University Medical Center, Department of Oncology, Washington, D.C. ABD

Ewing sarkomu için hedeflenmiş tedavi geliştirilmesi / *Development of Targeted treatment for Ewing sarcoma*

13:30 - 15:30 OTURUM VI

Hücre Yaşlanması ve Ölümü / *Cell Aging and Death*

Moderatörler - Moderators: Doç. Dr. Devrim GÖZÜAÇIK, Prof. Dr. İlhan ONARAN

14:15 - 15:30 PANEL 5

Hücre Yaşlanması ve Ölümü / *Cell Aging and Death*

Doç. Dr. Michelle Adams

Bilkent Üniversitesi, Department of Psychology, Ankara

Zebra balığında senesans ve yaşlanma - *Senescence and ageing in the Zebrafish*

Yrd. Doç. Dr. Tuğba BAĞCI-ÖNDER

Koç Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, İstanbul

İnovatif beyin tümör tedavileri ve hücre ölümü - *Innovative brain tumor therapies and cell death*

Doç. Dr. Devrim GÖZÜAÇIK

Sabancı Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Moleküler Biyoloji Genetik, İstanbul

Otofajinin hücrenin kaderinin belirlenmesindeki rolü - *Role of autophagy in cell faith decisions*

15:30 - 16:15 KAHVE ARASI - POSTER ZİYARETLERİ / COFFEE BREAK - POSTER PRESENTATIONS

16:15 - 18:15 SERBEST BİLDİRİLER - ORAL PRESENTATIONS

Oturum Başkanları - Chairs: Prof. Dr. İbrahim AÇIKBAŞ, Doç. Dr. Banu Balci-PEYNİRCİOĞLU

SS - 050

Salih Gencer

Primary Cilia Membranında Lokalize Olan TGF- β Reseptör I/II'nin Seramid Tarafından Regülasyonu ve Tümör Metastazının Kontrolü

SS - 051

Erkan Kahraman

Hepatoselüler karsinoma gelişiminde Sestrin2'nin rolü

SS - 052

Hüsnüye Işın

Meme Kanseri Hastalarda WRN ve DSP Genlerinin Araştırılması

SS - 053

Ece Konaç

Epitelyal-mezenkimyal geçiş proteinleri, periostin, integrin- $\alpha 4$ ve fibronektin ifadeleri, metastatik kastrasyona dirençli prostat kanserinin klinik-patolojik özellikleri ve prognozu ile ilişkili midir?

SS - 054

Besra Özmen Yelken

Prostat Kanseri Hücrelerinde Yeni Bir Resveratrol Analogu Olan DMU-212'nin Anti Kanser Etkinliğinin In Vitro Değerlendirilmesi

SS - 055

Gülşah Albayrak

Crispr/Cas9 ile FOXA1 geni knock-out edilen prostat kanseri hücrelerinde anti kanserojen ajanların PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağına etkileri

SS - 056

Zeynep Cansu Üretmen Kagalı

Epitel-mezenkimyal-dönüşümün proteomik analizi

SS - 057

Buket Özel

Dasatinib ile Muamele Edilen K562 Hücre Serisinde, Dasatinibin, PP2A Katalitik ve Regulator Alt Birimlerinde, Enzim Aktivitesine ve Protein Ekspresyonu Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

20:00 - 23:00 CUMHURİYET BALOSU ve ÖDÜL TÖRENİ - REPUBLIC DAY'S BALL AND AWARD CEREMONY

SALON A

29 Ekim 2017 Pazar / 29 October 2017 Sunday

09:00 - 11:00

OTURUM VIII

Gen ve Hücre Tedavisi - *Gene and Cell Therapy*

Moderatörler - Moderators: Prof. Dr. Salih ŞANLIOĞLU, Prof. Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI

09:00 - 09:45

KONFERANS 9 - *PLENARY 9*

Prof. Dr. Nedime SERAKINCI

Yakın Doğu Üniversitesi Tıbbi Genetik ABD, Lefkoşa, KKTC

Mezenkimal kök hücre modellemesiyle kanserde gen terapi: Genetik Terapi / *Modeling stem cells in genetic therapy*

09:45 - 11:00

PANEL 6

Gen ve Hücre Tedavisi - *Gene and Cell Therapy*

Prof. Dr. Alan BILISLAND

University of Glasgow, Glasgow, UK

Getting the best of both worlds: gene therapy agents as probes for senotherapeutic drug discovery

Prof. Dr. Ahter D. ŞANLIOĞLU

Akdeniz Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD, Antalya

Replikasyondan Kök Hücreye Pankreatik Beta Hücre Kompensasyonu / *Pancreatic Beta Cell Compensation from Replication to Stem Cells*

Prof. Dr. Tunç AKKOÇ

Marmara Üniversitesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, İstanbul

Kök Hücre ve İmmünomodülasyon / Stem Cell And Immunomodulation

11:00 - 11:25

KAHVE ARASI - COFFEE BREAK

11:25 - 13:00

OTURUM IX

Genom Teknolojileri - *Genom Technologies*

Moderatörler - Moderators: Prof. Dr. Nedime SERAKINCI, Prof. Dr. F. Belgin ATAÇ

11:25 - 12:10

KONFERANS 10 - *PLENARY 10*

Prof. Dr. Minoo RASSOULZADEGAN

Institute of Biology Valrose, Université Nice Sophia Antipolis, France

RNA-mediated heredity of autism spectrum disorder

12:10 - 13:00

PANEL 7

Genom Teknolojileri - *Genome Technologies*

Prof. Dr. Haydar BAĞIŞ

Adıyaman Üniversitesi, Tıbbi Genetik ABD, Adıyaman

Transgenetik ve klonlamada güncel gelişmeler / *Current developments in transgenetics and cloning*

Prof. Dr. Murat KASAP

Kocaeli Üniversitesi Tıp fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Kocaeli

Linking a compound-heterozygous Parkin mutant to Parkinson's disease by using proteomic and molecular approaches

13:00 - 13:20

KAPANIŞ OTURUMU - CLOSING CEREMONY

SALON B

26 Ekim 2017 Perşembe / 26 October 2017 Thursday

17:15 - 18:30 SERBEST BİLDİRİLER - ORAL PRESENTATIONS

Oturum Başkanları - Chairs: Doç. Dr. Matem TUNÇDEMİR, Doç. Dr. A. Gaye TOMATIR

SS - 006

Ceyda Çalışkan

Kronik myeloid lösemide Dishevelled proteinlerinin onkojenik etkisinin belirlenmesi

SS - 007

Çağla Kayabaşı

Ponatinib ve VS-5584 terapötik ajanlarının Kronik Miyeloid Lösemi lökomogenezine etkileri

SS - 008

Tunç Tuncel

Malign Mezotelyoma ve Benign Asbest Plörizilerinin Karşılaştırmalı Genom Çapı Taranması

SS - 009

Gökçe Erdoğan

2-Hidroksi-5 metoksiasetofenon tiyosemikarbazon ve N(4)- türevli çinko komplekslerinin antikanser etkilerinin değerlendirilmesi

SS - 010

Gamze Turna

Serviks ve meme kanseri hücre hatlarında D-loop, ND4 ve CO-1 mutasyon modellerinin karşılaştırılması

27 Ekim 2017 Cuma / 27 October 2017 Friday

10:50 - 12:35 SERBEST BİLDİRİLER / ORAL PRESENTATIONS

Oturum Başkanları - Chairs: Prof. Dr. Sibel ÖGUZKAN BALCI, Doç. Dr. Fahri AKBAŞ

SS - 011

Çilem Ercan

Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu serum mikroRNA'larında potansiyel Biomarkerler

SS - 012

Gizem Çelebi

Berberinin AMP-aktif edilmiş protein kinaz yolağında bulunan seçilmiş genlerin ekspresyon düzeylerine etkisi

SS - 013

Tuba Mutlu

Koroner Anjiyografi ile DNA Hasar Düzeyi Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

SS - 014

Pelin Telkoparan Akillilar

Endoplazmik retikulum stres sensör protein IRE1 proaterojenik gen ifadelerini düzenler

SS - 015

Abdullah Yalçın

Katlanmamış protein yolağını etkileyen ve anti diyabetik etkileri olan Azoramid molekülünün fenotipik tahliller kullanarak bulunması

SS - 016

Sezen Atasoy

Diz osteoartritlerinde sitokinlerin rollerinin belirlenmesi ve aday biyobelirteç araştırılması

SS - 017

Zeliha Emrence

Akut Miyeloid Lösemide NOL7 Anlatımı ve Akut Promiyelositik Lösemi Hücrelerinde NOL7'nin All Trans Retinoik Asit Direncinde Rolü

SALON B

27 Ekim 2017 Cuma / 27 October 2017 Friday

14:15 - 15:30 OTURUM IV

Hastalıkların Moleküler Temelleri -II / *Molecular Bases of Diseases - II*

Moderatörler - Moderators: Prof. Dr. Fatma Sarvan OĞUZ, Prof. Dr. Ayhan DEVİREN

Doç. Dr. Banu Balci PEYNİRCİOĞLU

Hacettepe Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Ankara

Inflamazom Bileşenleri ve Otoinflamatuvar Hastalıklar / *Inflammatory Components and Autoinflammatory Diseases*

Doç. Dr. Gizem Dönmez YALÇIN

Adnan Menderes Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Aydın

Mitokondriyel antioksidant aktivitenin MPTP ile oluşturulmuş Parkinson modeline karşı olan koruyucu etkisi / *The protective effect of mitochondrial antioxidant activity against Parkinson model induced by MPTP*

Doç. Dr. Sezgin GÜNEŞ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Samsun

Epigenetik - Erkek infertilite / *Epigenetics - Male Infertility*

16:15 - 18:15 SERBEST BİLDİRİLER - ORAL PRESENTATIONS

Oturum Başkanı - Chair: Doç. Dr. Didem DAYANGAÇ ERDEN, Doç. Dr. Duygu GEZEN-AK

SS - 026

Evrin Aksu

Megakoniyal konjenital müsküler distrofi hastalığının patogenezinde mitokondriyal füzyon ve fisyon mekanizmalarının rolü

SS - 027

Muhammed Abdulvahid Kalkan

AMP-Aktive Edilmiş Protein Kinazın (AMPK) Aktivatörü-AICAR Kullanımının AMPK Yolağındaki Genler Üzerine Etkisi

SS - 028

Ecem Kural Mangit

LGMD2R'nin genom düzenleme araçları kullanılarak zebra balığında modellenmesi

SS - 030

Mehtap Yilmaz Tezcan

CaMKII gamma aktivitesinin fosforilasyona bağlı regülasyonu ve vasküler düz kas fonksiyonundaki önemi

SS - 031

Mükerrem Hale Taşyürek

Antidiyabetik gen terapi ajanı olarak Glukagon Benzeri Peptid-1 ve hücresel transdiferansiyasyon

SS - 032

Özlem Yılmaz

C57BL/6 farelerde Tip 2 Diyabet gelişim sürecinde TRAIL ligandının ve DR5 ve DcR2 reseptörlerinin baskılandığı, ve TRAIL uygulamasının glukoz toleransını ve insülin direnciliğini hafiflettiği gözlemlendi

SS - 033

Zekeriya Düzgün

Zekeriya Düzgün
Kardiyovasküler sistem üzerinde etkili ilaçların IRE-JNK yolu üzerindeki protein-ligand etkileşimlerinin moleküler docking, moleküler dinamik simülasyon ve serbest enerji metoduyla araştırılması

SALON B

28 Ekim 2017 Cumartesi / 28 October 2017 Saturday

10:50 - 12:50 SERBEST BİLDİRİLER - ORAL PRESENTATIONS

Moderatörler - Moderators: Prof. Dr. Ayfer PAZARBAŞI, Prof. Dr. Mustafa AKKIPRIK

SS - 042

Emine Kandemiş

Hepatosit Büyüme Faktörü'nün, EpCAM+/CD133+ Karaciğer Kanseri Kök Hücreleri Üzerine Etkileri

SS - 043

Muazzez Gökalp

Crohn hastalarının PBMC ve aktif dokularında insan DF-MKH'lerinin T lenfosit alt grupları ve IL-22BP üzerine etkisinin araştırılma

SS - 044

Sevilay Şahoğlu Göktaş

İnsan uzun QT sendromu kökenli uyarılmış pluripotent kök hücrelerde ilgili mutasyonun CRISPR/Cas9 ile düzeltilerek hastalık fenotipinin incelenmesi

SS - 045

Muazzez Gökalp

Dental Folikül Mezenkimal Kök Hücrelerinin Ev Tozu Akarına Duyarlı Astım Hastalarının Lenfositleri Üzerinde İmmünoregulator Etkisi

SS - 047

Fatma Zehra Hapil

TNF- α Reseptör 1 (TNFR1) Sinyal İletimi, JAK2, c-Src ve Protein Kinaz A (PKA) Aracılı Fosforilasyonlarla Düzenlenmektedir

SS - 048

Sule Beyhan Ozdas

Sıçan karaciğer dokusunda fluoresan işaretli lektinler ile hücre yüzey glikanlarının analizi

SS - 049

Hayriye Şentürk Çiftçi

CXCL10 Ekspresyon Düzeylerinin Düzenlenmesi ve CXCL10 Polimorfizmleri ile Hastalık İlişkileri

13:50 - 14:15 KONFERANS 8 - PLENARY 8

Moderatörler - Moderators: Prof. Dr. Seniha HACIHANEFİOĞLU, Prof. Dr. Osman Nidai ÖZDES

Yrd. Doç. Dr. Bahadır BATAR

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

Wwox eksikliği homoloji yönlendirilmiş onarımı yükselterek sağkalımı artırır / *Wwox*-deficiency promotes increased survival by enhancing homology-directed repair

14:15 - 15:30 OTURUM VII

Kanser Moleküler Biyolojisi ve Genetiği / *Molecular Biology and Genetics of Cancer*

Oturum Başkanları - Chairs: Prof. Dr. Hakan AKÇA, Doç. Dr. Fatma KAYA DAĞISTANLI

Prof. Dr. Gülşah ÇEÇENER

Uludağ Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Bursa

miRNA ve Kanser - *miRNA and cancer*

Prof. Dr. Uğur GEZER

İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, İstanbul

Kolorektal kanserli hastalarda kan plazmalarında histon metillenmelerinin biyobelirteç potansiyeli / Biomarker potential of histone methylation in blood plasma of patients with colorectal cancer

Doç. Dr. Müge SAYITOĞLU

İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul

Kanser Genomunun Düzenlenmesi - *Regulation of Cancer Genome*

SALON B

28 Ekim 2017 Cumartesi / 28 October 2017 Saturday

13:50 - 14:15 SERBEST BİLDİRİLER - ORAL PRESENTATIONS

Oturum Başkanları - Chairs: Doç. Dr. Gizem Dönmez YALÇIN, Doç. Dr. Evrim KÖMÜRCÜ BAYRAK

SS - 058

Ceren Sari

Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)'in Farklı Kolorektal Kanser Hücre Hatları Üzerindeki Apoptotik Etkileri

SS - 059

Özgün Özalp

Telomeraz inhibitörü BIBR1532 K-562 hücrelerinde apoptozu indükleyen epigenetik değişimleri hedefler

SS - 060

Funda Demirtaş Korkmaz

FoxM1 transkripsiyon faktörü inhibisyonunun 4T1 fare meme kanseri hücre hattında metastaz üzerine potansiyel etkilerinin değerlendirilmesi

SS - 062

Onur Tokgün

Myc Ekspresyonu Küçük Hücreli Akciğer Kanseri Progresyonunu Hücre Metabolizmasını Düzenleyerek Sağlar

SS - 063

Selvi Durmuş Erim

Özgün bir palladyum-barbitüurat bileşiğinin anti-kanser ilaç adayı olarak prelinik analizi

SS - 064

Fatma Söğütlü

Aurora kinaz inhibitörü CCT137690' ın Melanom hücre hattındaki etkisi

SS - 065

Adnan Ayhanci

NANOHEMOGLOBİN-SUPEROKSİDİSMUTAZ-KATALAZ-KARBONİK ANHİDRAZ-2,3-DİFOSFOLİSERAT: Hem Oksijen ve Karbondioksidi Taşıyabilen Hemde Antioksidan Olarak Etki Gösteren Yeni Biyoteknoloji Temelli Yapay Kan



Alan Bilsland

University of Glasgow, Glasgow, UK

Alan Bilal is a Senior Researcher in the Glasgow Experimental Cancer Medicines Centre. His interests are in all things translational. His lab is part of a national network of centres of clinical excellence focused on accelerating translation of new anti-cancer agents and combinations into multi-centre early-phase trials. His current interests include surrogate tissues for monitoring of pharmacodynamic and longitudinal biomarkers, supporting clinical development of novel agents targeting diverse hallmarks of cancer including DNA repair, metastasis, and the tumour microenvironment. He has a longstanding interest in transcriptionally targeted cancer gene therapy and in translational systems pharmacology of cell immortality and senescence, combining cell-based screening with modelling of signalling networks via machine learning and other frameworks. He previously identified several new small molecule and gene therapy agents targeting cancer and aging phenotypes. He currently serves on several trial management and oversight groups and is a member the UK ECMC Quality Assurance and Translational Science Network, the Institution of Engineering and Technology Healthcare Technologies Network, and was a member of the Halifax Project, an international consortium focused on network pharmacology exploiting natural agents for cancer prevention and therapy. Lastly, but not least, he enjoys teaching, especially at MSc level. He has developed curricula on drug discovery and is an advocate for technology-enhancement in teaching.

Getting the best of both worlds: gene therapy agents as probes for senotherapeutic drug discovery

Cellular senescence is a barrier to tumorigenesis in normal cells and tumour cells undergo senescence responses to genotoxic stimuli, which is a potential target phenotype for cancer therapy. Development of selective senescence inducers would represent a completely new pharmacological approach to cancer therapy. However, existing agents produce primarily mixed-mode responses and non-specific toxicity limits their usefulness as true senescence therapeutics. On the other hand, strategies to protect against senescence caused by dysfunctional telomere signalling due to cell aging and culture conditions could also be effective in ex-vivo expansion of cellular therapy products. Therefore, strategies are required for bi-directional manipulation of senescence. An advantage of gene therapy approaches is that therapeutic transgenes can “plug-in” to cellular networks, mediating pleiotropic signalling effects to elicit complex phenotypic outputs. However, in vivo delivery remains an issue, despite recent advances in cancer gene therapy, and delivery of small molecules is more efficient. Phenotypic screens are an alternative approach to traditional target-focused drug discovery and screens aimed at identification of molecules that mimic complex phenotypic and signalling effects of gene therapy agents might provide interesting leads for pro- or anti-senescence therapy.



Aykut ÜREN

Georgetown University Medical Center,
Department of Oncology, Washington, D.C. USA

Dr. Aykut Üren 1994 yılında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldu. Doktora sonrası eğitimini Amerika Birleşik Devletleri'nde, Maryland eyaletindeki milli kanser enstitüsünde (NCI) tamamladı. 2002 yılında Washington şehrindeki Georgetown Üniversitesi'ne öğretim üyesi olarak katıldı. Halen aynı üniversitede daimi profesör olarak çalışmaktadır. Bu güne kadar uluslararası dergilerde toplam 4000 üzerinde atıf alan 95 makale yayınlandı (h-index: 32). Bazıları ilaç şirketleri tarafından lisanlandırılmış olan 14 adet patenti bulunmaktadır. Dr. Üren'nin laboratuvarı pediatrik sarkomlar ve prostat kanseri için hedeflendirilmiş yeni tedavi yöntemleri geliştirmek için çalışmaktadır. Dr. Üren doktora öğrencilerine tumor biyolojisi ve tıp fakültesi öğrencilerine de anatomi dersleri anlatmaktadır. Çalışmaları hakkında daha ayrıntılı bilgi ve yayınlarının tam listesi Dr. Üren laboratuvarının internet sitesinde bulunabilir (www.uren-lab.org).

Dr. Aykut Üren graduated from Hacettepe University School of Medicine in 1994. He has done his postdoctoral training at the National Cancer Institute in Bethesda, Maryland in the United States. He joined the faculty at Georgetown University in Washington DC in 2002. Currently he is a tenured full professor at Georgetown University. He has published 95 peer-reviewed papers in cancer biology that received over 4000 citations and H index of 32. He has 14 patents some of which were licensed to drug companies. His research program focuses on developing small molecules to target specific protein-protein interactions in pediatric sarcomas and prostate cancer. Dr. Üren teaches tumor biology to graduate students and gross anatomy to medical students. Detailed information about his research program and full list of his publications can be found in his lab webpage (www.uren-lab.org)

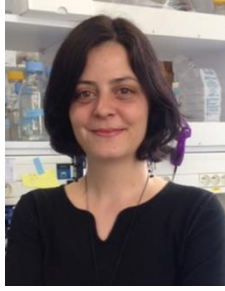
Ewing sarkomu için hedeflenmiş tedavi geliştirilmesi

Ewing sarkomu (ES) çoğunlukla çocuk ve gençleri etkileyen agresif bir kemik ve yumuşak doku kanseridir. CD99, ES hücrelerinde oldukça çok ifade edilen bir hücre yüzeyi proteindir ve bu hücrelerin kanser özelliklerini sürdürülmesi için gereklidir. Bu çalışmada, ES hücrelerindeki CD99 aktivitesini durduran küçük moleküller keşfetmeyi amaçladık. Saflaştırılmış CD99 proteininin hücre dışı bölgesine doğrudan bağlanabilen küçük molekülleri tarayabilmek için Biacore cihazında yüzey plazmon rezonans teknolojisini kullandık. Öncül hit moleküller daha sonra hücre canlılığı, CD99 dimerizasyonu, CD99 protein partnerlerinin bağlanması (IP-WB) ve ES ksenograft modellerini (3 ES hücre hattı) içeren yöntemlerle değerlendirildi. 14 ES hücre hattına karşılık 28 ES olmayan hücre hattı içeren panelde, ES hücrelerinin büyümesini seçici olarak durduran, FDA tarafından onaylanmış, yapısal olarak benzer, klofarabin ve kladrabin adında iki bileşik tespit ettik. Her iki ilaç CD99 dimerizasyonunu ve CD99 proteininin aşağı yönlü (downstream) sinyal ileti bileşenleri ile olan etkileşimini inhibe etti. Klofarabinin membran geçirimsiz bir analogu kültürde benzer sitotoksite gösterdi. Bu sonuç, klofarabin analogunun DNA metabolizmasından bağımsız olarak CD99 inhibisyonu üzerinden fonksiyon gösterebileceğini işaret etmektedir. Her iki ilaç ES hücrelerinin ankoraj-bağımsız büyümelerini güçlü bir şekilde engellerken, üç farklı ES ksenograft büyümesinin inhibe edilmesinde klofarabin kladribinden daha etkili bir sonuç gösterdi. Elde ettiğimiz bulgular klofarabinin farklı klinik uygulamadaki aktivitesini açıklayabilecek yeni moleküler mekanizmalar olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar ayrıca klofarabinin ES hastası olan çocuklarda erken faz klinik denemeleri için iyi bir aday olduğunu düşündürür.

Development of Targeted treatment for Ewing sarcoma

Ewing sarcoma (ES) is an aggressive bone and soft tissue malignancy that predominantly affects children and adolescents. CD99 is a cell surface protein that is highly expressed on ES cells and is required to maintain their malignancy. In this study, we aimed to discover small molecules that can inhibit CD99 activity in ES cells. We used surface plasmon resonance technology in a Biacore instrument to screen small molecules that can directly bind to purified extracellular domain of CD99 protein. Initial hits were then evaluated in secondary assays that involved cell viability, CD99 dimerization, CD99 protein partner binding (IP-WB) and ES xenografts (3 ES lines). We identified two structurally similar FDA-approved compounds, clofarabine and cladribine that selectively inhibited the growth of ES cells in a panel of 14 ES vs. 28 non-ES cell lines. Both drugs inhibited CD99 dimerization and its interaction with downstream signaling

components. A membrane-impermeable analog of clofarabine showed similar cytotoxicity in culture, suggesting that it can function through inhibiting CD99 independent of DNA metabolism. Both drugs drastically inhibited anchorage-independent growth of ES cells, but clofarabine was more effective than cladribine in inhibiting growth of three different ES xenografts. Our findings provide novel molecular mechanisms that can explain clofarabine activity in different clinical applications and suggest that clofarabine is a good candidate for early phase clinical trials in children with ES.



Ayşegül Dilsizoğlu

Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

2012-2016: Araştırma görevlisi

Beyin ve Omurilik Araştırma Merkezi (Brain and Spine Institute), Pitié Salpêtrière Hospital, Paris

Danışman: Marc Davenne, Catherine Lubetzki

Proje: Akson inisiyel segmentin Multipl Skleroz hastalığındaki rolü

Eğitim

2008-2012: Doktora: Pierre ve Marie Curie Üniversitesi, Brain-Cognition-Behavior (ED3C), INSERM U894, Paris, Fransa

Tez konusu: APP partneri PAT1'in APP trafığı ve endositotik sistemdeki rolü

Danışman: Dr. Bernadette Allinquant

2006: Yüksek lisans derecesi (M.Sc.): İstanbul Teknik Üniversitesi (İTÜ), Moleküler Biyoloji

Genetik ve Biyoteknoloji Departmanı

Tez Konusu: Kif15 Moleküler Motor Proteininin Moleküler Diseksiyonu

Danışman: Prof. Dr. Arzu Karabay

2003: Lisans derecesi: Marmara Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

Misafir öğrenci: Aralık 2004-Mart 2005: Drexel Üniversitesi, ABD

Norobiyoloji ve Anatomi Departmanı (Dr. Gianluca Gallo Laboratuvarı)

Proje: Characterization of Rac1/Cdc42 specific binding mutants of PAK1

Misafir araştırmacı: 25.05.2015-15.06.2015: Institut für Neuropathologie, Robert-Koch-Str. 40, 37075 Göttingen, (Prof. Dr. Med. Christine Stadelmann-Nessler Laboratuvarı)

Multipl Skleroz hasta örneklerinde lezyon çalışmaları

Multipl sklerozda akson başlangıç segmenti

Akson inisiyal segment (AIS) ve Ranvier bogumlari aksonun spesifik bolgelerinden olup ortak bir molekuler organizasyona sahiptirler. AIS, aksiyon potansiyelinin olusturulmasindan, Ranvier bogumlari ise bu potansiyelin akson uzerinde atlamali olarak ilerlemesinden sorumludur. AIS'in uzunluguna, soma'ya uzakligina ve uzerinde bulundurdugu sodyum ve potasyum kanallarinin ekspresyon seviyesine gore noronlar uyartilabilirlik ozelliklerini degistirebilirler. Multiple Skleroz (MS) hastaliginda, demiyelinizasyon deneysel modellerinde oldugu gibi, miyelin kilifinin kaybinin, Ranvier bogumlarinin dezorganizasyonuna ve bunu takiben aksiyon potansiyelinin ilerlemesinde defektlere ve sonuc olarak klinik bozukluklara yol actigi bilinmektedir.

MS hastaliginin fare modellerinden olan EAE (enfamasyon) modelinde, kortikal noronların AIS'lerinin dramatik bir sekilde kisaldigi gosterilirken baska bir MS modeli olan kuprizon modelinde AIS uzunlugu uzerinde herhangi bir degisiklik gozlenmezken, pozisyonu soma'ya yakin olarak rapor edilmistir.

Birbirleriyle celisen bu verileri ve fare modellerinin MS patofizyolojisini cok iyi yansitmadigini goz onune alirsak, AIS'in MS dokularinda etkilenip etkilenmedigi, eger etkileniyorsa nasil etkilendigi hala ucu acik bir sorudur. Bu soruyu cevaplamak icin bu calismamizda kortikal ve serebellar MS lezyonlarında (kontrol ve normal gorunumlu gri madde örnekleriyle karsilastirmali olarak), AIS uzerinde morfolojik (uzunluk ve pozisyon) analizler gerceklestirdik. Bu analizlere paralel olarak, AIS'in baslica duzenleyicisi olan Ankyrin-G (AnkG) ve AIS uzerinde bulunan ana sodyum kanali olan Nav1.6 proteinlerinin ekspresyon seviyelerini bu lezyonlarda olctuk. Analizlerimizi gerceklestirdigimiz iki tip noron hucresinde (kortikal piramidal noronlar ve serebellar Purkinje hucreleri) aktif ve aktif olmayan lezyonlarda AIS'nin pozisyonunda degisiklik gozlemledik. Buna ek olarak aktif lezyonlarda, AnkG ve Nav1,6 proteinlerinin ekspresyon seviyelerinde dusus kaydettik. Bu calismanin sonuclari AIS'in MS hastaligidan etkilendigini gostermekte olup, MS hastaliginda gozlemlenen aksonal fonksiyon bozukluklarına ve bazi hastalik semptomlarının ortaya cikmasina potansiyel olarak katkisi bulunmasi sebebiyle onem tasimaktadir.



ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



2012-2016: Post-doctoral researcher

Host institution: Brain and Spine Institute (ICM)- Pitié Salpêtrière Hospital, Paris

PIs: Marc Davenne, Catherine Lubetzki

Project: The role of the Axon Initial Segment (AIS) in Multiple Sclerosis (MS)

Education

2008-2012: PhD degree: University of Pierre and Marie Curie, Brain-Cognition- Behavior doctoral school (ED3C), INSERM U894, Paris, France Title of PhD Thesis: The APP Partner PAT1 is involved in APP Trafficking and in the Early Endocytic Pathway.

PI: Dr. Bernadette Allinquant

2006: Master's degree (M.Sc.): Istanbul Technical University (ITU), Molecular Biology, Genetics & Biotechnology Department, Istanbul, Turkey, 2nd best degree

Title of Master Thesis: Molecular Dissection of Kif15 Molecular Motor

PI: Prof. Dr. Arzu Karabay

2003: Bachelor's degree: Marmara University, Biology Department, Istanbul, Turkey, 3rd best degree

Visiting student: December 2004-March 2005: Drexel University/Philadelphia-USA, 2004

Neurobiology & Anatomy Department, Dr. Gianluca Gallo's Laboratory

Project: Characterization of Rac1/Cdc42 specific binding mutants of PAK1

Visiting researcher: 25.05.2015-15.06.2015: Institut für Neuropathologie, Robert-Koch-Str. 40, 37075 Göttingen, Prof. Dr. Med. Christine Stadelmann-Nessler Laboratory Practicing paraffin embedded and snap frozen human autopsy and biopsy samples, training on characterization of Multiple Sclerosis lesions.

Axon initial segment in multiple sclerosis

The axon initial segment (AIS) and nodes of Ranvier are specific axonal domains sharing the same molecular organization, and respectively allowing for the generation and propagation of action potentials (APs) along the axon. Depending on the voltage-gated sodium and potassium channels expressed at the AIS, the AIS length or its distance from the soma, neurons can modulate their excitability properties. In multiple sclerosis (MS), as well as in experimental models of demyelination, loss of the myelin sheath is associated with significant disorganization of nodes of Ranvier, which causes defects in the propagation of APs, and leads to clinical disability.

In the inflammatory EAE mouse model of MS, AISs from neocortical neurons were found to be disrupted, as revealed by a dramatic reduction in AIS length whereas in the cuprizone-induced demyelination mouse model of MS, neocortical AISs were found to exhibit no change in length but a change in position where AISs were found to start closer to the soma.

Given these opposing results and the fact that these two MS mouse models don't mimic MS pathophysiology perfectly, the question whether and how AISs may be affected in MS tissue remains open. In order to address these questions, in this study, we performed morphological analysis on AIS (length and position) and also investigated the expression level of Ankyrin-G (AnkG), the master organizer of AIS, and the main sodium channel expressed on AISs (Nav1.6) by using both cortical and cerebellar MS lesions in parallel to control and normal appearing gray matter (NAGM). We have shown that cortical pyramidal neurons and cerebellar Purkinje cells have an altered AIS position in active and inactive MS lesions. In addition, we have shown that AISs of both type of neurons exhibit reduced AnkG and Nav1.6 expressions in active MS lesions. These data suggest that AIS is affected in MS and this information may provide new insights into axonal dysfunctions that may develop in MS and contribute to at least some of the symptoms.



Erdoğan Sezgin

*Weatherall Institute of Molecular Medicine,
University of Oxford, Oxford, UK*

Personal Data

Place and Date of Birth: Turkey | 11 March 1985

Address: Weatherall Institute of Molecular Medicine,
Oxford, UK

Phone: +44 (0) 1865 222484

email: erdinc.sezgin@rdm.ox.ac.uk

Work Experience

2014-now Postdoctoral Scientist

University of Oxford

Supervisor: Prof. Christian Eggeling

2013-2014 Postdoctoral Scientist

Max Planck Institute of Cell Biology and Genetics

Supervisor: Prof. Kai Simons

Education

2010-2013 PhD

Dresden International PhD Program (DIPP)

International Max Planck Research School (IMPRS)

Dresden

Supervisor: Prof. Petra Schwille

2004-2009 BSc

Yeditepe University

Department of Genetics and Bioengineering

Supervisor: Prof. Mustafa Culha

Grants, Awards and Fellowships

- Weatherall Institute Public Engagement Award
- RDM Image Competition Award
- British Council Newton Fund
- ICGEB Workshop Grant
- EMBO Long Term Postdoctoral Fellowship
- Marie Curie Intra-European Postdoctoral Fellowship
- Dresden International PhD Program (DIPP) Travel Award
- First Honor Graduate from Yeditepe University with GPA 3.92/4.00
- Yeditepe University Scholarship for Top 5000 Students (among 1.5 million) in Turkish National University Entrance Examination
- Turkish Government Scholarship for University Education

Yüksek çözünürlüklü mikroskop yöntemleri ile hücresel görüntüleme; genel bakış ve güncel araştırma sonuçları

Vücumuzun yapı taşlarını meydana getiren hücreler genellikle mikrometre boyutlarındadır. Hücreler, farklı işlevleri olan birçok alt-bölümden oluşur. Hücresinin tüm organellerinin bulunduğu iç bölümü hücre dışından, hücre zarı olarak tanımlanan karmaşık bir yapı ile ayırır. Hücre zarı, iç ile dış arasında seçici bir bariyerdir; diğer bir deyişle, yalnızca belli maddelerin geçişine izin verir. Oldukça incedir (5-8 nm), ancak tüm hücreyi kapsayacak kadar da büyüktür. Organeller de oldukça küçük yapılarıdır; örneğin, mitokondri 1-3 mikrometre büyüklüğündedir. Hücre içindeki bu yapılar da birkaç nanometre boyutunda lipid, protein, karbonhidrat, nükleik asit gibi pek çok farklı molekülden meydana gelmiştir.

Söz ettiğimiz ölçekler, çıplak gözle görebildiklerimize göre oldukça küçüktür; bu nedenle, incelenebilmeleri için mikroskoplara gereksinim duyarız. Ancak, mikroskopların dahi ışığın dalga özelliğinden kaynaklanan sınırları bulunmaktadır. Basit olarak düşünüldüğünde, ışığın düz ışın halinde hareket ettiği düşünülebilir, ama mikroskop ölçeğinde ışığın yol alması çok daha karmaşık olup, dalga optiği yasaları ile belirlenir. Işık ışınlarının cisimlerle etkileşimi ile gözlenen kırılımı nedeniyle, konvansiyonel mikroskopların çözünürlüğü sınırlıdır.

Çözünürlük, mikroskop gibi optik bir cihazın iki cismi, iki farklı cisim şeklinde ayırt edebileceği minimum mesafe olarak tanımlanabilir. Eğer cisimler birbirine mikroskobun çözünürlüğünden daha yakın uzaklıktaysalar, tek bir cisim olarak görünürler. Genellikle optik bir sistemin çözünürlüğü, o cismi aydınlatmak için kullanılan ışığın dalga boyunun yarısına eşittir. Örneğin, görünür ışığın dalga boyu 500 nm civarındadır; bu da görünür ışık kullanan optik sistemin çözünürlüğünü 250 nm ile kısıtlar, birbirinden 250 nm’den daha yakın olan cisimlerin iki farklı cisim olarak algılanamayacağı anlamına gelir. Bu yapıları ayırtırmamız mümkün olmaz. Ancak, virüsler gibi 250 nm’den daha küçük cisimler mevcuttur, bu nedenle onları araştırmak için daha yüksek çözünürlüğe ihtiyaç vardır. Buna yönelik, “süper-çözünürlüklü mikroskopi” yöntemleri geliştirmek için inanılmaz çaba gösterilmektedir. Bu yöntemler birkaç nanometre ölçeğinde çözünürlük sağlayarak hücre ve moleküler biyoloji alanında devrim yapmıştır. Süper - çözünürlüklü mikroskopi ile yönlendirilen ışık sayesinde artık nano-boyuttaki kozmosu daha iyi görebiliyoruz.

Bu sunumda çözünürlük sınırını, yaygın kullanılan süper çözünürlüklü yöntemlerin çalışma ilkelerini açıklayarak, biyofizik ve hücre biyolojisi alanlarında uygulamaları özetleyeceğim.

Cellular imaging with super-resolution microscopy; overview and update

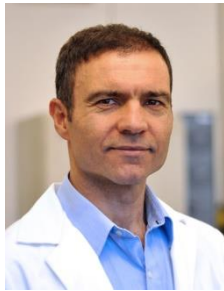
Cells accommodate several sub-compartments, called organelles which have distinct functions. Interior of the cell, where all the organelles reside, is separated from the exterior by a complex structure called the plasma membrane. Plasma membrane is a selective barrier between the inside and outside, i.e., it only permits certain molecules to pass through. It is fairly thin (5-8 nanometres) but quite large in area to cover the whole cell. Organelles are also fairly small structures; mitochondria for instance have a size of 1-3 micrometres. These structures inside the cell are composed of several different types of molecules (lipids, proteins, carbohydrates and nucleic acids) that typically have the size of a few nanometres.

The scales we have been talking about is extremely small compared to what we can see with our naked eyes. Therefore, we need microscopes to be able to study them. However, even the microscopes have limits that stems from the wave nature of the light. In the simplest picture, light can be considered to travel as straight rays, but on microscopic scales, light propagation is much more complex and is also governed by the laws of wave optics. Due to the diffraction of the light, a phenomenon light undergoes when light waves interact with fringes of intricate objects, the “resolution” of the conventional microscopes is limited.

Resolution is the minimum distance between two objects at which an optical device such as a microscope can distinguish two objects as two separate objects. If the objects are closer to each other than the resolution of the microscope, they are seen as a single object. In general, the resolution of an optical system is approximately equal to half the wavelength of the light we use to illuminate the object. For instance, the wavelength of the visible day light is around 500 nanometers, which limits the resolution of an optical systems using visible light to approximately 250 nanometers. This means, two small objects closer to each other than 250 nanometers cannot be distinguished as two separate objects. In other words, we cannot “resolve” these structures. However, there are smaller objects than 250 nanometers (e.g., viruses), therefore we need better resolution to investigate them. To this end, there has been an incredible effort to develop so called “super-resolution microscopy” techniques. These techniques, by providing incredible resolution down to a few nanometers, revolutionised the field of cell and molecular biology. We are now less blind to the nanoscale cosmos inside the cell thanks to the light shed on it by super-resolution microscopy.

Here, I will explain the resolution limit, address the working principles of the most commonly used super-

resolution techniques and summarise their recent applications in the biophysics and cell biology fields



Fahri Saatçioğlu

Dept. of Biosciences, University of Oslo; Norway

Academic Appointments:

11/2013-10/2016 Head, Section for Biochemistry and Molecular Biology, Dept. of Biosciences, University of Oslo, Norway (11 research groups, ca 60 people).

01/2002-Present Professor, Dept. of Biosciences,
University of Oslo, Norway.

10/2000-Present Visiting Scientist, Harvard School of Public Health, Boston, USA.

02/2011-Present Researcher (20%), Institute for Medical Informatics, Division of Cancer Medicine, Surgery, and Transplantation, Oslo University Hospital, Oslo, Norway.

11/2009-08/2010 Sabbatical, Harvard School of Public Health, Boston, USA.

10/2000-11/2001 Sabbatical, Harvard School of Public Health, Boston, USA.

7/1996-12/2001 Group Leader, Biotechnology Centre of Oslo, University of Oslo.

10/1993-4/1996 Assistant Research Molecular Biologist,
Department of Pharmacology, School of Medicine,
University of California, San Diego, CA, USA.

9/1990-9/1993 Post-doctoral fellow, Department of Pharmacology, School of Medicine, University of California, San Diego, CA, USA; Advisor: Dr. Michael Karin, Professor of Pharmacology.

3/1990-7/1990 Visiting scientist, Dana Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, MA, USA.; Advisor: Dr. Temple Smith, Professor of Biostatistics.

Education:

1985-1990 Maharishi International University, Fairfield, IA, USA; Ph.D. in Molecular Biology.

1983-1985 Maharishi International University, Fairfield, IA, USA; B.S. in Biology, summa cum laude.

1981-1983 Medical student, Aegean University Medical School, Izmir, Turkey

1980-1981 Student exchange program (American Field Service), Newtown High School, Newtown, CT, USA.

1977-1980 Ankara Science High School (top high school in the country)

Stress signaling pathways drive prostate cancer

The unfolded protein response (UPR) is a homeostatic mechanism to maintain endoplasmic reticulum (ER) function. The UPR is activated by various physiological conditions as well as in disease states, such as cancer. As androgens regulate secretion and development of the normal prostate and drive prostate cancer (PCa) growth they may affect UPR pathways. We have found that the canonical UPR pathways are directly and divergently regulated by androgens in PCa cells, through the androgen receptor (AR), which is critical for PCa survival. AR bound to gene regulatory sites and activated the IRE1 branch, but simultaneously inhibited PERK signaling. Inhibition of the IRE1 arm profoundly reduced PCa cell growth *in vitro* as well as tumor formation in preclinical models of PCa *in vivo*. Consistently, AR and UPR gene expression were correlated in human PCa, and spliced XBP1 (XBP1s) expression was significantly upregulated in cancer compared with normal prostate. We utilized an optimized IRE1 RNase-specific inhibitor, MKC8866, which strongly inhibited prostate cancer (PCa) tumor growth as monotherapy in multiple preclinical models in mice. In addition, MKC8866 showed synergistic antitumor effects with PCa drugs that are currently used in the clinic. RNA-Seq analysis of MKC8866-treated or XBP1s knockdown cells and mechanistic studies showed that XBP1s is necessary for optimal oncogene activation. In addition, analysis of independent PCa patient cohorts revealed a specific XBP1 gene expression signature that is strongly associated with prognosis. Our data establish IRE1 α -XBP1s signaling as a central pathway in PCa and indicate that its targeting may offer novel treatment strategies.



Francois Feron

Aix-Marseille Université - Faculté de Médecine,
Marseille, France

During his PhD and early post-doc years, François Féron (FF) carried out extensive studies focused on the role of various factors, including dopamine, in olfactory neurogenesis. As a Research Fellow and then Team Leader at Griffith University (Brisbane, Australia), FF acted as a co-PI for the world first clinical trial based on the autologous transplantation of olfactory ensheathing cells in paraplegic patients. In parallel, he unveiled the presence of stem cells in the nasal olfactory mucosa. Later on, these cells were successfully transplanted into a rat model of Parkinson's disease. Back in France, FF led the team that extensively characterize this new stem cell subtype and name them olfactory ecto-mesenchymal stem cells (Delorme et al, 2010). In a seminal study, he then showed that human olfactory stem cells were able to restore mnemonic abilities in a mouse model of amnesia (Nivet et al, 2011). Currently, FF coordinates the works of a French consortium funded for running two clinical trials based on autologous transplants of olfactory stem cells in patients with a peripheral nerve injury.

In parallel, FF also used human adult nasal olfactory stem cells to find new candidate genes in brain pathologies. His team successfully identified specific genes associated to Parkinson's disease, schizophrenia and bipolar disorders. This work on psychiatric disorders is now enlarged to high profile collaborators from Oxford University. More recently, his quest for risk factors was focused on neurodevelopmental pathologies, such as familial dysautonomia and autism spectrum disorders. In two recently released publications, the team demonstrated, using human nasal olfactory stem cells, a misexpression of the enzyme MOCOS (Feron et al, 2015) and several microRNAs (Nguyen et al, 2016).

In the recent years, vitamin D has been strongly associated to brain pathologies, including Multiple Sclerosis (MS). Two of the most intriguing findings are the season of birth and childhood sun exposure effects, suggesting that a vitamin D deficiency during pre- and/or post-natal periods is a risk factor for MS. After having devised a rodent model of vitamin D deficient and observed that a prenatal cholecalciferol depletion

induces an altered development of the brain, the team

Vitamin D and brain repair

Since its discovery during the epidemic of rickets in the early 1920s, the physiological effects of vitamin D on calcium/phosphorus homeostasis have been well studied. Along with the understanding of its actions on skeletal diseases and advances in cellular and molecular biology, this misnamed vitamin has gained attention as a potential player in a growing number of physiological processes and a variety of diseases. Finally, during the last 25 years, vitamin D has emerged as a serious candidate in nervous system development and function and a therapeutic target in a number of neurological diseases. More recently, fundamental and epidemiological data link hypovitaminosis D with impaired cerebral functions and show that supplementation with vitamin D is protective against biological processes associated with neurodegenerative diseases, including multiple sclerosis, amyotrophic lateral sclerosis, Parkinson's and Alzheimer's diseases. In addition, our team demonstrated that vitamin D delivery reduces pain and increases functional recovery after a peripheral nerve or spinal cord trauma.

In line with these accumulating evidence, it is tempting to conclude that vitamin D is neurologist's best friend. However, clinical interventional studies are disappointing and fail to associate increased 25(OH)D levels with improved outcomes. To explain such a discrepancy, we must consider that vitamin D's pleiotropic action is cell-, tissue-, time-, individual-, dose-, pathological context- and, may be, gender-dependent. As a result, in view of personalized medicine, future randomized trials should take into account the D-tails of every individual included in the cohorts. Furthermore, on a mechanistic point of view, recent research indicates that, within the brain, vitamin D may preferentially induce rapid non-genomic actions, via PDIA3 (also known as Grp58/Erp57/MARRS), rather than VDR-dependent genomic ones. If confirmed, such a finding would mean that vitamin D can be, at the same time, a vitamin D, an hormone as well as a paracrine/autocrine agent.

showed that a postnatal supplementation leads to a delayed onset and less severe symptoms in a mouse model of MS (Fernandes de Abreu et al, 2011). Intriguingly, an opposite and surprising result – precocious and more severe symptoms - was noticed when we assessed the F2 generation (Fernandes de Abreu et al, 2012), suggesting that vitamin D action is time- and generation-dependent. In parallel, FF worked on the therapeutic benefit of vitamin D when administered after a trauma. His team was the first to demonstrate that vitamin D improves myelination, axogenesis and functional recovery in rat models of sciatic or facial nerve injury (Chabas et al, 2013) and spinal cord trauma (Gueye et al, 2015). A pilot clinical trial based on vitamin D supplementation, delivered in paraplegic patients during the acute phase, is funded and should start in 2018.

François Féron has a record of productive and recognised research studies (H index = 42; total citations = 7,010) in the area of neurogenesis, neurodevelopment, stem cell metabolism, biomarker identification, cell therapy and vitamin D metabolism.

B. Positions and Honours

Current Professor, Aix-Marseille University

Team leader, NICN, CNRS UMR 7259

Manager of clinical trials in neural therapy (La
Conception Hospital, Marseille)

2002-2004

Research Fellow, Team leader, NICN, CNRS UMR 6184

1998-2002

Group leader, Queensland Centre for Schizophrenia Research (Brisbane, Australia)

Assistant Professor, Centre for Molecular Neurobiology,
Griffith University (Brisbane)

1996-1998

Research Fellow, Queensland Centre for Schizophrenia
Research (Brisbane, Australia)

Research Fellow, Centre for Molecular Neurobiology,
Griffith University (Brisbane, Australia)

Honours and Awards

Award from the Schizophrenia Fellowship of South
Queensland Inc. (1998)

Special award for Excellence in recognition of my commitment and achievements in the area of clinical neuroscience, Queensland Health (2002)

Four year award for scientific excellence, AMU (2010-2014)

Award for the PhD program in Neuroscience, AMU
Academy of Excellence (2013)

Award for the Brain Master Program, AMU Academy of Excellence (2014)

Four year award for scientific excellence, AMU (2014-2018)



Michelle Adams

*Bilkent Üniversitesi, Department of Psychology,
Ankara*

ACADEMIC DEGREES

Ph.D. Neurobiology – Mount Sinai School of Medicine –
New York University 2001

MS. Neurobiology – Mount Sinai School of Medicine –
New York University 1999

BA. Psychology – University of California, Davis 1990

EMPLOYMENT HISTORY

8/2013 – Present

Associate Professor and Director of the Interdisciplinary
Neuroscience Graduate Program

Bilkent University, Department of Psychology

8/2012 - 11/2013

Acting Chair

Bilkent University, Department of Psychology

9/2009 - 7/2013

Assistant Professor

Bilkent University, Department of Psychology

5/2006 - 9/2009

Research Assistant Professor

Wake Forest University School of Medicine,

Department of Neurobiology and Anatomy

6/2004 - 5/2006

Postdoctoral Fellow

Wake Forest University School of Medicine,

Department of Neurobiology and Anatomy

1/2004 - 6/2004

Adjunct Assistant Professor

Adjunct Assistant Professor
University of South Carolina, Spartanburg

Department of Biology

9/2001 - 1/2004

Postdoctoral Fellow Brown University/MIT

Department of Neuroscience

Department of Neuroscience
Howard Hughes Medical Institute

Howard Hughes
1/1991 - 8/1996

1/1991 - 8/1990
Research Assistant

National Institute of Mental Health - NIH

National Institute of Mental Health - NIH
Laboratories of Psychology and Psychopathology,
and Neuropsychology

Senescence and ageing in the zebrafish

Recently the zebrafish has become a popular model to study the biological changes in the aging brain and potential interventions to alter their course. Similar to other mammals, zebrafish exhibit advanced behavioral properties like spatial memory and social behaviors (Lieschke et al., 2007; Kishi et al., 2009) and they have an integrated nervous system that has been proposed to contain homologous structures (Wullman et al., 1996; Friedrich et al., 2010). Moreover, on average they live about three years and age gradually like mammals (Kishi et al., 2003) and one study demonstrated that aged zebrafish exhibit declines in spatial memory between 1 and 3 years (Yu et al., 2006). However, only a few studies have focused on the neurobiological consequences of aging in the zebrafish brain. Therefore, we examined the consequences of normal brain aging in the zebrafish (*Danio rerio*), and applied a short-term dietary restriction (DR) to determine if the course of these changes could be altered. Initially we examined how brain aging altered gene expression levels in young (7.5-8.5 months and old (31-36 months) male and female zebrafish (Arslan-Ergul and Adams, 2014). RNA was isolated from individual brains and subjected to microarray and qPCR analysis. Our results demonstrated that in the brains of young and old male and female zebrafish there were over 500 differentially expressed genes associated with multiple pathways but most notably were those related to neurogenesis and cell differentiation, as well as brain and nervous system development. Next we performed Western blot analysis of the key synaptic proteins: synaptophysin (SYP), a presynaptic vesicle protein, and postsynaptic density-95 (PSD-95) and gephrin (GEP), excitatory and inhibitory postsynaptic receptor-clustering proteins, respectively, in young, middle-aged, and old male and female zebrafish brains (Karoglu et al. 2017). Analyses demonstrated that PSD-95 significantly increased in aged females and SYP significantly decreased in males, but GEP was stable. Finally we applied a 10-week DR to young (8-8.5months) and old (26-32.5months) zebrafish as a model to investigate the effects of a short-term DR on actively proliferating cells (Arslan-Ergul et al. 2016). Our data demonstrated a significant loss of body weight in both groups with no effect on normal age-related changes in body growth. We found that age decreased cell proliferation and increased senescence associated β -galactosidase, as well as shortened telomere lengths. Whereas, DR shortened telomere lengths only in young animals. Thus, key synaptic proteins vary across age in a sexually dimorphic manner and these consequences may represent selective vulnerabilities for aged males and females. Additionally, our results suggest that the potential effects of DR could be mediated by telomere regulation. These data expand our knowledge of normal aging in zebrafish, as well as further establish this model as one for examining human brain aging.



Minoo Rassoulzadegan

*Institute of Biology Valrose, Université Nice Sophia
Antipolis, France*

A permanent CNRS scientist since 1980, I was trained on the manipulation of mouse embryos during a stay at the Cold Spring Harbor Laboratory (1984). Since that time, I worked on mouse genetics as a group leader, with the development of several tools to study early embryos, male germ cells development, differentiation and tumorigenesis. Observer and experimenter in Mouse genetics, through various approaches to dissect meiosis and germ cell differentiation, I have recently discovered and defined with my colleagues the modes of hereditary epigenetic variation known in other models systems as transvection (EMBO J. 2002, 21:440) and paramutation (Nature. 2006, Dev.Cell. 2008, Development 2009). The latter work led us to propose, with the description of the first phenotypic marker modified by paramutation in the mouse, a role of RNA in the heredity of the epigenetic regulation. Among other implications in fundamental research, our results may provide new models for a number of familial recurrence of diseases in human which are not explained by clear Mendelian determination consistent with the detection of RNA in human spermatozoa. Since 2013, I am also Scientist in Erciyes University of Kayseri in Turkey, with my colleagues in GenKok Institute, I am developing mouse models to study transmission of the acquired characters to the next generation. Our results reveal an unexpected mode of epigenetic inheritance and programming by the zygotic transfer of RNA molecules. We are now working on the definition of the molecular mechanisms underlying RNA-mediated heredity.

RNA-mediated heredity of autism spectrum disorder

Several instances of RNA-mediated heredity of phenotypic traits have been reported, among them complex behavioural alterations. A critical test has been the transgenerational induction of the phenotype by microinjection of the sperm RNA into naive fertilized mouse eggs¹⁻⁷. Initially developed in the study of murine paramutations, the microinjection assay was successfully applied to heritable psychiatric pathologies. We used the same approach to evaluate the possibility of a transgenerational control by RNAs of the autism spectrum disorder (ASD). We selected RNAs on several independent grounds as candidate inducers to be tested in microinjection assays. A first series of assays were conducted with small noncoding RNAs of the microRNA (miR) and their reverse. Although miRs were and still are primarily studied as regulators of mRNA translation, they were independently found to act as epigenetic regulators, interfering, either positively or negatively with the transcription of their target genes⁸. We first considered miR-19a as a candidate on the basis of a study conducted on a Turkish cohort of 37 families including either one or several children with autism (45 subjects altogether). Among 380 microRNAs tested, three of them, miR-19a, miR-361 and miR-499b, had been found down-regulated in a gender independent way in the sera of children with autism, of their parents, sisters and brothers. miR-19a was considered for the first series of microinjection assays because a search in silico for its possible targets⁹ had indicated no less than five putative mouse loci whose human homologs had been associated with ASD, *Pten*, *Slc6a4*, *Fmr1*, *Foxp2* and *CC2d1a*¹⁰. Also singled out by family analysis was miR-499b, which was retained. Beside individual microRNAs, we then tested by microinjection assays total sperm RNA of the father of two children from distinct mothers with autism and one control sperm RNAs. Progenies born from the microinjected eggs were analysed by open field maze, Morris water maze, recognition of a novel object, social interactions and elevated plus maze assays. Controls values were generated by testing in parallel the behaviour of (i) untreated mice randomly taken from the animal facility, (ii) mice born after microinjection of miR124, a modulator of embryonic growth with no suspected relationship to ASD³, (iii) male mice exposed to valproic acid at 14days, a known animal model of autism¹¹. Animals born from the three series of injected embryos (miR-19a-Reverse, miR-499b-Reverse, parental sperm) exhibited ASD-characteristic behaviors comparable to the valproic acid model. The prefrontal cortex, corpus callosum, striatum, hippocampus, amygdala and cerebellum, which are thought to be associated with autism pathophysiology in the brains of animals in all groups, have been studied with immunohistochemical stains. Astrocytes were found to be abnormally astrogliosis (and microgliosis, which is normally overgrown by microglia) in test group.



Onur Başak
Hubrecht Institute, Utrecht, NL

As a stem cell specialist, my research focuses on analyzing adult stem cell niches using Mouse genetics, organoid culture systems, single cell techniques and molecular biology. My ambition is to investigate the fundamentals of stem cell systems from a multidimensional perspective to contribute to the understanding of mammalian physiology, pathophysiology with potential use in regenerative medicine. Professional Experience

Guest researcher

1. 2017 – ongoing

“Quantitative analysis of the adult NSC niche”

Hubrecht Institute, Utrecht, the Netherlands

Supervisor: Prof. Hans Clevers

Postdoc

1. 2016 – 12. 2016, 06. 2010 – 12. 2014

“Cell cycle dynamics of in adult stem cell niches”

Hubrecht Institute, Utrecht, the Netherlands

Supervisor: Prof. Hans Clevers

Postdoc

1.2015 – 12.2015

“Quantitative analysis in engineered blastoids”

MERLN, Maastricht University, the Netherlands

Supervisors: Dr. Nicolas Rivron, Prof. Clemens van

Blitterswijk

Postdoc

12. 2008 - 05. 2010

"A proliferation specific role for Notch1 in adult neural stem cells"

Max-Planck Institute of Immunobiology, Freiburg, Germany.

Supervisor: Dr. Verdon Taylor

Education

Ph.D.

12. 2004 - 12. 2008

“Genetic analysis of neural stem cell heterogeneity”

Max-Planck Institute of Immunobiology, Freiburg, Germany

PhD research supervisor: Dr. Verdon Taylor

Diploma

Diploma
10. 2003 - 11. 2004

“Notch target Hes5 in embryonic neural stem cells”

Max-Planck Institute of Immunobiology, Freiburg, Germany.

Research and thesis supervisors: Dr. Verdon Taylor, Prof.

Rolf Kemler

Bachelor of Science

09. 1999 - 06. 2003

Molecular Biology and Genetics

Bilkent University, Ankara, Turkey

Graduated with honors

The use of organoid technology in stem cell research

Adult tissue stem cells reside in specialized ‘niche’ environment that support their maintenance and function. Organoids are 3D culture systems where stem cells can be expanded long-term while generating cell types and architecture typical to their tissue of origin. Initially developed for culturing Lgr5+ intestinal stem cells, this system is now adapted to a variety of human organs including the liver, colon, stomach, prostate, kidney, pancreas and lung. Further refinement of the protocols lead to generation of rare cell types, such as hormone secreting enteroendocrine cells and quiescent intestinal stem cells in culture. By culturing tumor stem cells, we generated a Biobank for cultured tumor epithelial stem cells for drug screens and fundamental biology studies. In fine examples of disease modeling, we have recapitulated multiple stages of the development of colorectal adenocarcinoma, and discovered functional treatment for patients with rare CFTR mutations. The latest contribution of organoids to medical research has been the study of host-pathogen interactions in a controlled, reductionist environment. The robustness, flexibility and long-term genetic stability of organoids open up venues for previously unfeasible clinical studies.



Yongsoo Park

Department of Molecular Biology and Genetics Koç
University Istanbul, Turkey

Professional Experiences

Dec. 2015 – current: Assistant Professor, Izmir
International Biomedicine and Genome Institute
(iBG-izmir), Dokuz Eylul University, Izmir, Turkey.

Aug. 2016: Visiting Professor, POSTECH (Pohang University of Science and Technology), Division of Integrative Biosciences and Biotechnology, South Korea.

June. 2009 – Dec. 2015: Postdoctoral Fellow, Max-Planck-Institute for Biophysical Chemistry, Department of Neurobiology, Goettingen, Germany (mentor: Prof. Dr. Reinhard Jahn). 2/6

Current funding

EMBO Installation Grant, European Molecular Biology Organization (EMBO),

Heidelberg, Germany (2016; 3 + 2 years under extension), Principal investigator.

Co-Funded Brain Circulation Scheme Fellowship,
(TUBITAK, Ankara, Turkey) and EU

7th Frame Work Marie Curie Actions (Brussels, Belgium) (2016), Principal investigator.

MicroRNA exocytosis by large dense-core vesicle fusion: microRNA can be a novel

By combining interdisciplinary techniques that include cell biological, biophysical, and biochemical tools, we aim to investigate the molecular mechanisms of vesicle fusion.

I will present two parts in the seminar. First of all, we have established synthetic neurotransmission that reconstitutes the vesicle fusion process using purified native vesicles, i.e., synaptic vesicles and large dense-core vesicles (LDCVs). I will show the complete reconstitution of vesicle fusion that reproduces in-vivo data. Synthetic neurotransmission allows us to directly explore the mechanisms of vesicle fusion.

In the second part, we are studying microRNA (miRNA) exocytosis. Although non-coding RNA (ncRNA) that include miRNA regulates gene expression inside the cell where they are transcribed, extracellular RNA has been recently discovered outside the neurons. Using next-generation RNA sequencing, vesicle purification techniques, and synthetic neurotransmission, we observed that LDCVs contain a variety of miRNAs including miR-375. miRNA exocytosis is mediated by the SNARE complex and accelerated by synaptotagmin-1, a Ca^{2+} sensor. Our results are opening the new field and concept that miRNA can be a novel neuromodulator, which is stored inside the vesicle and released together with classical neurotransmitters by vesicle fusion.



Bahadır Batar

*Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi
Biyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ*

Bahadır Batar, Namık Kemal Üniversitesi'nde Yardımcı Doçent Doktor ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı olarak görev yapmaktadır. 2013 yılında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda doktorasını tamamladı. TUBITAK ve Ohio State University Postdoctoral Pelotonia Fellowship Programı tarafından doktora sonrası burs ile ödüllendirildi ve Doktora sonrası araştırmalarını Ohio State Üniversitesi Kanser Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirdi. Doktora sonrası araştırmacı olarak, Dr. Kay Huebner'in araştırma grubunda çeşitli tip kanserlerin gelişiminde ve ilerlemesinde FHIT ve WWOX fragil genlerinin kayıplarının rolünün anlaşılması konulu projelerde çalıştı. 30'un üzerinde bilimsel yayını bulunmaktadır. Özellikle kanser gelişiminin genetik ve moleküler temeli konularında araştırmalar yapmaktadır. Son araştırması Wwox eksprese etmeyen meme kanseri hücrelerinde cisplatin direnç gelişimini arttıran mikroRNA profillerinin ve mikroRNA hedef genlerinin tanımlanması konusu kapsamında yürütülmektedir. Dr. Batar, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Derneği üyesidir.

Bahadır Batar is an assistant professor and Head of the Department of Medical Biology at the University of Namik Kemal. He received his Ph.D. in Medical Biology from Cerrahpasa School of Medicine in 2013. He was awarded a postdoctoral fellowship by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) and from the Ohio State University Postdoctoral Pelotonia Fellowship Program. He did his postdoctoral work at the Ohio State University Comprehensive Cancer Center. As a postdoctoral researcher, Dr. Batar worked on projects to understand the role of loss of the FHIT and WWOX fragile genes in initiation and progression of cancers of several types in Dr. Kay Huebner's research group. He has authored or co-authored over 30 peer-reviewed articles. His primary research interest is to investigate the genetic and molecular basis of cancer development. His recent research is focused on identifying the microRNA profiles and target genes of microRNAs promote to the development of cisplatin resistance in Wwox-deficient breast cancer cells. Dr. Batar is a member of the Medical Biology and Genetics Society.

Wwox eksikliği homoloji yönlendirilmiş onarımı yükselterek sağkalımı artırır

Amaç: WWOX geni yaygın kromozomal frajil bölge FRA16D içermektedir ve bazı model sistemlerde tümör baskılayıcı gen olduğu gösterilmiştir. Çeşitli insan kanserlerinde Wwox protein ekspresyon kaybı veya azalması görülmektedir. Amacımız, Wwox eksprese etmeyen hücrelerin DNA çift zincir kırıklarına karşı sağkalımını sağlayan mekanizmayı tanımlamaktır.

Materyal ve method: Wwox ekspresyonunun indüklenen DNA çift zincir kırıkları onarımındaki olası etkisini belirlemek için, Wwox eksprese eden ve Wwox eksprese etmeyen hücrelerde iyonize radyasyonun (IR) ve kemoterapötik ajanların etkisini araştırdık. Erken pasaj fare embriyonik fibroblastları (MEF) çeşitli IR dozlarına ve kemoterapötik ajan konsantrasyonlarına maruz bırakıldı ve hücre sağkalımını ve proliferasyonunu analiz etmek için koloni testi gerçekleştirildi. Wwox eksikliğine bağlı radyasyon direncinin altında yatan mekanizmanın aydınlatılması için, DNA onarım yoluyla spesifik rekombinant plazmid reporter testleri gerçekleştirildi.

Sonuçlar: KO3 ve KO5 knockout (KO) hücre hatlarında, yabancı tip (wt) hücre hatları WT4 ve WT7'ye göre 10 kat fazla sağkalım bulduk, 7.7 Gy ve daha yüksek dozlarda sağkalımda anlamlı bir fark gözlemledik ($P < 0.01$). ShWWOXA ve shWWOXB transform klonları (meme epitel hücre hatları, MCF10A) için sağkalım eğrileri, Wwox eksprese eden shScrambled ile transfekte edilmiş hücrelere kıyasla 7.7 Gy ve üstünde sağkalım oranının anlamlı olarak arttığını gösterdi ($P < 0.05$). Ayrıca, KO MEF'ler 1 μM ve daha yüksek konsantrasyonlarda 4 saatlik Mitomycin C (MMC) uygulamasında artmış sağkalım sergiledi ($P < 0.01$), bu hücrelerde MMC ve ABT-888 kombine uygulaması sonrasında daha fazla direnç belirlendi ($P < 0.001$). Ayrıca, Wwox ekspresyonunun non-homolog uç birleştirme (NHEJ) ve Alt-NHEJ onarımını arttırdığını, fakat Wwox eksprese etmeyen hücrelerdeki radyasyon direncinin artmış HDR onarımından kaynaklandığını bulduk.

Tartışma: Wwox eksprese etmeyen hücreler, DNA çift zincir kırıklarını indükleyen ajanlara sağkalımı artırır. Wwox eksikliği HDR etkinliğini yükseltir. Wwox eksikliği bulunan hücrelerdeki HDR yolağının seçici olarak inhibisyonu radyasyon direncini ortadan kaldırabilir ve radyasyona yeniden hassaslaştırabilir. HDR inhibitörlerinin radyasyonla birlikte Wwox eksikliği bulunan tümörlerin tedavisinde kullanılması önerilebilir.

Wwox-deficiency promotes increased survival by enhancing homology-directed repair



Banu Peynircioğlu
Hacettepe Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Ankara

1999 yılında, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü'nden mezun olan Dr. Banu Balci-Peynircioğlu, yüksek lisans (2001) ve doktora (2007) derecelerini Hacettepe Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji'den almıştır. Doktora tez çalışmalarını, Michigan Üniversitesi, Hücre ve Gelişimsel Biyoloji bölümünde tamamlayan Dr. Peynircioğlu burada özellikle genetik hastalıklarda, hücre temelli modellerin kullanılması ile işlevsel analizler üzerine yoğunlaşmıştır. 1999 yılından beri ailevi Akdeniz ateşi (AAA) hastalığı ve diğer otoinflamatuvar hastalıkları genetik epidemiyolojisi ve moleküler etyolojisi üzerine araştırmalarını sürdürmektedir. Dr. Peynircioğlu, Hacettepe Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda doçent olarak görev yapmaktadır.

Banu Balci- Peynircioglu received her BSc degree (1999) in Biological Sciences from Middle East Technical University, and MSc (2001) and Ph.D. (2007) degrees in Medical Biology from Hacettepe University. She has completed her PhD thesis studies in Department of Cell and Developmental Biology at the University of Michigan where she focused on cell-based models for functional studies of genetic disorders. She has been studying on genetic epidemiology and molecular etiology of familial Mediterranean fever (FMF) and other autoinflammatory disorders since 1999. Currently she works as an Associate Professor in Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Hacettepe University.

İnflamazom Bileşenleri ve Otoinflamatuvar Hastalıklar

İnflamasyon, patojenler gibi zararlı uyaranlara karşı vücudun verdiği kompleks biyolojik cevabın bir parçasıdır. İnflamatuvar süreçlerde hasarlı dokuda oluşan sinyaller ile inflamatuvar hücrelerin dokuya göçü özellikle önemlidir. İnflamatuvar hücrelerden hasarlı dokuya ilk olarak ulaşan hücre, nötrofiller olup daha sonra monositler bu süreçte katılmaktadır. Bu süreçte hücre göçü önemli bir yer tutmaktadır. Otoinflamatuvar hastalıklardan sorumlu olan genlerden sentezlenen proteinlerin bir kısmı inflamazom kompleksinin oluşumunda, sitokin salınımı, apoptozis, pyroptosis ve hücre göçü gibi süreçlerde işlev görmektedir.

Ailevi Akdeniz ateşi (AAA), Pýrin proteinini kodlayan MEFV genindeki mutasyonlar sonucu oluşan otoinflamatuvar bir hastalıktır. AAA patogenezinin sorumlu Pýrin proteininin işlevi halen tam olarak bilinmemekle beraber, ilişkide olduğu proteinler aracılığıyla inflamatuvar yollarda görev aldığı düşünülmektedir. Grubumuzun araştırmaları son yıllarda inflamazom açısından önemli bir protein olan ASC, onunla ilişkide olan özellikle Pýrin ve PSTPIP1 proteinlerinin hücre göçü üzerindeki etkisi üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalarda, pýrin proteinin hücre iskeleti proteinlerinden aktin ile de beraber olduğu ve nötrofil göçünü düzenlediği yönünde bulgular elde edilmiştir. Bu sonuçlar, Pýrin ve polimerize aktin arasında önemli bir bağlantıya işaret ederek, Pýrinin hücresel işlevine ışık tutmuştur.

Components of Inflammasome and Autoinflammatory Diseases

Inflammation is a defense mechanism of the body to harmful stimuli such as infection and injury. Migration of inflammatory cells to tissue following signaling is of particular importance in inflammatory processes. The first cell group to reach damaged tissue from inflammatory cells is neutrophils. Some of the proteins synthesized from genes responsible for autoinflammatory diseases function in processes such as formation of the inflammasome complex, cytokine release, apoptosis, pyroptosis and cell migration. Familial Mediterranean fever (FMF) is an autoinflammatory disease resulting in mutations in the MEFV gene encoding the Pyrin protein. Although the function of the Pyrin protein responsible for the pathogenesis of FMF is still not fully understood, it is thought to have been involved in inflammatory pathways through associated proteins. Our studies have focused on inflammasome related proteins such as ASC, Pyrin, PSTPIP1 and particularly their effects on cell migration in recent years. In these studies, we have found that the Pyrin protein is also associated with the cytoskeletal protein actin and regulates the neutrophil migration. These data demonstrated an important link between Pyrin and polymerizing actin and provide new insight into the cellular function of Pyrin.



Gizem Dönmez Yalçın

*Adnan Menderes Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ABD,
Aydın*

Mitokondriyel antioksidant aktivitenin MPTP ile oluşturulmuş Parkinson modeline karşı olan koruyucu etkisi

Parkinson hastalığı, nigrostriatal dopaminerjik nöronların ilerleyici bir şekilde kaybolduğu, sonuç olarak, vücut hareketlerinde yavaşlama, titreme gibi motor hareketlerde bozuklukları getiren bir sendromdur. Uzun ve yoğun araştırmalar sürmesine rağmen, hala hastalığın moleküler mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır. Ancak, mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stresin nörodejenerasyonda, nöronların ölümüne neden olduğu bilinmektedir. Birinci çalışmamızda, yalnızca mitokondride ifade edilen, nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺)-a bağlı histone ve protein deasetilaz SIRT5'in, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6- tetrahydropyridine (MPTP) verilerek elde edilen Parkinson fare modelinin patogeneze olan etkisini araştırdık (Liu et al. 2015a). SIRT5 knockout farede, MPTP verildiğinde, daha fazla dopaminerjik nöron dejenerasyonu ve motor disfonksiyonu oluşmuştur. SIRT5'in yokluğu, MPTP verilmesinden sonra, kontrol fareye göre, manganese superoxide dismutase (SOD2) (mitokondriye özgü antioksidant enzim), ekspresyonunda daha fazla düşüşe yol açmıştır. Bu sonuç da, SIRT5'in, MPTP'nin yol açtığı dejenerasyonu, mitokondrinin antioksidant kapasitesini artırarak düzelttiğini göstermektedir.

İkinci çalışmamızda, SIRT3'in homoloğu olan, mitokondri integritisini koruduğu bilinen ve mitokondriye özgü olan SIRT3'nin (protein ve histon deasetilaz), MPTP modeline etkisini araştırdık (Liu et al.2015b). SIRT3 yokluğunda da, MPTP'nin yol açtığı dejenerasyonu ve motor disfonksiyonları arttırdı. SOD2 ve mitokondriyel antioksidant enzim olan glutathione peroxidase ifadeleri, MPTP indüksiyonundan sonra, SIRT3 yokluğunda azaldı. Bu sonuçlar gösteriyor ki, SIRT3'un MPTP'nin yol açtığı nörodejenerasyonda oksidatif radikalleri yakalama kapasitesini arttırma gibi koruyucu bir rolü olabilir.

The protective effect of mitochondrial antioxidant activity against Parkinson model induced by MPTP

Parkinson's disease (PD) is a syndrome, which is characterized by progressive degeneration of nigrostriatal dopaminergic neurons resulting in motor deficits including resting tremor, rigidity, bradykinesia, and postural instability. Despite intensive studies, the underlying molecular mechanisms are not fully understood. It has been shown before that mitochondrial dysfunction and oxidative stress contribute to neuronal death, which is the key feature of neurodegeneration. In our first study, we investigated the effect of SIRT5 (nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺)-dependent mitochondrial histone and protein deacetylase) on the pathogenesis of PD mouse model induced by 1-methyl-4-



ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



phenyl-1,2,3,6- tetrahydropyridine (MPTP) (Liu et al. 2015a). Increased dopaminergic neuron degeneration and motor dysfunction occurred in SIRT5 knockout mice compared to control after MPTP was administered. In addition, the absence of SIRT5 led to a severe decrease in the expression of superoxide dismutase (SOD2-mitochondrial antioxidant enzyme) in these mice. This result shows that SIRT5 might ameliorate the degeneration caused by MPTP via increasing the mitochondrial antioxidant capacity.

Secondly, we investigated the effect of SIRT3, another deacetylase known to protect the mitochondrial integrity, on MPTP model (Liu et al.2015b). The absence of SIRT3 also increased the degeneration and motor dysfunction caused by MPTP. The expressions of SOD2 and glutathione peroxidase (a mitochondrial antioxidant enzyme) were decreased in the absence of SIRT3 after MPTP induction. These results show that SIRT3 has a possible role in MPTP-induced neurodegeneration via preserving free radical scavenging capacity in mitochondria.



Gülşah Çeçener

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Bursa

09.11.1973 tarihinde Bursa'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Atatürk İlkokulu ve Bursa Kız Lisesi'nde tamamladım. 1991-1992 eğitim-öğretim yılında Uludağ Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümüne girmeye hak kazandım. Aynı fakülteden 1995 Haziran döneminde mezun oldum. Şubat 1996'da Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimime başladım. " Meme Kanseri Hastaları ve Ailelerinin Genetik Yatkınlığının Araştırılması" adlı Yüksek Lisans tezinde ileri bir sitogenetik test ile Fajal Bölge Ekspresyonunu değerlendirerek, Yüksek lisans tezimi 7 Ocak 1999'da tamamladım. Yine Şubat döneminde, aynı Enstitüde Moleküler Biyoloji ABD'nde doktora öğrenimime başladım. 12.01.2001'de Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ABD'na yatay geçiş yaptım. "Benign ve Malign Meme hastalarına ait meme dokularında FHIT gen mutasyonlarının araştırılması" konulu doktora tezimi 26.05.2005 tarihinde tamamladım.01.01.2006-08.09.2006 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde, 08.09.2006-30.12.2006 tarihleri arasında ise U.Ü. Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Uzman olarak görev yaptım. Kanser Genetiği konusundaki çalışmalarımı 01.01.2007-05.11.2009 tarihleri arasında gönüllü olarak aynı Anabilim Dalında sürdürdüm. 05.11.2009 tarihinde Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'na Yardımcı Doçent olarak atandım. 27 Nisan 2010 tarihinde Sağlık Bilimleri-Tıbbi Biyoloji Temel Alanında Doçentlik Sınavını başarıyla Doçent ünvanı aldım. Halen Doçent kadrosunda görev yapmaktayım. "Cell Proliferation, Cancer Investigation, Cancer Therapy, Mutation Research, Tumor Biology ve Cellular and Molecular Neurobiology" adlı dergilerde hakemliklerim mevcuttur. 14 Haziran-14 Ağustos 2010 tarihleri arasında Amerika Birleşik Devletleri'nin "Ohio State Üniversitesi Department of Molecular Viroloji, Immunology and Medical Genetics" bölümünde Prof. Dr. Carlo Croce ve Prof. Dr. Kay Huebner ile "miRNA'lar ve kanser" konusunda çalıştım. Uludağ Üniversitesi Araştırma Fonu, TÜBİTAK ve DPT projelerinde yürütücü ve araştırmacı olarak görev yapmaktayım. TÜBİTAK tarafından düzenlenen TIBBİ/Moleküler Biyoloji ve Genetik alanındaki Sağlık Bilimleri Araştırma Grubu (SBAG)'nda Panelist olarak görev yaptım. Halen Kanser Genetiği, Genotoksikoloji ve Moleküler Genetik konularındaki çalışmalarımı sürdürmekteyim. Yabancı dilim İngilizcedir. Evli ve ikiz çocuk annesiyim.

miRNA ve Kanser

İlk olarak *Caenorhabditis elegans*'ta keşfedilen mikroRNA (miRNA)'lar, insanlar da dahil olmak üzere birçok ökaryotta bulunmaktadır. miRNA'lar, post-transkripsiyonel olarak gen ekspresyonunu değiştirebilen küçük (18-21 nükleotidli), kodlama yapamayan RNA'lardır. miRNA'ların insan genomunun %1-5'ini oluşturduğu ve protein kodlayan genlerin en az %30'unu regüle ettiği tahmin edilmektedir. Bugüne kadar, insan genomu dahilinde ~2588 olgun miRNA dizisi halinde işlenen toplam 1881 açıklanmış insan miRNA prekürsör geni bulunmaktadır. miRNA moleküllerinin spesifik hedefleri ve biyolojik fonksiyonları hakkındaki çalışmalar değerlendirildiğinde, miRNA'nın çeşitli hücre ve metabolik yolları kontrol eden gen ekspresyonunun regülasyonunda önemli bir rol oynadığı açıktır. Keşfedildikleri süreden bu yana, miRNA'ların türler arasında oldukça korunmuş olduğu ve gen ifadesinin düzenlenmesinde evrensel bir role sahip oldukları ortaya konulmuştur.

miRNA'ların tümör gelişiminde rol oynayan proliferasyon, hücre ölümü ve genomik stabilite de dahil olmak üzere çoklu biyolojik süreçleri düzenledikleri bilinmektedir. Tüm protein kodlayıcı genlerin %60'ından fazlası, kendi 3'UTR bölgelerinde korunmuş miRNA bağlanma bölgelerine sahiptir. Bu durum kendilerini hedef alan miRNA'lar tarafından kontrol edilme olasılığını vermektedir. Tanımlanmış miRNA'ların biyolojik işlevlerinin tümü hakkındaki bilgilerimiz hala yetersiz olsa da, bu moleküllerin ekspresyon profillerinin incelenmesi, regülasyonları ve işlevleri hakkında bilgi vermektedir. Bu konudaki araştırmalar, miRNA ekspresyon profillerinin spesifik tümörlerde değiştiğini göstermiştir. Bu da, miRNA'ların kanser ve diğer hastalıkların gelişiminde rolü olabileceği yönünde ipuçları vermektedir. Bu moleküllere dair sahip olunan sınırlı bilgilere rağmen, temel ekspresyon profillemesi ile söz konusu moleküllerin klinik açıdan kanser tanısı ve progresyonu ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır.

miRNA'ların kanserde rol aldığı ilk kez 2002 yılında gösterildi. Calin ve ark. (2002) lösemi hastalarında sıklıkla kaybolan bir bölgede miR-15a ve miR-16-1 bulunduğunu ve her iki miRNA'nın da tüm kronik lenfositik lösemi hastalarının neredeyse %70'inde silindiğini veya önemli derecede down-regüle olduğunu keşfetti. İlk keşfinden bu yana kanser ile ilişkili miRNA'lar; onkogenik miRNA'lar veya tümör baskılayıcı miRNA'lar olarak sınıflandırıldı. Daha sonraki yıllarda bu miRNA'ların genellikle kanserle ilişkili gen bölgelerini hedeflediği gösterildi. oncomiR'ler kanserde sıklıkla up-regüle edilirken tümör baskılayıcı genleri hedefler ve kanserli hücre gelişimini teşvik ederler. Tümör baskılayıcı miRNA'lar ise genellikle kanserde down-regüle edilmelerinin yanı sıra degradasyon için onkogenleri hedef alırlar ve bir anti-tümör fonksiyonuna sahip olurlar. Bu nedenle, oncomiR'lerin inhibisyonu veya tümör baskılayıcı



ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



The American Cancer Research Association, by 2017, summarizes why we need to investigate the cancer genome in the following headings;

1. Early molecular diagnosis in premalign lesions
2. Understanding the clonal background and heterogeneity
3. Understanding the molecular evolution of the cancer
4. Development of targeted therapeutics for targeted molecules
5. Understand the side effects and the resistance mechanisms of therapeutics.

With the sequencing of the cancer genome, different mechanisms that play a role in the development of cancer have been uncovered and new terms have started to be used in the field of cancer genetics. Cancer genome sequencing has provided new information on the identification of new driver / passenger mutations in specific cancer tissues, identification of somatic hypermutation regions (kataegis), chromotripsis, repetition of metastasis / disease, evolution and clonality, and new molecular classifications have gained clinical importance. The identification of variants in responsible genes from familial cancers (10% of all cancers) is accelerated by a new generation of targeted crawling panels and is used routinely.



Nedime Serakinci

*Yakın Doğu Üniversitesi Tıbbi Genetik ABD, Lefkoşa,
KKTC*

Prof. Dr. Nedime Serakıncı, Yakın Doğu Üniversitesi
Centre of Excellence Başkanı, Genetik ve Kanser Tanı-
Araştırma Merkezi Başkanı, Tıp Fakültesi- Tıbbi Genetik
Anabilim Dalı Başkanı, Fen-Edebiyat Fakültesi- Moleküler
Biyoloji ve Genetik Bölümü Başkanı, Kuzey Kıbrıs

Prof. Dr. Nedime Serakıncı 1970 yılında Lefkoşa’da doğdu. Lisans eğitimini 1992 yılında İstanbul Üniversitesi’nde biyoloji alanında tamamladı. 1993 yılında İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimi aldı ve Tıp Fakültesine özel öğrenci statüsünde devam etti. İlk doktora eğitimini Marmara Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümünde tamamladı. Telomer- telomeraz biyolojisi, kanser ve kök hücre biyolojisi alanlarında yaptığı araştırmalarla, çeşitli projeler için destek olarak Aarhus Üniversitesi, İnsan Genetiği Enstitüsü’nde “Kök Hücre ve Genetik Tedavi” araştırma programını kurdu.

Tıbbi Genetiğin yanı sıra Prof. Serakıncın mezenkimal kök hücre biyolojisi, kanser ve telomer/telomerase biyolojisi alanlarında çalışmaktadır. 2003'te Tıbbi Genetik alanında ve 2007 yılında diğer bir ilgi alanı olan yaşlanma ve kök hücre genetiği alanında doçentlik aldı. 2011 yılında Tıbbi Genetik ve Kök Hücre Genetiği alanında profesörlüğünü aldı. Prof. Dr. Serakıncı'nın araştırma uzmanlığı, telomerase-immortalized mezenkimal kök hücreler, ve bunların gen terapisindeki kullanımı ve ilaç araştırması için doku modeli geliştirilmesi üzerinedir.

Prof. Dr. Serakıncı'nın araştırma programı, yetişkin mezenkimal kök hücrelerin moleküler, hücresel ve gelişimsel biyolojisi üzerine odaklanmıştır. Programın temel amacı kök hücrelerin kendi kendini yenileme ve farklılaşma sürecinin altında yatan mekanizmaların anlaşılması için gerekli stratejik ve teknik yaklaşımların geliştirilmesidir. Nihai amaç ise hastalık ve yaralanmaların tedavisinde kullanılacak hücre ve gen bazı terapilerin uygulanması için gerçekçi ve bilimsel bir temel oluşturmaktır.

Mezenkimal kök hücre modellemesiyle kanserde gen terapi: Genetik Terapi

Gen terapinin kemoterapiye oranla artı yönleri olsa da limistasyonları da vardır. Klinik öncesi tümör spesifik ekspresyon ve gelişmiş hedeflendirmede ilerleme kaydedilmesine rağmen, klinikteki başarı oranı halen kısıtlıdır. Spesifik olmayan gen ekspresyonu, teslimdeki verimsizlik ve biogüvenlik klinikte karşılaşılan zorluklardan bazılarıdır. Bundan dolayı mezenkim kök hücreleri terapiyi yapacak geni tümöre taşıyan araçlar olarak kullanma fikri, yani genetik terapi ciddi dikkat çekti.

Geçmiş birkaç yılda, hücre bazlı ve gen bazlı terapilerde MSC kullanımı ivme kazandı. Tümör tropizmi ile birlikte, MSC'lerin tümör stromasına entegre olup orada kalmaları gösterildi. Bu entegrasyon MSC'lerin, sistemik verilmesi yarı ömürleri kısa olmasından ve toksisite riskinden dolayı tercih edilmeyen birçok biyolojik ajan için taşıyıcı araç olarak kullanılmasını destekledi. Fakat hMSC'lerim kısıtlı ömürleri, sürekli yamanma potansiyellerini ve uzun dönem terapötik etkilerini kısıtlamaktadır.

hMSC'lerin tümör selektif gen terapi vektörlerini teslim etme ve tümör stromada spesifik noktaları hedefleme becerilerini ortaya çıkarmak için, NTR ölüm geni (pd2ntr-CMV) taşıyan bir vektör ile istikrarlı transfekte edilmiş ve telomeraz-ölümsüzleştirilmiş-hMSC (hMSC-telo 1) enjekte edilmiş fareler analiz edildi. Telomeraz ters transkriptaz (hTERT) ile ölümsüzleştirilmiş insan mezenkim kök hücreleri için hücre boyları geliştirdik. Telomerazla ölümsüzleştirilmiş, kemik iliği kaynaklı hMSC'leri tümör noktasına tercihen yamanıyorlar mı ve tümöre lokal biyolojik ajanların teslimi için uygun olup olmadıklarını araştırdık.

Sonuçlarımız, hMSC'lerin yuvalanma potansiyellerini ve tümör boyutundaki küçülmeyi gösterdi. Ayrıca, ekzojenus verilen hMSC'lerin tümör noktasında yuvalandığı, yamandığı, çoğaldığı ve stromal fibroblast popülasyonuna katkıda bulunduğu gösterildi.

Araştırma için hMSC'ler %40 siRNA TRF2 ile knock out edildi ve sonra IR ye maruz bırakıldı. Bu çalışmanın sonuçları kontrollü baskınlanmış (knock out) TRF2 nin hMSC radyosensitivitesini 1.5-2 kat artırdığını göstermiştir. Bu sonuçlar ışığında kanserde radyoterapinin verimliliğini artırmak için değerli bilgiler edinilmiştir.

MSC'ler tümör ilerlemesine katkıda bulunabilecekleri için hMSC'lerin farmakolojik ajanı hedef noktaya teslim etmesinden sonra, hedef noktada hMSC'lerin yıkılması diğer bir tartışılması gereken konudur. Öncel bir çalışma olarak, yukarıda bahsedilen hücreler daha önceki yayınlarda bitki esansiyel yağlarının farklı hücre boylarında sitotoksik etkileri gösterildiğinden artan konsantrasyonlarda (0.5% (v/v), 1% (v/v), 2% (v/v))



*Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya ABD,
İzmir*

Kanserde ER stres, metabolik adaptasyon ve ER- aracılı protein yıkımı

Proteostaz, proteinlerin miktarını, konformasyonunu ve lokasyonunu regüle ederek hücrenin çeşitli koşullara adaptasyonunu sağlamaktadır. Kanser hücrelerinde gözlenen artmış protein ve membran sentezi Endoplazmik Retikulum (ER)'a aşırı iş yüklenmesine neden olmaktadır. Ayrıca tümör hücrelerinde gözlenen hipoksi besin yoksunluğu, asidoz ve oksidatif stres durumları ER fonksiyonunda bozulmalara neden olmaktadır. Proteostaz, transkripsiyonal ve translasyonel değişiklikler ile tümör hücrelerinin fizyolojilerinin adaptasyonunu sağlamaktadır. ER homeostazının düzeltilmesi için Katlanmamış Protein Yanıtı (Unfolded Protein Response, UPR) hücre transformasyonu, metastatik potansiyeli, hücre dormansi ve anjiyojenezi etkileyecek şekilde kanser gen ifadesini yeniden modellemektedir. UPR'nin aktivasyonu antioksidan kapasiteyi arttırmakta, global protein sentezini duraklatmakta, protein katlanmasında ve ER-aracılı yıkım yolağında (ER-associated degradation, ERAD) görevli proteinlerin ifadelerini arttırmaktadır. Eğer stres hala giderilemez ise apoptoz tetiklenmektedir. Bu nedenle kanserde ER proteostazını hedefleyen güncel terapötik stratejiler ya hücrenin baş edemeyeceği kadar ER stresini artırarak öldürmeye ya da tümör hücresine doğal avantaj sağlayan adaptif kapasiteyi azaltarak hücre ölümünü sağlamaya odaklanmaktadır. Yeni yapılan çalışmalar çeşitli kanser türlerinde UPR ve ERAD inhibitörlerinin faydalı etkileri olduğunu önermektedir. Laboratuvarımızda, ERAD'ın androjen aracılı regülasyonunu karakterize ederek ERAD'ın prostat tümörüne ile pozitif olarak korele olduğunu rapor ettik. Prostat kanserinde çeşitli ERAD inhibitörlerinin potansiyel aktivitesini incelediğimiz çalışmalar ile birlikte tüm verilerimiz ERAD'ın prostat kanser önleme ve/veya tedavisinde hedef alınabilecek bir mekanizma olduğunu önermektedir.

ER stress, metabolic adaptation and ER-associated degradation in cancer

Proteostasis provides the adaptation of the cell towards various conditions by regulating the amount of protein, conformation and location. Increased protein and membrane synthesis observed in cancer cells cause overloading of the Endoplasmic Reticulum (ER). Furthermore, tumors experience hypoxia, nutrient deprivation, acidosis and oxidative stress compromising ER function. Proteostasis enables tumor cells to adapt their physiology via transcriptional and translational changes. To restore ER homeostasis Unfolded Protein Response (UPR) remodels cancer gene expression affecting cell transformation, metastatic potential, cell dormancy and angiogenesis. Activation of UPR increases antioxidant capacities, pausing the global translation, enhancing the expression of proteins required in protein folding and ER-associated degradation (ERAD). If the



Sezgin Güneş

*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ABD,
Samsun*

Dr. Sezgin Güneş, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesidir. Moleküler biyoloji ve genetik dersleri eğitimi vermekte ve yüksek lisans ile doktora öğrencilerine danışmanlık yapmaktadır. Kırk beşin üzerinde hakemli dergilerde yayınları ve uluslararası kitapevlerince basılan kitaplarda yazarlığı bulunmaktadır. Güncel araştırma alanı erkek infertilitesinde gözlenen epigenetik ve gen ifadesindeki değişikliklerdir.

Dr. Sezgin Gunes is an Associate Professor of Medical Biology at Ondokuz Mayıs University, Turkey. She teaches molecular biology and genetics courses and directs a number of MSc and PhD graduate students. She has over 45 peer reviewed articles and book chapters in international academic books and her current research is on epigenetics and gene expression alternations in male infertility.

Erkek İnfertilitesi ve Epigenetik

Erkek infertilitesi, çok sayıda genetik ve çevresel etkenden kaynaklanan heterojen ve multifaktöriyel kalıtmımlı bir bozukluktur. Hastalığın patofizyolojisini aydınlatmaya yönelik çalışmalar yapıldıysa da infertilite olgularının yaklaşık olarak %30'unun altında yatan mekanizmalar hala açıklanamamaktadır. Güncel çalışmalar, epigenetik modifikasyonlar ve idiyopatik erkek infertilitesi arasında bir ilişkinin olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda, epigenetik erkek infertilitesini anlamada ümit vadeden bir araştırma alanı olarak belirdi. Birçok çalışma, spermatozoada imprintinge uğrayan bölgeler ve gelişimsel genlerde DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kodlamayan RNA'ların idiyopatik erkek rolü olduğunu göstermektedir. Bu konuşmada, spermatogenezdeki epigenetik düzenlenmeler ve erkek infertilitesindeki çalışmalar tartışılacaktır.

Male Infertile and Epigenetics

Male infertility is a complex and heterogeneous disorder with multiple genetic and environmental factors. Despite many considerable efforts to identify the pathophysiology of the disease, the underlying mechanisms of approximately 30% of the infertility cases still cannot be explained. Recent data have shown an association between epigenetic modifications and idiopathic infertility. In this regard, epigenetics has emerged as one of the promising research areas in understanding male infertility. Many studies have indicated that epigenetic modifications, including DNA methylation in imprinted and developmental genes, histone tail modifications and short non-coding RNAs in spermatozoa have a role in idiopathic male infertility. This talk will review current data on epigenetic regulations of spermatogenesis and idiopathic male infertility.

**GENÇ ARAŞTIRMACI
SUNUMLARI**
*YOUNG RESEARCHER
PRESENTATIONS*



ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



Can Küçük

Dokuz Eylül Üniversitesi İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü (iBG-izmir) ve Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ab. Dal

Yrd. Doç. Dr. Can Küçük, 2005 yılında **Orta Doğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ) Moleküler Biyoloji ve Genetik** bölümünden lisans derecesini almıştır. Daha sonra **Nebraska Üniversitesi Tıp Merkezi'ne** bağlı **Eppley Kanseri Araştırma Enstitüsü'nde** 2012 yılında **Kanser Biyolojisi ve Onkoloji** üzerine, doktora öğrenimini tamamlamıştır. 2012-2013 yılları arasında aynı üniversitenin Patoloji ve Mikrobiyoloji bölümünde, **NK ve T hücre lenfomalarının patobiyolojisi** üzerine bilimsel araştırmalarına doktora sonrası araştırmacı olarak devam etmiştir. 2013-2014 yılları arasında ABD'nin Kaliforniya eyaletindeki **City of Hope Tıp Merkezi** Patoloji bölümünde çalışmalarını sürdürmüştür. Daha sonra TÜBİTAK BİDEB 2232 geri dönüş bursu almaya hak kazanmış ve doktora sonrası bursiyer olarak **İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü (iBG-izmir)**'nde çalışmaya başlamıştır. **Nisan 2015** tarihinden itibaren **Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik** Anabilim Dalında ve iBG-izmir'de **yardımcı doçent** olarak araştırma ve eğitim faaliyetlerine devam etmektedir.

Dr. Küçük, çalışmalarında genel olarak, **lenfoid kanserler** ve nadir hastalıkların etiyolojisiyle ilişkili mutasyonların ve epigenetik bozuklukların keşfi ve karakterizasyonu üzerine **işlevsel genomik** araştırmalar yapmaktadır. Çalışmalarında özgün tanı ve tahmin biyobelirteçleri yanı sıra terapötik hedeflerin keşfi üzerine de odaklanmaktadır. Genel olarak Dr.Küçük'ün çalışmaları **patoloji, işlevsel genomik ve hesaplamalı biyoinformatik** gibi birbiriyle ilişkili disiplinlerin eşgüdümünü gerektirmektedir. Bu çalışmalarda temel hedef, kanser hastalarına özel genetik/epigenetik bozuklukların belirlenip; bu keşiflerin **kişiselleştirilmiş tıp** uygulamalarına geçişine katkı koyulmasıdır.

Lenfoma patobiyolojisi üzerine bazı önemli katkıları bulunan Dr. Küçük, **Ekim 2013** tarihinde **Amerika Hematoloji Topluluğu Çalışma Özeti Başarı Ödülü'nü** kazanmıştır. **Nisan 2015** tarihinde **Bilim Akademisi Genç Bilim İnsanı Ödül'üne** (BAGEP) layık görülmüştür. Foliküler

lenfoma ve multiple myeloma üzerine halen yürütücüsü olduğu üç ulusal proje desteği bulunan Dr. Küçük, BMC Genomics, Tumor Biology, Plos One gibi uluslararası degilerde araştırma makalesi hakemlikleri yapmakta olup, **PeerJ** adlı uluslararası bilimsel derginin 2017 yılı itibarıyla **akademik editörlüğü** görevini gerçekleştirmektedir.

Yayınlar

2017

1) Baytak E, Gong Q, Akman B, Yuan H, Chan W.C., **Küçük C#**. "Whole transcriptome analysis reveals dysregulated oncogenic lncRNAs in natural/killer T-cell lymphoma and

establishes MIR155HG as a target of PRDM1." **Tumor Biology** 2017 Apr;39(5):1010428317701648.

2) Hu X, Baytak E, Li J, Akman B, Okay K, Hu G, Scuto A, Zhang W#, **Küçük C#**. "The relationship of REL proto-oncogene to pathobiology and chemoresistance in follicular and transformed follicular lymphoma." **Leukemia Research** 2017 Mar 31;54:30-8.

2016

3) **Küçük C**, Chan WC. "Selective expression of KIR2DL4 for improved diagnosis and as a potential therapeutic target in natural killer/T cell lymphomas: Beyond the Abstract", **OncToday.com**, 2016 Oct 3; 23985.

4) **Küçük C#**, Hu X, Gong Q, Jiang B, Cornish A, Gaulard P, McKeithan T, Chan WC#. "Diagnostic and Biological Significance of KIR Expression Profile Determined by RNA-Seq in Natural Killer/T-Cell Lymphoma." **Am. J Pathol.** 2016 186(6), 1435-1441.

5) Gao LM, Zhao S, Liu WP, Zhang WY, Li GD, **Küçük C**, Hu XZ, Chan WC, Tang Y, Ding WS, Yan JQ, Yao WQ, Wang JC. "Clinicopathologic Characterization of Aggressive Natural Killer Cell Leukemia Involving Different Tissue Sites" **Am J Surg Pathol.** 40.6 (2016): 836-846.

2015

6) Xiaozhou Hu, Wing C.Chan, **Can Küçük#**. Generation of a genetically engineered aggressive NK-cell leukemia cell line with stable IL2 expression. **Acta medica international**, 2015 July-Dec; 2(2):78-84.

7) **Can Küçük#**, Xiaozhou Hu, Timothy McKeithan, and Wing C. Chan. "Lack of Evidence that HACE1 Is Not a Tumor Suppressor Gene in NKCL: To the Editor-in-Chief." **Am. J Pathol.** 2015. 185, no. 4: 1167-1168.

8) **C Küçük***, X Hu*, B Jiang, D Klinkebiel, H Geng, A Bouska, J Iqbal, P Gaulard, TW. McKeithan, and WC. Chan. "Global promoter methylation analysis reveals novel candidate tumor suppressor genes in natural killer cell lymphoma." **Clin. Cancer Res.** 21(7):1699-711 2015.

9) **C Küçük***, B Jiang*, X Hu, W Zhang, JK.C. Chan, W Xiao, N Lack, C Alkan, JC. Williams, KN. Avery, P Kavak, A Scuto, E Sen, P Gaulard, L Staudt, J Iqbal, W Zhang, A Cornish, Q Gong, Q Yang, H Sun, F d'Amore, S Leppä, W Liu, K Fu, L de Leval, T McKeithan, WC.

Chan. "Activating mutations of STAT5B and STAT3 in lymphomas derived from $\gamma\delta$ -T or NK cells." **Nature Communications.** 2015 Jan 14; 6:6025.

2014

10) A Bouska, T W McKeithan, KE Deffenbacher, C Lachel, GW Wright, J Iqbal, LM Smith, W Zhang, **C Kucuk**, A Rinaldi, F Bertoni, J Fitzgibbon, K Fu, DD Weisenburger, TC Greiner, BJ Dave, RD Gascoyne, A Rosenwald, E Campo, LM Rimsza, J Delabie, ES Jaffe, RM Braziel, J Connors, LM Staudt, and WC Chan. "Genome-wide copy number analyses reveal genomic abnormalities involved in transformation of follicular lymphoma." **Blood** 2014 Mar 13;123(11):1681-90.

2013

11) AM. Perry, RA. Warnke, Q Hu, P Gaulard, C Copie-Bergman, S Alkan, HY Wang, JX. Cheng, CM. Bacon, J Delabie, E Ranheim, **C Kucuk**, X Hu, DD. Weisenburger, ES. Jaffe, WC. Chan. "Indolent T-cell lymphoproliferative disease of the gastrointestinal tract." **Blood** 2013 Nov 21;122(22): 3599-606.

12) Liu C, Iqbal J, Teruya-Feldstein J, Shen Y, Dabrowska MJ, Dybkaer K, Lim MS, Piva R, Barreca A, Pellegrino E, Spaccarotella E, Lachel CM, **Kucuk C**, Jiang CS, Hu X, Bhagvati S, Greiner TC, Weisenburger DD, Aoun P, Perkins SL, McKeithan TW, Inghirami G, Chan WC. "MicroRNA expression profiling identifies molecular signatures associated with anaplastic large cell lymphoma." **Blood** 2013 Sep 19;122(12):2083-92.

13) Kūçik C*, Hu X*, Iqbal J, Gaulard P, Klinkebiel D, Cornish A, Dave BJ, Chan WC. "HACE1 is a Tumor Suppressor Gene Candidate in Natural Killer Cell Neoplasms." **Am. J Pathol.** 2013 182(1):49-55.

2012

14) RA Cairns*, J Iqbal*, F Lemonnier*, **C Kucuk**, L de Leval, JP Jais, M Parrens, A Martin, L Xerri, P Brousset, LC Chan, WC Chan, P Gaulard, and Tak W Mak. "IDH2 mutations are frequent in angioimmunoblastic T-cell lymphoma." **Blood**. 2012 Feb 23; 119(8):1901-3.

2011

15) **Küçük C**, Iqbal J, Hu X, Gaulard P, De Leval L, Srivastava G, Au WY, McKeithan TW, Chan WC. "PRDM1 is a Tumor Suppressor Gene in Natural Killer Cell Malignancies." **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2011 Dec 13;108 (50):20119-24.

16) Iqbal J, Weisenburger DD, Chowdhury A, Tsai MY, Srivastava G, Greiner TC, **Kucuk C**, Deffenbacher K, Vose J, Smith L, Au WY, Nakamura S, Seto M, Delabie J, Berger F, Loong F, Ko YH, Sng I, Liu X, Loughran TP, Armitage J, Chan WC. "Natural killer cell lymphoma shares strikingly similar molecular features with a group of non-hepatosplenic $\gamma\delta$ T-cell lymphoma and is highly sensitive to a novel aurora kinase A inhibitor in vitro." **Leukemia** 2011 Feb 1;25(2):348-58.

2010

17) Martha E. Bickford, Arkadiusz Slusarczyk, Emil K. Dilger, Thomas E. Krahe, **Can Kucuk**, and William Guido. "Synaptic Development of the Mouse Dorsal Geniculate Nucleus." **J. Comp Neurol.** 2010 Mar 1; 518 (5):622-35.

18) Iqbal J, Weisenburger DD, Greiner TC, Vose JM, McKeithan T, **Kucuk C**, Geng H, Deffenbacher K, Smith L, Dybkaer K, Nakamura S, Seto M, Delabie J, Berger F, Loong F, Au WY, Ko YH, Sng I, Armitage JO, Chan WC. "Molecular signatures to improve diagnosis in peripheral T-cell lymphoma and prognostication in angioimmunoblastic T-cell lymphoma." **Blood**. 2010 Feb 4;115(5):1026-36.

2009 ve öncesi

19) Iqbal J*, **Kucuc C***, Srivastava G, Tam W, Geng H, Klinkebiel D, Christman JK, Patel K, Cao K, Shen L, Dybkaer K. Genomic analyses reveal global functional alterations that promote tumor growth and novel tumor suppressor genes in natural killer-cell malignancies. **Leukemia**. 2009 Jun 1;23(6):1139-51.

20) Javeed Iqbal, Shantaram Joshi, Kavita N Patel, Sofi I Javed, **Can Kucuk**, Afeera Aabida, Francesco d'Amore, Kai Fu. 'Clinical implication of genome-wide profiling in diffuse large B-cell lymphoma and other subtypes of B-cell lymphoma.' **IJC** 2007 Apr-Jun;44(2):72-86.

#: Sorumlu yazar (*ing. corresponding author*). *: Eşit katkı (*ing. Co-First author*).

Sunum başlığı: Doğal öldürücü/T hücre lenfomalarında tüm transkriptom analizi sonucu disregüle olan kanser ilişkili uzun kodlamayan RNA'ların ve ilişkili oldukları sinyal yollarının belirlenmesi

Sunum özeti: 250 kelime ile sınırlıdır. Özetle ilgili konunun seçilme nedeni ve konuya yönelik genel bilgi güncel literatür eşliğinde kısaca verilmeli, sunulması hedeflenen çalışmanın hipotezi, yöntemi, bulguları sonrasında, çalışmanın literatüre getirdiği katkı net olarak tanımlanmalıdır.

Doğal öldürücü/T hücre lenfoması (*ing.* NKTCL) nadir gözlemlenen agresif bir kanser türü olup, kötü prognozla ilişkilidir. Önceki raporlarda bu lenfomanın etiyolojisiyle ilişkili tümör baskılayıcı gen ve onkogen adayları belirlenmiş olmasına rağmen, uzun kodlamayan RNA (lncRNA)'ların NKTCL patobiyolojisi üzerindeki rolü henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada, NKTCL olgularında kanserle ilişkili disregüle olan lncRNA'ları yanı sıra bu lncRNA'larla ilişkili sinyal yolları ve biyolojik işlemlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. RNA-Seq analizi yoluyla, normal NK hücrelerine kıyasla NKTCL olgularında 166 lncRNA'nın ve 66 lncRNA'nın, sırasıyla, istatistiksel olarak yüksek ve düşük oranda ifade edildiklerini gözlemledik. Bu analiz sonucunda, özgün olanlar yanı sıra, kanser oluşumuyla ilişkileri önceden bilinen lncRNA'ların - SNHG5, ZFAS1 veya MIR155HG vb.- da NKTCL olgularında disregülasyonunu gözlemledik. İlginç olarak, NKTCL tümörlerinde disregüle olan lncRNA'lar, NK hücre aktivasyonu ile ilgili sinyal yolları ve biyolojik işlemlerle ilişkili gösterdi. Benzer biçimde, NKTCL olgularında upregüle olan ZFAS1 ifadesi, normal ve neoplastik NK hücre örneklerinde, P53 stabilizasyonu, nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) sinyal yolağı, hücre döngüsü ve sağkalımıyla ilişkili sinyal yollarında yer alan genlerle pozitif ve negatif korelasyon gösterdi. Sonuç olarak, bu çalışma lncRNA'ların NKTCL patobiyolojisi üzerine yapılmış ilk çalışmadır.

Belirlenen ZFAS1 ve diğer lncRNA'lar kanser-ilişkili genleri ve bu genlerle ilişkili sinyal yollarını regüle ederek NKTL patobiyolojisinde ve tümörijenizde rol alabilirler.



ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



Salih Gencer

Üsküdar Üniversitesi, Medical University of South Carolina

Yrd. Doc. Dr. Salih Gencer 1982 yılında Malatya'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Malatya'da tamamladı. 2002 yılında İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü bitiren Gencer, 2004 yılında TÜBİTAK bursu ile aynı üniversitede moleküler biyoloji alanında yüksek lisansını başarıyla tamamladı. 2006-2009 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Biyoloji bölümünde araştırma görevlisi olarak çalıştı ve 2009 yılında İnönü Üniversitesinde doktorasını tamamladı. 2009-2011 yılları arasında İstanbul Üniversitesi'nde Dr. Araştırma görevlisi olarak çalıştı.

2011 yılında TÜBİTAK Yurt-Dışı Doktora Sonrası Araştırma bursunu kazanarak, Amerika Bileşik Devletleri, Medical University of South Carolina (MUSC)'ya gitti. Burada bir yıl boyunca Visiting Scholar olarak çalışmalarını başarıyla yürüten Gencer, 2012 yılında Üsküdar Üniversitesi, Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümüne Yrd. Doç. Dr. olarak atandı. Aynı yıl MUSC'de Post-doctoral fellowship kazanarak Amerikadaki çalışmalarına devam etti. Halen, MUSC'da Research associate olarak çalışmalarını başarılı bir şekilde yürütmekte ve Üsküdar Üniversitesinde Yrd. Doc. Dr. olarak görev almaktadır.

Yrd. Doc. Dr. Salih Gencer, TÜBİTAK, DPT ve NIH tarafından desteklenen, kanserin moleküler biyolojisi, mikrobiyal ve endüstriyel biyoteknoloji alanlarındaki pek çok projede araştırmacı ve yürütücü olarak görev aldı ve bu projelerde halen devam eden görevleri bulunmaktadır. SCI kapsamında, aralarında *Nature Chemical Biology*, *EMBO* ve *Science Signaling* gibi oldukça prestijli dergilerinde yer aldığı, toplam 20 adet yayını bulunmaktadır. Pek çok uluslararası dergide hakemlik yapmaktadır. 2016 yılında "Experimental Biology" kongresinde (San Diego, USA) kanser ve metastaz alanında yaptığı çalışmalardan dolayı Genç Öğretim Üyesi ödülüne (Junior Faculty Award) layık görülmüştür. Akademik hayatı boyunca elde ettiği başarı ve ödüllerden bazıları şunlardır.

2002-2004: Scholarship for master study from "The Scientific and Technical Research Council of Turkey, (TUBITAK)

2004: Young researcher award in II. Clinic Biochemistry and Cancer Symposium, Bursa-Turkey

2004: Dean's list, Faculty of Life Science, İnönü University, Malatya-Turkey

2003- present: Article publishing award from "The Scientific and Technical Research Council of Turkey, (TUBITAK)

2006: Fellowship to attendance of 31st FEBS Congress in Istanbul, from "The Scientific and Technical Research Council of Turkey, (TUBITAK)

2006: Fellowship for attendance of scientific activities from "The Scientific and Technical Research Council of Turkey, (TUBITAK)

2005-2009: Scholarship for PhD studies from "The Scientific and Technical Research Council of Turkey, (TUBITAK)

2010: 10th FEBS Young Scientists Forum Award, FEBS 2010, Gothenburg, Sweden

2010: Dean's list as a productive and inspired research assistant, Faculty of Engineering, Department of Genetics and Bioengineering, İstanbul University, İstanbul-Turkey

2010: International Postdoctoral Research Scholarship, "The Scientific and Technical Research Council of Turkey, (TUBITAK).

2012: Postdoctoral Fellowship from Medical University of South Carolina, Charleston, USA

2013: Selected in Who's Who in the World 2014, for outstanding achievement (31st Edition).

2014: Selected in Who's Who in America 2015, for outstanding achievement (69th Edition).

2015: Best oral presentation and best project, Annual Lipid Signaling Retreat, Charleston SC, USA.

2015: ASBMB 2015 Graduate/Postdoctoral Travel Award for EB 2015 Conference, Boston, USA

2015: 15th FEBS Young Scientist's Forum Award, FEBS 2015, Berlin, Germany

2015: MOKAD's Best Young Researcher Award, the 3rd EACR-Sponsored Anticancer Agent Development Congress, İzmir, Turkey.

2015: Selected in IBC's Top 100 Scientists-2015, International Biographical Centre; Cambridge, England.

2015: Best Study and Travel Award, 50th Southeastern Regional Lipid Conference, Cashiers, NC, USA.

2015: Awarded with Recognized Reviewer Status by The Editors of Critical Reviews in Oncology/Hematology, Elsevier, Amsterdam, Netherlands.

2016: ASIP 2016 Junior Faculty Award, ASIP2016 Annual Meeting at Experimental Biology, San Diego, USA.

2016: "O-1 Extraordinary/distinguished ability" visa status in USA.

2016: EMBO travel grant, 7th EMBO meeting 2016, Mannheim, Germany

2016: TUBITAK, International Scientific Meeting Grant, April 2016, Turkey

2016: 41st FEBS Congress bursary award for participation, FEBS 2016 Ephesus/Kusadası, Turkey. (the congress was cancelled).

2016: EMBO Young Scientists' Forum 2016 award, September 2016, Lisbon, Portugal

2016: ENA 2016 Travel Grant, 28th EORTC-NCI-AACR Congress on "Molecular targets and Cancer Therapeutics" in Munich 29 November to 2 December 2016.

2017: AACR Scholar-In-Training Award (American Association for Cancer Research), Sao Paulo, Brazil.

FEBS YTF grant for the advanced course ALC17-008, Matrix Pathobiology, Signalling and Molecular Targets.

Çalışma Alanları: Moleküler Genetik, Biyokimya, Kanser Moleküler Biyolojisi, Hücre Biyolojisi, Mikrobiyal biyoteknoloji,



ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



Yayınları (SCI):

Salih Gencer, Natalia Oleinik, Ryan De Palma, Joshua Oaks, Mohammed Dany, Can E. Senkal, Suriyan Ponnusamy, Shaun Olson, Phillip Howe, and Besim Ogretmen, Ceramide-Smad7 Inhibitory Complex Modulates TGF- β Receptor Targeting to Primary Cilia for the Regulation of Cell Migration and Metastasis (under revision, accepted to *Science Signaling*).

M. Hanief Sofi, Jessica Heinrichs, Mohammed Dany, Hung Nguyen, Min Dai, David Bastian, Steven Schutt, Yongxia Wu, Anusara Daenthansanmak, Salih Gencer, Zivkovic Aleksandra, Zdzislaw Szulc, Holger Stark, Chen Liu, Ying-Jun Chang, Besim Ogretmen, and Xue-Zhong Yu, Ceramide Synthesis Regulates T-Cell Activity and GVHD Development, (2016), *JCI Insight*. 2017 May 18;2(10). pii: 91701. doi: 10.1172/jci.insight.91701.

Dany M, Gencer S, Nganga R, Thomas RJ, Oleinik N, Baron KD, Szulc ZM, Ruvalo P, Kornblau S, Andreeff M, Ogretmen B. Targeting FLT3-ITD signaling mediates ceramide-dependent mitophagy and attenuates drug resistance in AML. (2016), *Blood*, 13;128(15):1944-1958.

Tejas S. Tirodkar, Ping Lu, Aiping Bai, Matthew Scheffel, Salih Gencer, Elizabeth Garrett-Mayer, Alicja Bielawska, Besim Ogretmen, Christina Voelkel-Johnson; Expression of Ceramide Synthase 6 Transcriptionally Activates Acid Ceramidase in a c-Jun N-Terminal Kinase (JNK)-Dependent Manner; *Journal of Biological Chemistry* (2015), 290 (21): 13157-67.

Salih Gencer, Anil Cebeci, M.Burcu Irmak-Yazicioglu, "Matrix metalloproteinase gene expressions might be oxidative stress targets in gastric cancer cell lines", *Chin J Cancer Res.* (2013) 25(3): 322-333.

Sahar A. Saddoughi, Salih Gencer, Archana Mukhopadhyay, Yuri K. Peterson, Katie Ward, Joshua Oaks, Jacek Bielawski, Zdzislaw M. Szulc, Raquela Thomas, Shanmugam P. Selvam, Can E. Senkal, Elizabeth Garrett-Mayer, Angen Liu, Aryn Habib, Robert Stahelin, Danillo Perrotti, and Besim Ogretmen, Sphingolipid derivative FTY720 targets I2PP2A/SET for PP2A activation and lung tumor suppression via RIPK1-dependent necroptosis, *EMBO Molecular Medicine* (2013) 5(1): 105-121.

R. David Sentelle, Can E. Senkal, Wenghui Jiang, Suriyan Ponnusamy, Salih Gencer, Shanmugam Panneer Selvam, Venkat K. Ramshesh, Yuri Peterson, John J. Lemasters, Zdzislaw Szulc, Jacek Bielawski, Besim Ogretmen, Ceramide targets autophagosomes to mitochondria and induces lethal mitophagy, *Nature Chemical Biology* (2012) 8(10): 831-8.

Marissa Mayers-Needham, Jocelyn Lewis, Salih Gencer, R. David Sentelle, Sahar A. Saddoughi, Chris Clarke, Yusuf

A Hannun, Hakan Norell, Telma Martins da Palma, Michael Nishimra, Jacqueline M. Kraveka, Zohreh Khavandgar, Monzur Murshed, M. Ozgur Cevik, and Besim Ogretmen; Off-Target Function of a Sonic-Hedgehog Inhibitor Cyclopamine in Induction of Neutral Sphingomyelinase-2 and ceramide-dependent Apoptosis via Nitric Oxide Generation; *Molecular Cancer Therapeutics* (2012) 11 (5): 1092-1102.

Tugba Sagir, Salih Gencer, Nurufe Kemikli, M. Fatih Abasiyanik, Sevim Isik, Ramazan Ozturk, Photodynamic Activities of Protoporphyrin IX and Its Dopamine Conjugate Against Cancer and Bacterial Cell Viability, *Medicinal Chemistry Research* (2012) (DOI 10.1007/s00044-011-9951-3).

Meyers-Needham M, Ponnusamy S, Gencer S, Jiang W, Thomas RJ, Senkal CE, Ogretmen Besim, Concerted functions of HDAC1 and miRNA-574-5p repress alternatively spliced ceramide synthase 1 expression in human cancer cells, *EMBO Molecular Medicine* (2011) 4 (2): 78-92.

Salih Gencer, Anil Cebeci, M.B Irmak Yazicioglu, Silencing of the MMP-3 gene by siRNA transfection in gastric cancer AGS cells, *J. Gastrointestinal and Liver Diseases*, (2011) 20 (1): 19-26.

Salih Gencer, M.B Irmak Yazicioglu, Differential response of gastric carcinoma MKN-45 and 23132/87 cells to H₂O₂ exposure. *Turk J. Gastroenterol*, (2011) 22 (2): 145-151.

Salih Gencer, Gurkan Sen, Gulen Dogusoy, Ahmet Korkut Belli, Melih Paksoy, Meliha Burcu Irmak Yazicioglu, β -catenin independent noncanonical Wnt pathway might be induced in gastric cancers. *Turk J. Gastroenterol*, (2010) 21 (3): 224-230.

Geckil H, Gencer S, Ates B, Ozer U, Uckun M, and Yilmaz I (2006), Effect of *Vitreoscilla* hemoglobin on production of a chemotherapeutic enzyme, L-asparaginase, by *Pseudomonas aeruginosa*. *Biotechnology Journal* 1: 203-208.

Geckil H, Ates B, Gencer S, Uckun M, and Yilmaz I (2005), Membrane permeabilization of gram-negative bacteria with a potassium phosphate/hexane aqueous phase system for the release of L-asparaginase: an enzyme used in cancer therapy. *Process Biochemistry* 40 (2): 573-579.

Geckil H, Arman A, Gencer S, Ates B and Yilmaz HR (2004), *Vitreoscilla* hemoglobin renders *Enterobacter aerogenes* highly susceptible to heavy metals. *Biomaterials* 17 (6): 715-723.

Geckil H, Gencer S, Uckun M (2004), *Vitreoscilla* hemoglobin expressing *Enterobacter aerogenes* and *Pseudomonas aeruginosa* respond differently to carbon

catabolite and oxygen repression for production of L-asparaginase, an enzyme used in cancer therapy. *Enzyme and Microbial Technology* 35 (2-3): 182-189.

Erenler SO, Gencer S, Geckil H, Stark BC, and Webster DA (2004), Cloning and expression of the *Vitreoscilla* hemoglobin gene in *Enterobacter aerogenes*: effect on cell growth and oxygen uptake. *Applied Biochemistry and Microbiology* 40 (3): 288-295.

Geckil H, Gencer S (2004), Production of L-asparaginase in *Enterobacter aerogenes* expressing *Vitreoscilla* hemoglobin for efficient oxygen uptake. *Applied Microbiology and Biotechnology* 63 (6): 691-697.

Geckil H, Gencer S, Kahraman H, Erenler SO (2003), Genetic engineering of *Enterobacter aerogenes* with *Vitreoscilla* hemoglobin gene: cell growth, survival, and antioxidant enzyme status under oxidative stress. *Research in Microbiology* 154 (6): 425-431.

Citation indices

	All	Since 2012
Citations	552	462
h-index	12	9
i10-index	13	9

* The numbers are determined according to Google Scholar.

Not: Detaylı CV ekte verilmiştir.

Sunum başlığı:

Biyoaktif Sfingolipid Seramid ile TGF-Beta Sinyal Yolağının Regülasyonu ve Tümör Metastazının Baskılanması

Biyoaktif sfingolipidleri ve Sfingolipid metabolizmasını hedef alarak, tümör büyümesinin düzenlenmesinde yer alan sfingolipidlerin doğrudan moleküler hedefler olarak seçilmesi yeni alternatif teşhis ve tedavi unsuru olabilecek mekanizma ve metabolitlerin keşfedilmesini sağlayacaktır. Sfingolipidlerin hücre içi protein hedeflerini anlamak, pro-apoptotik ve bunların pro-survival rollerine ilişkin mekanik ayrıntıların ortaya konulması, kanser ile mücadele için tedavi potansiyeli ihtiva edebilecek yeni alanların ortaya çıkmasını sağlayacaktır. Sfingolipid metabolizmasının merkezi molekülü seramid, genellikle hücre çoğalması inhibisyonu, apoptoz indüksiyonu, yaşlanma modülasyonu, endoplazmik retikulum (ER Stress) stres tepkileri ve / veya otofaji gibi anti-proliferatif cevaplara aracılık eder. Bizimde katkıda bulunduğumuz son çalışmalar, de-novo olarak üretilen seramid türlerinin, tümör oluşumunun teşvik edilmesi ya da bastırılmasında belirgin ve karşıt rollere sahip olabileceğini göstermiş olup, bu değişikliklerin yağ asit zinciri uzunluklarına ve hücre içi lokalizasyona dayandığını göstermektedir. Anti kanser özelliği ile bilinen biyoaktif sfingolipid olan seramid'in TGF-beta sinyal yolağını nasıl regüle ettiği ve

tümör metastazındaki rolünün açığa kavuşturulması bu çalışmanın amacını oluşturmaktadır. Kanser gibi pek çok patolojik durumda ilaç olma potansiyeli taşıdığı öngörülen seramid'in, bu çalışma ile klinik acıdan öneminin ön plana çıkartılması ayrıca hedeflenmiştir. Bu çalışma kapsamında, Seramide Sentaz 4 (CerS4) tarafından sentezlenen seramid (C_{18/20} Seramid)'in Smad7 ile TGF-beta reseptör-I arasındaki etkileşimi stabilize ettiği ve bu kompleksin TGF-beta reseptör I ve II'nin primary cilia membranına hareketini (lokalizasyonunu) bloke ettiğini gösterdik. CerS4'ün moleküler ya da genetik (CerS4 knockout sistemde) düzeyde değişimi Smad7 -TGF-beta reseptör I kompleksinin stabilitesini etkileyerek TGF-beta reseptör çiftinin primary cilia'da lokalizasyonunu arttırmıştır. Primary ciliada lokalize olan TGF-beta reseptör çifti Smo üzerinden Shh sinyal yolağını aktive ederek tümör metastazını arttırdığı görülmüştür. Bütün bulgular tarafımızdan üretilen CerS4 -/- mice modelinde de *in-vivo* olarak görülmüştür. Bütün bu bulgular, CerS4/Seramid-smad7 kompleksinin, TGF-beta sinyal yolağı üzerinden tümör metastazını kontrol ederek terapötik amaçlı potansiyel bir hedef olabileceğini göstermektedir.



ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



Ayşim Güneş

*Dokuz Eylül University, School of Medicine, Izmir
Biomedicine and Genome Institute, Inciralti, Izmir*

2. EDUCATION

Bachelor Degree: Ege University, Faculty of Science,
Department of Biology, 2002-2006.

Master's Degree: Dokuz Eylül University, Faculty of
Medicine, Health Sciences Institute,
Medical Biology and Genetics, 2007-2010.

PhD Degree: Dokuz Eylül University, Faculty of
Medicine, Izmir Biomedicine and Genome
Institute, 2010-2016.

3. THESIS

1. Master's Thesis

• Thesis Name: The Role of Thioredoxin Interacting
Protein (TXNIP) in Hepatocellular
Carcinoma (HCC) Development.

• Thesis Advisor: Prof. Dr. Neşe Atabey

2. PhD Thesis

• Thesis Name: The Role of Signaling Pathways
Associated with Oxidative Stress in
the Progression of Hepatocellular Carcinoma

• Thesis Advisor: Prof. Dr. Neşe Atabey

4. PROJECT EXPERIENCES

1. The role of Thioredoxin Interacting Protein in
Hepatocellular Carcinoma
Development. Master's Thesis, 2008-2010.

Research Experiences:

- RNA and Protein isolation from HCC cell lines,
- Primer Design and Optimisation,
- Conventional PCR,
- Western Blotting,
- Propagating of wild type TXNIP gene promoter
including vector via transforming to
E.coli bacteria, Transfecting vector to HCC cells,
- Promoter (Transcriptional) activity analysis with
Luciferase reporter assay.

2. Mutational analysis of c-Met tyrosine kinase Sema
domain in Non-small cell
lung cancer (NSCLC). BAP Project, 2008-2010.

Research Experiences:

- DNA isolation from paraffin-embedded lung tissues of
NSCLC patients,
- Conventional PCR,
- Preparing PCR products for sequence analysis
(Purification),
- Computational Sequence analysis of Sema domain in c-
Met gene (Mutation and SNP
analysis).

3. The Role of Small GTPase Rac1 in Cardiovascular
Disfunctions in Diabetic
Rats. BAP Project, 2008-2010.

Research Experiences:

- Protein isolation from heart tissues of Diabetic rats,
- Expression analysis of Rac1 and its downstream target
PAK1 genes with Western
blotting.

4. The Role of Thioredoxin Interacting Protein in High
Glucose Mediated Oxidative
Stress. Turkish Diabetes Association, 2012.

Research Experiences:

- Protein isolation from liver tissues of Diabetic rats,
- Expression analysis of TXNIP gene with Western
blotting.
- RNA isolation and expression analysis of glucose
metabolism related genes in HCC
cell lines.

5. The Regulatory Role of Thioredoxin Interacting Protein
in Oxidative Stress
Mediated Responses in Hepatocellular Carcinoma Cells.
Bayindir Hospitals,
2012.

Research Experiences:

- Propagating of wild type and different length mutant
TXNIP gene promoter vectors via
transforming to E.coli bacteria,
- Transfecting vectors to HCC cells,
- Promoter (Transcriptional) activity analysis with
Luciferase reporter assay.

6. The Molecular Mechanism of Heparin Mediated
Inhibition of Hepatocyte Growth
Factor Induced Cellular Motility and Invasion in
Hepatocellular Carcinoma Cell
Lines. Tubitak 1001 Project, 2011-2013.

Research Experiences:

- To determine the molecular mechanism of Tyrosine
kinase receptor
activation/downregulation; Receptor dimerisation assays
 - Tyrosine kinase receptor downregulation assays;
Downregulation signaling
pathway gene analysis by western blotting
7. The role of Signaling Pathways Associated with
Oxidative Stress in the
Progression of Hepatocellular Carcinoma. PhD Thesis,
2012-2016.

Research Experiences:

- RNA and Protein isolation from HCC cell lines and
tissues,
- Expression analysis of TXNIP gene in HCC cell lines,
- Sub-cloning of TXNIP open-reading frame to a
retroviral vector backbone, Packaging
and propagating of Retroviral vector in 293T cells,
transduction of vectors to HCC
cells, Preparing inducible TXNIP expressing cell colonies,
- Silencing of TXNIP expression in HCC cell lines,
- Analysing biological responses of TXNIP overexpressed
and silenced cells such as;
Immunofluorescent analysis of reactive oxygen species
(ROS) levels, Proliferation
rates, Apoptosis percentages, Motility and invasion
abilities, 3D Branching
tubulogenesis abilities, Epithelial Mesenchymal
Transition Processes,
- Labeling TXNIP overexpressed and silenced cells with
GFP agent for in-vivo Zebra



ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



3. Gozukizil Aysim, Ozen Evin, Erdal Esra, Atabey Nese. The role of Thioredoxin Interacting Protein (TXNIP) in the Development and Progression of Hepatocellular Carcinoma. Best Oral Presentation, Second Prize, National Medical Biology and Genetic Congress, 2011.
4. Gozukizil Aysim, Ozen Evin, Erdal Esra, Atabey Nese. The Regulatory Role of Thioredoxin Interacting Protein in Oxidative Stress Mediated Responses in Hepatocellular Carcinoma Cells. Best Project Awards, First Prize, Awards of Bayindir Hospitals, 2012.
5. Ozen Evin, Gozukizil Aysim, Erdal Esra, Atabey Nese. Egr1 Upregulation Induces Invasion of Hepatocellular Carcinoma Cell Lines in Response to Hepatocyte Growth Factor/c-Met Signaling. Best Poster Presentations, First Prize, International EMBO Young Scientists Forum, 2012.
6. Ozen Evin, Gozukizil Aysim, Erdal Esra, Uren Aykut, Donald Bottaro, Atabey Nese. Heparin Inhibits Hepatocyte Growth Factor Induced Motility and Invasion of Hepatocellular Carcinoma Cells through Early Growth Response Protein 1. National Medical Biology and Genetic Congress, 2013.
7. Dogukan Koc, Gozukizil Aysim, Kunter Imge, Erdal Esra, Atabey Nese. To determine the Oxidative Stress Response Differences Between Cancer Stem Cell and Cancer Non-Stem Cell Types in HCC. National Medicine Students Project Awards, Best Project Award, Celal Bayar University, 2013.
8. Gunes Aysim, Iscan Evin, Gumustekin Mukaddes, Topel Hande, Erdal Esra, Atabey Nese. Heparin mediated c-Met activation regulates glucose metabolism via Thioredoxin interacting protein in diabetes. Best Poster Presentations, Third Prize, International Frontiers in Diabetes Mellitus, 2014.
7. ORAL AND POSTER PRESENTATIONS
1. Kunter Imge, Gozukizil Aysim, Cokakli Murat, Atabey Nese, Ozturk Mehmet, Erdal Esra. Increased Expression of LGR5 Might Be Related With Stem Cell Like Phenotype in Hepatocellular Carcinoma Cell Lines. Poster Presentation, International WNT Meeting, United States of America, 2009.
2. Gumustekin Mukaddes, Gozukizil Aysim, Arslan Feyza. Mutational analysis of c-Met tyrosine kinase Sema domain in Non-small cell lung cancer. Poster Presentation, National Turkish Pharmacology Congress, Eskisehir, 2009.
3. Gumustekin Mukaddes, Kargi Aydanur, Bulut Gulay, Gozukizil Aysim, Ulukus

- Cagnur, Oztop Ilhan, Atabey Nese. HGF/c-Met Overexpressions but not Met Mutation. Poster Presentation, International World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, Vienne, 2010.
4. Gozukizil Aysim, Ozen Evin, Erdal Esra, Atabey Nese. The Thioredoxin Interacting Protein (TXNIP), a Major Mediator of Oxidative Stress, is Regulated by HGF/c-Met Signaling Pathway in SK-HEP-1 Hepatocellular carcinoma cell line. Poster Presentation, National Institute of Health Sciences, Izmir, 2010.
5. Gozukizil Aysim, Ozen Evin, Erdal Esra, Atabey Nese. HGF/c-Met Signaling Pathway Regulates TXNIP, Major Actor of Oxidative Stress, in SK-HEP-1, HCC Cell Line. Poster Presentation, Cell Signal-omics Integrated cellular pathology Systems biology of human disease, Cell Signal-omics, Luxembourg, 2011.
6. Ozen Evin, Gozukizil Aysim, Erdal Esra, Atabey Nese. Regulation of HGF-induced cell invasion through EGR1 in Hepatocellular Carcinoma. Poster Presentation, Cell Signal-omics Integrated cellular pathology Systems biology of human disease, Cell Signal-omics, Luxembourg, 2011.
7. Gumustekin Mukaddes, Arici Aylin, Cilaker Micilli S, Gozukizil Aysim, Arslan Feyza, Toyulu Asli, Guneli Ensari, Atabey Nese. The Role of Small GTPase Rac1 in Cardiovascular Disfonctions in Diabetic Rats. Poster Presentation, National Turkish Pharmacology Congress, Eskisehir, 2011.
8. Ozen Evin, Gozukizil Aysim, Erdal Esra, Atabey Nese. The role of Early Growth response protein (Egr1) in the development and progression of Hepatocellular carcinoma. Poster Presentation, National Medical Biology and Genetics Congress, Antalya, 2011.
9. Gozukizil Aysim, Ozen Evin, Erdal Esra, Atabey Nese. The role of Thioredoxin Interacting Protein (TXNIP) in the development and progression of Hepatocellular carcinoma. Oral Presentation, National Medical Biology and Genetics Congress, Antalya, 2011.
10. Ozen Evin, Gozukizil Aysim, Erdal Esra, Atabey Nese. Heparin Inhibits Hepatocyte Growth Factor Induced Motility and Invasion of Hepatocellular Carcinoma Cells through Early Growth Response Protein 1. Poster Presentation, International Cellular Signaling & Molecular Medicine, Dubrovnik, 2012.
11. Gozukizil Aysim, Ozen Evin, Erdal Esra, Atabey Nese. HGF/c-Met Signaling



ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



Pathway Regulates TXNIP, Major Actor of Oxidative Stress in SK-HEP-1 HCC Cell

Line, Poster Presentation, International Liver Cancer Association, Germany, 2012.

12. Ozen Evin, Gozukizil Aysim, Erdal Esra, Atabey Nese. Hepatocyte Growth Factor

Induces Heparanase Expression through Egr1 Activation in Hepatocellular Carcinoma

Cell Lines. Poster Presentation, EMBO Young Scientists Forum, Istanbul, 2012.

13. Ozen Evin, Gozukizil Aysim, Erdal Esra, Atabey Nese. Egr1 upregulation Induces

Invasion of Hepatocellular Carcinoma Cell Lines in Response to Hepatocyte Growth

Factor/c-Met Signaling. Poster Presentation, EMBO Young Scientists Forum,

Istanbul, 2012.

14. Gozukizil Aysim, Korhan Peyda, Ozen Evin, Toylu Asli, Erdal Esra, Atabey Nese.

Oxidative Stress Induces Motility and Invasion of Hepatocellular Carcinoma Cells by

Altering the Downregulation of c-Met Receptor Tyrosine Kinase. Poster Presentation,

International FEBS, Kusadasi, 2012.

15. Ozen Evin, Gozukizil Aysim, Erdal Esra, Atabey Nese. Hepatocyte Growth Factor

Induces Heparanase Expression Through Egr1 Activation in Hepatocellular Carcinoma

Cell Lines. Poster Presentation, International EMBO Meeting, France, 2012.

16. Baran Burcin, Ozen Evin, Korhan Peyda, Gozukizil Aysim, Erdal Esra, Atabey Nese.

Regulation of Cullin2 Ubiquitin Ligase Expression by HGF/c-Met Signaling Pathway.

Poster Presentation, International FEBS Special Meeting, Kusadasi, 2012.

17. Kahraman Erkan, Gozukizil Aysim, Erdal Esra, Atabey Nese. The Role of Sestrin2 in

Hepatocellular Carcinoma Development. Poster Presentation, National Medical

Biology and Genetic Congress, Kusadasi, 2013.

18. Gunes Aysim, Ozen Evin, Erdal Esra, Yilmaz Funda, Atabey Nese. TXNIP Overexpression

Promotes Aggressive Cell Phenotype in HCC Cell Lines. Oral

Presentation, National Medical Biology and Genetic Congress, Kusadasi, 2013.

19. Gunes Aysim, Iscan Evin, Gumustekin Mukaddes, Topel Hande, Erdal Esra, Atabey

Nese. Heparin Mediated c-Met Activation Regulates Glucose Metabolism via

Thioredoxin Interacting Protein in Diabetes. Poster Presentation, International

Frontiers in Medical Sciences: Diabetes, Cancer and their Connection Meeting,

Istanbul, 2014.

20. Gunes Aysim, Iscan Evin, Topel Hande, Erdal Esra, Atabey Nese. Heparin

Regulates Glucose Metabolism in Hepatocellular Carcinoma Cells by Inducing

Thioredoxin Interacting Protein via Carbohydrate Response Element. Poster

Presentation, International Frontiers in Medical Sciences: Diabetes, Cancer and their

Connection Meeting, Istanbul, 2014.

21. Gunes Aysim, Iscan Evin, Aykutlu Umut, Erdal Esra, Nart Deniz, Yilmaz Funda,

Atabey Nese. TXNIP Over-expression Promotes Aggressive Cell Phenotype in HCC

Cell Lines. Oral Presentation, International Congress of the International Academy of

Pathology and 28th Congress of the European Society of Pathology, Germany, 2016.

8. COMPUTATIONAL SKILLS

1. Word, Excel and Power Point: Advanced

2. Adobe Photoshop: Good

3. Image J: Advanced

4. Graphpad Prism Statistics: Advanced

5. SPSS Statistics: Good

9. REFERENCES

1. Prof. Dr. Neşe ATABEY, Vice Director of Dokuz Eylul University, Izmir Biomedicine and Genome Institute.

2. Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK, Director of Dokuz Eylul University, Izmir Biomedicine and Genome Institute.

3. Prof. Dr. Esra ERDAL, Vice Director of Dokuz Eylul University, Izmir Biomedicine and Genome Institute.

4. Prof. Dr. Funda YILMAZ, Vice Dean of Ege University, School of Medicine, Department of Pathology.

Sevil Oskay Halaçlı
Hacettepe Üniversitesi

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü- (Moleküler Biyoloji ve Genetik alt dalı) 2004 yılı mezunuyum. Kolon kanserinde hücre siklusu, apoptozis ve telomeraz aktivitesi ile ilgili yüksek lisans tezimi Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü'nde 2008 yılında tamamladım. Meme kanserinde sinyal yolakları alanındaki doktora tezimi ise Hacettepe Üniversitesi Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Tümör Biyolojisi ve İmmünoloji Bilim Dalı'nda 2012 yılında sundum. Mezun olduğum dönemden bu güne kadar Hacettepe Üniversitesi Pediatrik İmmünoloji Bilim Dalı'nda araştırmacı olarak çalışmaktayım. Ayrıca doktora çalışmalarım sırasında 4.5 ay süre ile Oxford Üniversitesi, Nuffield Klinik Laboratuvar Bilimleri Bölümü'nde doktora tezime ilgili araştırmalar yaptım. Eylül 2016 tarihinden bu yana Kings College London, Kanser Araştırmalar Bölümü'nde doktora sonrası araştırmacı olarak çalışmaktayım. Bu araştırma ile Tübitak 2219 Doktora sonrası araştırmacı bursunu almaya hak kazandım. Gerek doktora sonrası burada yaptığım araştırmalar sırasında, gerekse Hacettepe Üniversitesi Pediatrik İmmünoloji Bilim Dalı'nda aktif olarak proje yazmakta ve deneysel çalışmaları yürütmekteyim.

Yayın listesi:

Uluslararası Hakemli Dergi Yayınları

1. Ahmad Fahim Ismail, **Sevil Oskay Halaccli**, Nouf Babteen, Mario De Piano, Tracey A. Martin, Wen G. Jiang, Muhammad Shamim Khan, Prokar Dasgupta, Claire M. Wells, PAK5 mediates cell: cell adhesion integrity via interaction with E-cadherin in bladder cancer cells, *Biochemical Journal* Mar 24, **2017**, 474 (8) 1333-1346
2. **Oskay Halaccli S.** FOXP1 enhances tumor cell migration by repression of NFAT1 transcriptional activity in MDA-MB-231 cells. *Cell Biol Int.* **2017** Jan;41(1):102-110.
3. Burcin Halaccli, Nese Unver, Hande Canpinar, **Sevil Oskay Halaccli**, Ebru Ortac Ersoy, Serpil Ocal, Dicle Guc, Yahya Buyukasik and Arzu Topeli, Brother of Severe Sepsis in Medical Intensive Care Unit: Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *J Crit Care.* **2016** Oct;35:185-90.
4. **Oskay Halaccli S.** Deniz Cagdas Ayvaz, Cagman Tan, Elif Uz, ilhan Tezcan, S. Ozden Sanal, STK4 gene deficiency in two siblings. *Clin Immunol.* **2015** Dec;161(2):316-23.
5. **Oskay Halaccli S.,** A. Lale Dogan, FOXP1 regulation by the PI3K/Akt/p70S6K pathway in

breast cancer cells. *Oncol Lett.* **2015**
Mar;9(3):1482-1488.

6. Aynur Altuntas, **Sevil Oskay Halaccli**, Ozlem Cakmak, Gonul Erden, Sumeyya Akyol, Veli Ugurcu, Satoshi Hirohata, Kadir Demircan, IL-1 β induced NF- κ B binds to ADAMTS9 promoter in human chondrosarcoma cells, Mol Med Rep **2014**, 12: 595-600.
7. **Oskay Halaccli S**, Hande Canpinar, Eren Cimen, Asuman Sunguroglu, The Effects of Gamma Irradiation on Cell Cycle, Apoptosis and Telomerase Activity in p53 Wild Type and p53 null HCT116 Colon Cancer Cell Lines, Oncol Lett., **2013**, 6: 807-810.
8. **Oskay Halaccli S**, Halaccli B, Altundag K., The significance of heat shock proteins in breast cancer therapy, Med Oncol., **2013**, 30:575

Ulusal Hakemli Dergi Yayınları

A. Lale Dogan, Eren Çimen, **Sevil Oskay**, Samet Oksuz,
Dicle Guç, Meme Kanseri Hücre Dizilerinde HIF-1 alfa



ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



Ufuk Özer

Güney Karolina Üniversitesi, Kolon Kanseri
Araştırma Merkezi, Göğüs Kanseri Araştırma
Laboratuvarı, Columbia, Güney Karolina, ABD

EĞİTİM

Doktora sonrası araştırmacı, Göğüs Kanseri Araştırma
Laboratuvarı – 2015

Güney Karolina Üniversitesi, Kolon Kanseri Araştırma
Merkezi, Göğüs Kanseri Araştırma Laboratuvarı,
Columbia, Güney Karolina, ABD 29208

Doktora, Moleküler, Hücre ve Gelişimsel Biyoloji – 2013
Güney Karolina Üniversitesi, Kolon Kanseri Araştırma
Merkezi, Kolon Kanseri Araştırma Laboratuvarı
Columbia, Güney Karolina, ABD 29208

Yüksek lisans, Moleküler Biyoloji – 2006

İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya,
Türkiye 44280

Lisans, Biyoloji – 2004

İnönü Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Malatya, Türkiye
44280

Lise, Elektronik, Okul Birinciliği – 2000

Yunus Emre Endüstri Meslek Lisesi, Elektronik Bölümü,
Malatya, Türkiye 44100

ARAŞTIRMA TECRÜBESİ

2015- devam ediyor – Araştırma Görevlisi (Doktor) –
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Dicle Üniversitesi

2013-2015 – Doktora Sonrası Araştırmacı – Kolon Kanseri
Araştırma Merkezi, Güney Karolina Üniversitesi

•Göğüs kanseri araştırma laboratuvarında projelerden
birini yürüttü ve laboratuvarındaki teknikleri projedeki
öğrencilere öğretip rehberlik yaptı.

•Hücre kültürü, reaktif oksijen türlerinin göğüs kanseri
hücrelerinde saptanması üzerine çalıştı.

•Göğüs kanseri hücreleri ve kök hücrelerinde demir
şelatörlerinin terapötik etkilerini çalıştı.

•Konfokal ve floresan mikroskop, flow sitometri ve
fluoresan mikropetri okuyucu kullandı.

•Stabil transfeksiyon ile hücre hatları oluşturdu,

•Lüsiferaz metodu ile gen ekspresyonu çalışmaları yaptı.

2008-2013 – Araştırma Görevlisi – Kolon Kanseri
Araştırma Merkezi, Güney Karolina Üniversitesi

•Moleküler ve hücre biyolojisi tekniklerinin, özellikle
mikroskop ile dijital fotoğraflama, yarı ve tam kantitatif
RT-PCR, western blotlamanın kullanıldığı doktora tezi
projesini bitirdi.

•İlgili genlerin RNA ve proteinleri saptama, doku kültürü
ile çalışma, reaktif oksijen türlerinin (ROS) floresan
mikroskop ve flow sitometre ile saptanması, enzim
aktivite analizlerini yaptı.

•Fonksiyonel olarak kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar
tarafından yapılan ROS'un kaynağı olarak bir enzimi
buldu. ROS'un bu ilaçların meydana getirdiği hücre
ölümündeki etkisini buldu. Enzim aktivitesini sağlayan

enzim alt ünitesini buldu. Bu enzim alt ünitesinin kolon
kanseri hücrelerinde değişik miktarlarda üretilip
üretilmediğini araştırdı.

•Laboratuvar çalışanları ve diğer laboratuvar görevlileri ile
güçlü profesyonel ağlar kurdu.

•Diğer lablarda gerçekleştirdiği deneyler; tıp fakültesinde
flow sitometre ve eczacılık fakültesinde microarray
deneyi

2004-2007 – Lisans üstü öğrenci – Bilim ve Teknoloji
Araştırma Merkezi, İnönü Üniversitesi

•L-asparajinaz, L-DOPA and dopaminin bakteriyel sentezi
üzerine master tezi bitirdi.

•Bakteriyel metabolizma ve çeşitliliği, mikrobiyal kültür
çalışmaları, spektrofotometrik deneyler, L-asparajinaz ve
 tirozin fenol-liyaz ile enzim aktivite deneyleri, HPLC
ölçümü, bakteriyel oksijen tüketimi ile DNA ve protein
ekstraksiyonu testleri üzerine çalıştı.

•Laboratuvar çalışanları ve diğer laboratuvar görevlileri ile
güçlü profesyonel ağlar kurdu.

•Diğer lablarda master tezinin bir parçası olarak
gerçekleştirdiği deneyler; kimya bölümünde HPLC
ölçümü.

MAKALELER

1. Geckil, H., S., Gencer, B., Ates, U., Ozer, M., Uckun ve
I. Yilmaz, "Effect of Vitreoscilla hemoglobin on
production of a chemotherapeutic enzyme, L-
asparaginase, by Pseudomonas aeruginosa," Biotechnol
J. 1(2): 203-208 (2006).

2. Kurt, A.G., E., Aytan, U., Ozer, B., Ates ve H. Geckil,
"Production of L-DOPA and dopamine in recombinant
bacteria bearing the Vitreoscilla hemoglobin gene,"
Biotechnol J. 4(7): 1077-88 (2009).

3. Ozer, U., K.W., Barbour, S.A. Clinton, and F.G. Berger,
"Oxidative stress and response to thymidylate synthase-
targeted antimetabolites" Mol Pharm. 88: 970-981
(2015).

4. He, H., D., Altomare, U., Ozer, H., Xu, K., Creek, H.,
Chen and P. Xu, "A pyridine-2-thiol containing
polymer/copper combination selectively kills cancer
cells" Biomater Sci 4: 115-120. (2015).

5. Ozer, U. "The role of iron on breast cancer stemness"
Cellular and Molecular Biology. 4: 25-30 (2016).

6. Ozer, U. "Copper enriches efficacy of Dp44mT in
breast cancer cells". Tur J Biol. 40: 1185-1191 (2016).

7. Ozer, U., K.W. Barbour, "Differential oxidative
response to fluoropyrimidines in colorectal cancer cell
lines". Tur J Biol. 41: 187-194 (2017).

8. Ozer, U., K.W. Barbour, "Overexpression of p67phox in
response to fluoropyrimidines in HCT116 cells". Dicle
Med J. 43(4): 490-496 (2016).

9. Ozer, U., K.W. Barbour, "NFkB plays a role in basal
levels of ROS in HCT116 cells". Acta Medica 5: 87-92
(2016)

BİLDİRİLER

1. Ateş, B., U., Ozer, H., Geckil, İ., Yılmaz, "Bazı gram-negatif bakterilerde L-asparajinaz üretimi üzerine karbon kaynaklarının etkisi" 19. Ulusal Kimya Kongresi, Kuşadası BKP25 (2005).
2. Ates, B., S., Gencer, S.O., Erenler, M., Uckun, U., Ozer, I., Yılmaz, H., Geckil, "Production of L-asparaginase, a chemotherapeutic enzyme, in bacteria expressing Vitreoscilla haemoglobin" 31st FEBS Congress, Istanbul 273:139, FEBS Journal (2006).
3. Ozer, U., K.W., Barbour, F.G., Berger, "The role of reactive oxygen species (ROS) in cell death induced by thymidylate synthase inhibitors" 104th AACR Kongresi, Washington, D.C. 73 (8 suppl), Cancer Res (2013).
4. Clinton, S.A., K.W., Barbour, U., Ozer, F.G. Berger, "NRF2 modulates sensitivity to thymidylate synthase inhibitors in colon cancer cells" 105th AACR Kongresi, San Diego 74 (19 suppl), Cancer Res (2014).
5. Ozer, U., F.G., Berger, K.W., Barbour, "A potential source in oxidative cell death mediated by thymidylate synthase inhibitors: NADPH oxidase 2" 105th AACR Kongresi, San Diego 74 (19 suppl), Cancer Res (2014)

SÖZLÜ SUNUMLAR

1. Ozer, U., "Differential oxidative response to fluoropyrimidines in colorectal cancer cell lines" SANKO University Innovation in medicine summit-2, Gaziantep O-36.
2. Ozer, U., "The effect of metal chelators on breast cancer stem cells" 6. Multidisciplinary Cancer Research Congress, Selcuk University, Konya S-001, 41 (S4): 32-33, Turk J Biochem (2016)

HGF (Hepatosit Büyüme Faktörü) ve NCL (Nucleolin) arasındaki ilişkinin kanser hücre migrasyonu üzerine etkilerinin araştırılması

Sunum özet: Nucleolin (NCL), NCL geni tarafından kodlanan çok fonksiyonlu bir proteindir. Çoğunlukla nükleer yerleşim gösteren NCL, ribozom biyosentezi, transkripsiyon, sitokinez, kromatin stabilitesi, hücre canlılığı ve proliferasyon gibi temel hücresel faaliyetlerde hayati bir önem taşımaktadır. Kanserde, bozulmuş ekspresyonu ve değişmiş lokalizasyonu hastalığın kötü seyri ile ilişkilidir. Bu çalışmada, prostat kanserinde NCL'nın Hepatosit Büyüme Faktörü (HGF) ile ilişkisini ve bu ilişkinin kanser hücre migrasyonu üzerine etkilerini incelemeyi amaçladık. Bu amaçla model olarak PC3 prostat kanseri hücre hattı ile diğer bir önemli model olan HEK293 (Human Embryonic Kidney Cells) kullanıldı. HGF muamelesi sonrası fosforile NCL ekspresyonu artarken, hücrelerdeki NCL lokalizasyonu nükleustan sitoplazmaya değişim gösterdi. Belirteç olarak Green Fluorescent Protein (GFP) içeren NCL plazmidi ile transfekte edilen hücreler 16 saat serum açlığına maruz bırakıldıktan sonra HGF ile muamele edildi. Muamele edilen hücrelerde, floresan ve konfokal mikroskop kullanılarak, hücreler arası transferden sorumlu olan

nanotüp (Tunneling NanoTube=TNT) sayısında anlamlı bir artış gösterildi. Bu artışın, HGF muamelesiyle doğru orantılı olduğu saptandı. Bu çalışmalar neticesinde, bundan sonraki amacımız, HGF' in sebep olduğu TNT oluşumunun moleküler mekanizmalarını incelemektir.

SÖZLÜ SUNUMLAR

ORAL PRESENTATIONS

DIĞER
OTHERS

SS - 033

Kardiyovasküler sistem üzerinde etkili ilaçların IRE-JNK yolağı üzerindeki protein-ligand etkileşimlerinin moleküler docking, moleküler dinamik simülasyon ve serbest enerji metoduyla araştırılması

Zekeriya Düzgün, Zuhale Eroğlu

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

Kardiyak hastalıklarda ER stresi sonucu IRE1-JNK yoluğı üzerinden apoptozun tetiklenmesi ile hücre ölümlerinin meydana geldiğı bildirilmiştir. Kardiyovasküler sistem üzerinde etkili olan Statin, ACE inhibitörleri, Aritmi ilaçları ve Flavonoidlerin, IRE1-JNK yoluğı üzerindeki IRE1,ASK1,JNK1 enzimleri ile nasıl bir moleküler etkileşim içine girdikleri tam olarak bilinmemektedir. Çalışmamızda bu ilaç gruplarına ait 43 molekülün IRE1,ASK1,JNK1 enzimleri ile etkileşimleri, enzim inhibitörleri ile karşılaştırmalı olarak, moleküler docking, moleküler dinamik simülasyon ve serbest enerji metoduyla araştırmıştır.

Tüm ilaç molekülleri ve enzim inhibitörlerinin moleküler yapıları PUBCHEM veri bankasından temin edilmiştir. İnsan IRE1,ASK1,JNK1 enzimlerinin XRAY kristalografik yapıları protein databanktan(rcsb.org) temin edilmiştir. Protein yapılarıdaki kayıp residüler MODELLER programı kullanılarak eklenmiştir. Autodock4, Autodock Vina,iGEMDOCK, ve GOLD ile dört farklı hesaplama algoritması kullanılarak karşılaştırmalı olarak moleküler docking(moleküler yanaştırma) hesaplamaları gerçekleştirilmiştir. Her bir ilaç grubunda en yüksek afiniteye sahip molekül için moleküler dinamik simülasyon işlemleri GROMACS 5.1.4, serbest enerji hesaplamaları ise MM/PBSA metodu ile hesaplanmıştır. Yapılan moleküler docking hesaplamaları sonucunda Amiodarone, Atorvastatin, Pitavastatin, Fosinopril ve Luteolin kendi ilaç gruplarında en yüksek bağlanma afinitelerine sahip moleküller olarak dikkat çekmiştir. Atorvastatinin, IRE1 ve JNK1’de sırayla-421,715 ve-339,247kJ/mol toplam enerjile bağlandığı hesaplanırken sülfanamid inhibitörünün IRE1 ile-317.62; SP600125 inhibitörünün JNK1 ile-205.98kJ/mol ile daha düşük afinite ile bağlandıkları gösterilmiştir.

Deneyisel çalışmaların Atorvastatin ve Pitavastatin'in JNK1 fosforilasyonunu azaltıcı etkiye sahip olduğunu ve ER stresi bağımlı apoptozun inhibisyonunda etkili olduklarını göstermiş olması çalışmamızı desteklemektedir. Flavonoidler IRE1-JNK yolağında zayıf etkileşime sahipken Statinler JNK1 üzerinde en güçlü inhibitör aktiviteye sahip moleküller olarak dikkat çekmiştir. Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz bulguların ileri deneyel çalışmalar ve ER stresi hedefli ilaç araştırmalarında yardımcı olacağını düşünüyoruz.

Molecular docking, molecular dynamics simulation and free energy calculation studies of protein-ligand interactions on IRE-JNK pathway of Drugs acting on the cardiovascular system

Zekeriya Düzgün, Zuhal Eroğlu

*Ege University, Medical Faculty, Department of Medical Biology,
Izmir*

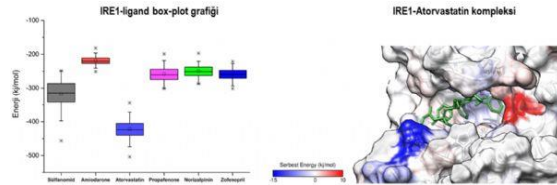
In cardiac diseases, it has been reported that cell death is triggered by the induction of apoptosis via the IRE1-JNK pathway after ER-stress. It is not known how the statin, ACE inhibitors, Arrhythmia drugs and flavonoids that interact with the IRE1, ASK1-JNK1 enzymes are effective on the IRE1-JNK pathway on the cardiovascular system. In our study, the interaction of 43-molecules of these drug groups with IRE1, ASK1, JNK1 enzymes were investigated by molecular docking, molecular-dynamics simulation and free-energy method in comparison with enzyme inhibitors.

Molecular structures of all drug molecules and enzyme inhibitors were obtained from the PUBCHEM-database. XRAY-crystallographic structures of human IRE1, ASK1, JNK1 enzymes were provided by the protein-database (rcsb.org). missing residues of the protein constructs were added using the MODELLER program. Comparative molecular-docking calculations were performed with Autodock4, Autodock-Vina, iGEMDOCK, and GOLD. Molecular-dynamics simulations for the molecule with the highest affinity in each drug group were performed with GROMACS-5.1.4. Free energy calculations are calculated by MM/PBSA method.

As a result of the molecular docking calculations, Amiodarone, Atorvastatin, Pitavastatin, Fosinopril and Luteolin are noted as remarkable molecules with the highest binding affinities in their drug groups. It was calculated that atorvastatin binds with total energy of -421,715 and -339,247 kJ/mol in IRE1 and JNK1, respectively, while the affinity of sulfanamide by IRE1 was calculated as -317.62; affinity of SP600125 with JNK1 was calculated as -205.98 kJ/mol. Experimental studies have shown that atorvastatin and pitavastatin have a reducing effect on JNK1 phosphorylation and are effective in the inhibition of ER stress-induced apoptosis. These evidences support our study.

Findings that we have achieved as a result of our study will help in further experimental studies and ER stress targeted drug trials.

IRE1 ligand etkileşimlerinin bağlanma serbest enerjileri
The binding free energies of IRE1 ligand interactions



IRE1 ve küçük molekül etkileşiminde Van der Waals ve elektrostatik etkileşimler toplamı dikkate alındığında Atorvastatinin sülfanomid inhibitöründen daha yüksek afiniteye sahip olduğu hesaplanarak potent bir ire1 kinaz inhibitörü olabileceği gösterilmiştir.

Considering the sum of Van der Waals and electrostatic interactions between IRE1 and small molecules, Atorvastatin that calculated to have a higher affinity than the sulphanomide inhibitor is thought to be a potent inhibitor of ire1 kinase.

SS - 049

CXCL10 ekspresyon düzeylerinin düzenlenmesi ve CXCL10 polimorfizmleri ile hastalık ilişkileri

Hayriye Şentürk Çiftçi¹, Meltem Savran Karadeniz²,
Fatma Savran Oğuz¹, Mehmet Tevfik Dorak³

¹*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

²*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

³*Liverpool Hope Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Liverpool*

Kemokin proteinlerinden CXCL10, otoimmün hastalıklar, transplantasyon, enfeksiyon hastalıkları ve kanserde fizyolojik rollere sahiptir. Bu çalışmada, CXCL10'nun ekspresyon düzenlenmesini (eQTL etkileri ve mikro RNA'lar"miRNA'lar") ve CXCL10 ve bu geni hedefleyen miRNA'ların polimorfizmlerinin ve CXCL10 için eQTL/meQTL etkisi gösteren polimorfizmlerin hastalıklarla ilişkisini inceledik. Co-Regülasyon Veritabanı (CORD), CXCL10 ile ortak eksprese olan 182 gen olduğunu gösterdi. Bunlara, CXCL10 çevresindeki diğer beş CXCL geni ve HLA-DRA/DQA1/DPA1 dahil olmak üzere on MHC geni dahildi. En anlamlı co-ekspresyon paterni dalakta belirlendi. Gene Set Enrichment Analysis (GSEA)/MSigDB programı ortak eksprese edilen bu gen setlerinin, meme ve prostat kanserinde, bağışıklık ve inflamatuvar cevapta ve interferon ve regulator T hücrelerine cevapla ilişkili olabileceği gösterdi (FDR<1E-50). Ortak ifade edilen gen seti herhangi bir miRNA'nın ortak hedefleri için zenginleşme göstermedi. CXCL10'u hedefleyen 80 miRNA'nın TargetScan programını kullanarak diğer hedef genlerini belirleyip hedef genleri GSEA analizine tabi tutunca miRNA'ların CXCL10 ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını düşündüren bir sonuç elde etmedik. Bu miRNA'ların her birinin DNA dizilim polimorfizmleri genome-wide association studies (GWAS) veri tabanılarında araştırılınca otoimmün hastalıklar (romatoid artrit, ankilozan spondilit, Chron hastalığı, sedef hastalığı, multiple skleroz, tip 1 diyabet, myastenia gravis) ve alerji/astım ile ilişkili bulundu (p<1E-04). CXCL10 geni içindeki polimorfizmler GWAS ilişkisi göstermedi ama CXCL10 için kanda eQTL/meQTL etkisi gösteren polimorfizmler yaşlanma ve meme kanseri ile GWAS ilişkisi gösterdi (p<1E-04). Dolayısıyla, CXCL10 ekspresyonunun düzenlenmesinde miRNA aracılığı ile ilgili bir bulgu bulmamamıza karşın miRNA'ya yakın polimorfizmlerin inflamatuvar ve immün bozukluklarla genetik ilişkileri olduğunu saptadık. Sonuç olarak, CXCL10'un otoimmünite, inflamasyon ve muhtemelen kanserdeki rolünün transplantasyondan daha güçlü olduğu sonucuna vardık.

Examination of the regulation of CXCL10 expression, and CXCL10 DNA Sequence variation and disease associations

Hayriye Şentürk Çiftçi¹, Meltem Savran Karadeniz²,
Fatma Savran Oğuz¹, Mehmet Tefvik Dorak³

¹*Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul*

²Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Anesthesia, Istanbul

³Liverpool Hope University, School of Health Sciences, Liverpool

One of the chemokine proteins, CXCL10 appears to be pleiotropic with effects in autoimmune diseases, transplantation, infectious diseases and cancer. We examined the regulation of expression of CXCL10 (eQTL effects and microRNAs (miRNAs); co-regulated gene sets) and disease associations of CXCL10 sequence variants, eQTLs/meQTLs for CXCL10 together with related miRNA variants to learn about its pathophysiological roles. The CO-Regulation Database identified 182 concordantly co-expressed genes, including HLA-DRA/DQA1/DPA1. The most significant co-expression pattern was noted in the spleen. The gene set enrichment analysis of the co-expressed gene set on the GSEA/MSigDB tool suggested enrichment of genes involved in breast and prostate cancers, immune and inflammatory response and response to regulatory T cells (FDR<1E-50). The co-expressed gene set did not have enrichment for common targets of any miRNA. We determined their other target genes using TargetScan. Eighty miRNAs were identified. The targets of each miRNA were subjected to the same GSEA analysis. Examination of disease associations of SNPs from each miRNA gene region in GWAS databases yielded results for autoimmune (RA, AS, CD, Psoriasis) and for MS, T1D, MG, GD and allergy/asthma at $P < 1E-04$. SNPs acting as eQTL/meQTL in blood for CXCL10 showed GWAS associations with aging and breast cancer ($P < 1E-04$). We did not find strong evidence for miRNA-mediated CXCL10 expression. The variants near miRNAs showed stronger genetic associations with inflammatory and immune disorders. We conclude that the role played by CXCL10 is stronger in autoimmunity, inflammation and possibly cancer than in transplantation.

SS - 065

Nanohemoglobin-süperoksiz dismutaz-katalaz-karbonik anhidraz-2,3-difosfoglisarat: Hem oksijen ve karbondioksidi taşıyabilen hemde antioksidan olarak etki gösteren yeni biyoteknoloji temelli yapay kan

Adnan Ayhancı¹, Arzu Ersöz², Özgün Teksoy¹, Sibel Güneş³

¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Meşelik, Eskişehir/Türkiye

²Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Meşelik, Eskişehir/Türkiye

³Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, SHMYO Yaşlı Bakım Programı, Meşelik, Eskişehir/Türkiye

Hemoglobin bazlı oksijen taşıyıcıları (HBOCs) bir alternatif transfüzyon için geliştirildi, çünkü transfüzyonda olası enfeksiyon, hatalı kan eşleşmeleri ve kısa depolama süresi gibi nedenler problem oluşturmaktadır. Günümüzde “hemoglobin bazlı yapay kan”, klinikte yapay kan sınıfını temsil etmekte; akut hemoglobin yetersizliği ve cerrahi operasyonlarda kan naklinin önüne geçmek amacıyla tedavi amaçlı olarak kullanılabilmektedir. Bu araştırma kapsamında; ana unsur olarak hemoglobin proteininin herhangi bir organik modifikasyona uğratılmaksızın, fotoduyarlı yolla çapraz bağlandığı, 100 nm ve aşağı boyutlarda, oksijen taşıyıcı kopolimerik nanosistemler sentezlenmesi ve sentetik olarak elde edeceğimiz hemoglobinin nanopartiküllerini içeren dispers sıvıyı akut hemorajik şok oluşturulmuş sıçanlara vererek hemorajik şok nedeni iskemiyi ve doku hasarını önlemeyi amaçladık.

Bu amaç dahilinde; rekombinant hemoglobin geliştirilmesi, insan ve sığır hemoglobininin yapısal benzerliğinden hareketle yüksek saflıkta sığır hemoglobini saflaştırılması ve bunların kullanılmasıyla dimerik yapıya dönüşmeden tetramerik yapının korunduğu, yeni ve özgün, kopolimerik nano-hemoglobin (nanoHb) sistemleri sentezi, şok anlarında hızlı oksijen ihtiyacı için ekstra HEME eklenmemiş nanoHb sentezlenmesi, 2,3-difosfoglisarat (2,3-DPG) eklenmemiş DPG-nanoHb, eş zamanlı karbondioksiti, süperoksit ve hidrojen peroksiti katalizleyebilecek karbonik anhidraz (CA), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzimlerin eklenildiği çoklu enzim nanoHb sistemlerinin geliştirilmesi ve tüm bu hemoglobin tabanlı nanosistemlerin, yapay kan olarak kullanılabilirliklerinin elektrokimyasal ve moleküler spektroskopi yöntemlerinin yanı sıra sıçanlarda *in vivo* olarak başarılı bulunması ürettiğimiz yapay kanın gelecekte klinikte kullanılabilceği yönündeki düşüncelerimizi güçlendirmektedir.

Nanohemoglobin-Superoxide, Dismutase-Catalase-Carbonic Anhydrase-2,3-Diphosphoglycerate: New biotechnology-based artificial blood capable of carrying both oxygen and carbon dioxide and of functioning as an antioxidant

Adnan Ayhanci¹, Arzu Ersoz², Ozgun Teksoy¹, Sibel Gunes³

¹Eskisehir Osmangazi University, Faculty of Arts and Science,
Department of Biology, Meşelik, Eskisehir/Türkiye

²Anadolu University, Faculty of Arts and Science, Department of Chemistry. Tepebaşı, Eskişehir/Türkiye

³Eskisehir Osmangazi University, School of health service, geriatric care program. Meşelik, Eskisehir/Türkiye

Some hemoglobin-based oxygen carriers (HBOCs) were developed for an alternative transfusion process, because such factors as possible infections, incorrect blood matchings and short storing periods may cause problems. Today, hemoglobin-based artificial blood accounts for clinically achieved artificial blood. It is used for healing purposes in acute hemoglobin deficiency and surgical operations in order to prevent blood transfusion. The present study aims to prevent ischemia and tissue damage due to hemorrhagic shock in rats in which a hemorrhagic shock was induced. This was achieved by injecting the animals some disperse fluid that contained hemoglobin nanoparticles to be obtained synthetically. Care was given to ensure that the hemoglobin protein did not undergo any organic modification, and that it synthesized oxygen-carrying copolymeric nanosystems in the size of 100 nm and lower dimensions in which it achieved a photosensitive cross-linking.

Our study results gain support by the fact that recombinant hemoglobin was achieved, and that high levels of purification was accomplished in cattle hemoglobin due to the structural similarity of human hemoglobin to that of cattle in which the tetrameric structure was saved without converting to a dimeric structure. Also, new and original co-polymeric nano-hemoglobin (nanoHb) system synthesis was achieved, apart from synthesizing of extra HEME-articulated nanoHb to meet the need for oxygen in cases of shock. We also developed multi-enzyme nanoHn systems in which 2,3-difosfoglycerate-articulated (2,3-DPG) DPG-nanoHb, as well as carbonic anhydrase (CA), superoxide dismutase (SOD) and catalases (CAT) enzyme-articulated nanoHb systems through which carbon dioxide, superoxide and hydrogen peroxide could be simultaneously catalyzed. Utility of all these hemoglobin-based nanosystems as artificial blood was evidenced by electrochemical and molecular spectroscopy methods, as well as their successful results observed in rats through in-vivo studies. Our study results lead us to the conclusion that the artificial blood we harvested could be used safely in clinics in the future.

TCCAGG COTGAA TCCAGG COTGAA
AACGGG AAGGGA AACGGG AAGGGA
AGGTTT AAGGGA AGGTTT AAGGGA
GAGTGA ATTGAG GAGTGA ATTGAG
TAAATTA ATTGAG TAAATTA ATTGAG
CAGTATATTC CAGTATATTC
ACACATATTC ACACATATTC
GAGTTT GAGTTT
ATAGAGTTG ATAGAGTTG
AAGGTTT AAGGTTT
AGGTTT AAGGTTT
CTGTTT CTGTTT
CTGTTT CTGTTT
GCTTAT GCTTAT

ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



EPIGENETİK *EPIGENETİ*

SS - 023

IgA Nefropatisinde COSMC Gen DNA Metilasyon Profili ve Ekspresyon düzeyinin araştırılması

Sebahat Usta Akgül¹, Çiğdem Kekik Çınar¹, Yaşar Kerem Çalışkan², Egemen Cebeci³, Erol Demir², Sonay Temurhan¹, Filiz Aydın¹, Fatma Savran Oğuz¹

¹*İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul*

²*İstanbul Tıp Fakültesi, Nefroloji Bilim Dalı, İstanbul*

³Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nefroloji Kliniği, İstanbul

Amaç: IgA nefropatisi (IgAN), son dönem böbrek yetmezliğine (SDBY) yol açan en yaygın glomerüler hastalıklardan biridir. Hastalığın patogenezinde artmış galaktozillenmesi yetersiz IgA1 (GdIgA1) rol oyar. COSMC, C1GALT1 enzimi ile birlikte IgA1'in glikolizasyonunda rol oynayan moleküler bir şaperondur. Bu çalışmada COSMC promoter CpG adalarının metilasyon seviyesi ile GdIgA1 düzeyi ve COSMC ekspresyonu arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya biyopsi ile yeni tanı almış ve tedaviye başlamamış 30 IgAN hastası, 11 sağlıklı hasta yakını ve 6 sağlıklı birey dahil edildi. B-lenfositleri üç farklı grupta DNA metilasyonunu modifiye edici ajanlarla kültüre edildi (Grup I: muamele edilmemiş, Grup II: IL-4, Grup III: 5-Aza-2 'deoksisitidin (AZA)). COSMC promoter DNA metilasyonu ve aynı genin ekspresyon düzeyi RT-PCR yöntemi ile serum ve hücre kültür süpernatantındaki GdIgA1 düzeyi ELİSA yöntemiyle çalışıldı

Bulgular: IgAN hastalarında serum GdIgA1 seviyesi diğer gruplara göre belirgin olarak yükseldi ($p<0.0001$). Çalışma gruplarının tedavi edilmemiş lenfositleri arasında COSMC promoter DNA metilasyon seviyeleri arasında anlamlı farklılık görülmedi ($p>0.05$). IgAN hastalarında COSMC mRNA seviyesi diğer iki gruba göre daha düşüktü ($p<0.0001$). Demetilasyon ajanı AZA ile tedavi edilen IgAN lenfositlerinde COSMC metilasyon seviyesi ($p=0.019$) ve kültür süpernatant GdIgA1 seviyesi ($p<0.0001$) başlangıça göre anlamlı olarak azalırken, COSMC mRNA seviyesi arttı ($p<0.0001$). Metilasyonu artırdığı bilinen IL-4 ile tedavi edilen grupta, COSMC DNA metilasyonundaki artış sınırlı olmasına rağmen IgAN lenfositlerinde COSMC mRNA seviyesi başlangıça göre azaldığı ($p=0.004$), süpernatant GdIgA1 seviyesindeki artışın sınırlı kaldığı görüldü ($p>0.05$).

Sonuç: Bulgularımız, IgAN hastalarında COSMC gen promotor hipermetilasyonunun düşük COSMC mRNA seviyesine neden olabilecek bir mekanizma olabileceğini desteklemek ve hastalığın patogenezini hakkında bilgi verici nitelikte olduğu düşünülmektedir.

Investigation of COSMC Gene DNA Methylation Profile and Expression Level in IgA Nephropathy

Sebahat Usta Akgül¹, Çiğdem Kekik Çınar¹, Yaşar Kerem Çalışkan², Egemen Cebeci³, Erol Demir², Sonay Temurhan¹, Filiz Aydın¹, Fatma Savran Oğuz¹

¹*Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul*

²*Istanbul Faculty of Medicine, Department of Nephrology, Istanbul*

³Haseki Training and Research Hospital, Nephrology Clinic, Istanbul

Objective: IgA nephropathy (IgAN) is a glomerular diseases that cause end-stage renal disease. COSMC, is a molecular chaperone in IgA1 glycosylation, together with C1GALT1. Inadequate galactosylation of IgA1 leads to galactose-deficient IgA1(GdIgA1). This study aimed to demonstrate the relationship between COSMC gene promoter methylation with COSMC mRNA and GdIgA1 level.

Materials-Methods: Thirty patients diagnosed as having IgAN after biopsy, and didn't treat, 11 healthy first degree relatives of the patients, and 6 healthy individuals were included in the study. B-lymphocytes were cultured in three different groups with DNA methylation modifying agents (blank, IL-4, 5-Aza-2'-deoxycytidine(AZA)). The COSMC gene DNA methylation and expression level were studied using RT-PCR, and the GdIgA1 level in serum and cell culture supernatant was studied using ELISA.

Results: Serum GdIgA1 level in IgAN group was detected significantly higher ($p < 0.0001$) compared with other groups. COSMC promoter DNA methylation rate in untreated lymphocytes from study groups were not significantly ($p > 0.05$). COSMC mRNA level in IgAN group was found significantly lower compared with other groups ($p < 0.0001$). COSMC methylation and culture supernatant GdIgA1 level, in the IgAN lymphocytes which were treated by demethylation agent AZA, decreased significantly comparing to baseline, but COSMC mRNA level increased. Increase of COSMC DNA methylation and supernatant GdIgA1 level were limited, and COSMC mRNA level in the IgAN lymphocytes was decreased compared to nontreated group, in the IL-4 group

Conclusion: Our findings support that hypermethylation of COSMC gene promoter methylation was associated with low COSMC mRNA expression level and it is believed these findings are informative about pathogenesis of the disease.

SS - 024

BIBR1532 ve rapamisin kombinasyon tedavisi ile meme kanseri kök hücrelerine epigenetik bakış

Fatma Doğan, Bakiye Göker Bağca, Cumhuriyet Gündüz, Çığır
Biraz Avcı

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Amaç: Tümör hücrelerinin alt popülasyonunu oluşturan kanser kök hücreleri (KKH) normal kök hücreler gibi kendilerini yenileyebilme, proliferasyon, farklılaşma yeteneğine sahiptir. Bu nedenle KKH' leri kanser tedavisinde yeni bir yaklaşım olarak düşünülmektedir. Diğer yandan hTERT aşırı aktivasyonu KKH' lerine replikatif özellik ve ölümsüzlük sağlamaktadır. BIBR1532 keşfedildiğinden beri hTERT' in oldukça seçici bir inhibitörü olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı in vitroda Rapamisin ve BIBR1532 kombinasyonunun Meme Kanseri Kök Hücrelerinde (MKKH) İnsan Epigenetik Kromatin Modifikasyon Enzimlerinin (Qiagen PAHS-0852F) etkisinin incelenmesidir. Çalışmada iki ajanın MKKH' sindeki sitotoksik, apoptotik etkilerinin, ajan uygulanmamış kontrol gruplarıyla karşılaştırılarak araştırılması da amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem / Bulgular: WST1 ile sitotoksite belirlendi, apoptoz için Annexin V-FITC kullanıldı. Rapamisin ve BIBR1532' nin 48. saatte IC₅₀ dozu sırasıyla 7,87 nM and 23 µM olarak tespit edildi. Kombinasyon denemeleri sonucunda, iki ajan birlikte kullanıldığında apoptotik etkilerinin belirgin şekilde arttığı ve kombinasyonun kontrole göre 4,79 kat arttığı gözlemlendi. Gen ekspresyonu çalışmamız, DNMT1, HDAC4, AURKA gibi genlerin ekspresyon düzeylerinde önemli değişiklikler olduğunu gösterdi. BIBR1532 ajanı, hTERT aktivitesini kontrol grubuna kıyasla azalttı. Buna ek olarak, Rapamisin ve BIBR1532 kombinasyonu sadece BIBR1532 uygulamasına kıyasla hTERT aktivitesini daha da azalttı.

Sonuç: Sonuç olarak, BIBR1532 ve Rapamisin kombinasyonunun MKKH' sinde epigenetik mekanizmalar üzerinde önemli etkileri olabileceğini düşünmekteyiz.

Epigenetic perspective to breast cancer stem cells by BIBR1532 and rapamycin combination treatment

Fatma Doğan, Bakiye Göker Bağca, Cumhuriyet Gündüz, Çığır
Biray Avcı

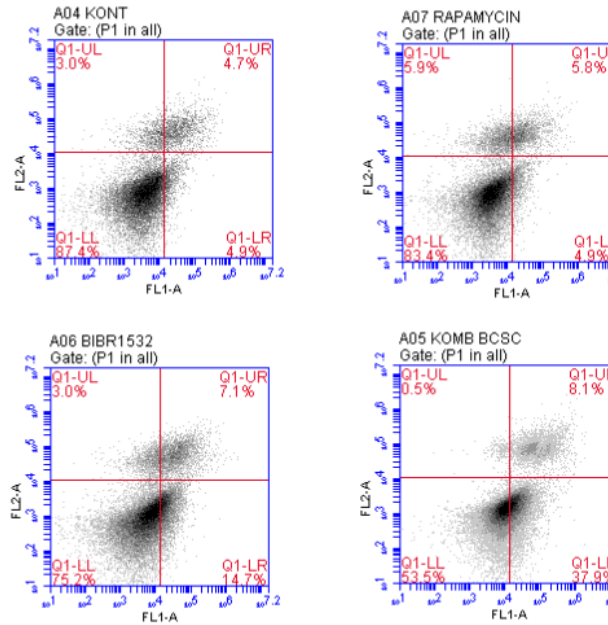
Ege University Faculty of Medicine Department of Medical Biology

Objective: Cancer stem cells (CSCs), which are defined as a subset of tumor cells, are able to self-renew, proliferate, differentiate similar to normal stem cells. Therefore, targeting CSCs has been considered as a new approach in cancer therapy. Besides, hTERT over-activation provides replicative feature and immortality to CSCs, so the stemness and replicative properties of CSCs depend on telomerase activity. BIBR1532 has been used as a quite effective inhibitor of hTERT since the day it was discovered. It is known that mTOR regulates telomerase activity at the translational and post-translational level. Aim of this study is to find out the effects of Rapamycin and BIBR1532 on Human Epigenetic Chromatin Modification Enzymes (Qiagen PAHS-085ZF) on Breast Cancer Stem Cells (BCSCs). In this study, we aimed to investigate the cytotoxic, apoptotic effects of these two promising agents on BCSCs compared to the untreated control group.

Materials-Methods/Results: The IC₅₀ doses of Rapamycin and BIBR1532 were detected as 7.87 nM and 23 μM, respectively for in 48th hour on BCSCs. Combination trials have shown that when two agents are used together, their apoptotic effects are increased remarkably (Annexin V-FITC) and combination increased apoptosis 4,79 fold compared to control. Also significant changes in expression levels of the genes such as DNMT1, HDAC4, AURKA. BIBR1532 reduced hTERT activity compared to control group. In addition Rapamycin and BIBR1532 further reduced hTERT activity compared to only BIBR1532 treatment.

Conclusion: Consequently, we thought that treatment of BIBR1532 and Rapamycin might have crucial effects on epigenetic mechanisms targeting for BCSCs.

Şekil 1 / Figure 1



Kombinasyon apoptozu kontrole görev4.79 kat arttırdı. Diğer yandan kombinasyon iki ajanın tek tek uygulanmasına göre daha fazla apoptozu indükledi.

The combination increased the apoptosis 4.79 fold compared to control. On the other hand, the combination induced more apoptosis than when the two agents were treated individually.

Kombinasyon Uygulanan MKKH' sinin Gen Ekspresyon analizi

Gen	Fonksiyonu	Gen ifade değişikliği
DNMT1	DNA metil transferaz 1 (DNMT1), tümör supresör genidir ve metilasyonun, tümörün sürdürülebilirliği için gereklidir. DNMT1 tümör büyümesini inhibe eder, p53'ün aktivasyonunu artırır ve dolayısıyla apoptozu indükler. Kombinasyon uygulanan MKKH' leri, kontrol hücreleriyle karşılaştırıldığında DNMT1 ekspresyonunun 3,8940 kat (2ΔΔCT) arttığı gözlemlendi.	Artış
AURKA	Hücre döngüsü kinazı Aurora kinase A (AURKA) bir serin / threonin protein kinaz 6'dır ve mitozdaki hücreler için önemlidir. AURKA'nın gen amplifikasyonu, yükseltilmiş mRNA ekspresyonu ve protein aşırı ifadesi nöroendokrin prostat kanseri, bazal benzeri göğüs kanseri, göğüs kanseri kök hücreleri gibi birçok solid tümörde sık görülür.	Azalış
DNMT3A	DNA metil transferaz 3 alfa (DNMT3A), sürdürülebilir metilasyondan ziyade, de novo metilasyonda işlev gördüğü düşünülen bir DNA metil transferazını kodlar. Memeli gelişimi için DNA metilasyonu gereklidir. Yapılan çalışmalar, kronik lenfositik lösemi, akut miyeloid lösemide ve diğer hematolojik malignitelerde Dnmt3a'nın inaktivasyonu göstermiştir. Dolayısıyla, DNMT3A fonksiyonunun kaybı, tümörigenez ile ilişkilidir.	Artış
HDAC6	Histon deasetilaz 6 (HDAC6) transkripsiyonel regülasyon, hücre döngüsü ilerlemesi ve gelişimsel olaylarda kritik bir rol oynamaktadır. HDAC6 mRNA meme kanseri hastalarında belirgin olarak daha yüksek seviyelerde eksprese edilmektedir. HDAC6 deasetilatlar meme kanseri büyümesini düzenlemektedir.	Azalış
HDAC7	Histone deasetilaz 7 (HDAC7), kök hücre olmayan tümör hücreleri ile karşılaştırıldığında KKH'lerinde spesifik olarak aşırı eksprese edilmektedir.	Azalış

Gene Expression Analysis of Combination treated MKKH

Gene	Function	Significantly Expression Changes
DNMT1	DNA methyltransferase1 (DNMT1) is tumor suppressor gene and essential for sustainability methylation, maintenance tumorigenesis. DNMT1 inhibits tumor growth, increases activation of p53 hence induces apoptosis in. Our result showed that DNMT1 overexpression as 3,8940 fold (2ΔΔCT value) compared to control cells.	Increase
AURKA	Cell cycle kinase Aurora kinase A (AURKA) is serin/threonin protein kinase 6 and important for cellular functions in mitosis. Gene amplification, elevated mRNA expression and protein overexpression of AURKA are common in many types of solid tumor such as neuroendocrine prostate cancer, basal-like breast cancer, breast cancer stem cells.	Decrease
DNMT3A	DNA methyltransferase 3 alpha (DNMT3A) encodes a DNA methyltransferase that is thought to function in de novo methylation, rather than maintenance methylation. DNA methylation is required for mammalian development and studies have shown that inactivation of Dnmt3a in chronic lymphocytic leukemia and acute myeloid leukemia and other hematological malignancies. So loss of DNMT3A function is a correlated with tumorigenesis.	Increase
HDAC6	Histone deacetylase 6 (HDAC6) play a critical role in transcriptional regulation, cell cycle progression, and developmental events. HDAC6 mRNA was expressed at significantly higher levels in breast cancer patients also HDAC6 deacetylates regulate breast cancer growth.	Decrease
HDAC7	Histone deacetylase 7 (HDAC7), are specifically over-expressed in CSCs when compared to non-stem-tumour-cells.	Decrease

SS - 025

Oligozospermik erkeklerde *mlh1* ve *msh2* genleri promotor metilasyonu ve reaktif oksijen türleri arasındaki ilişki-pilot çalışma

Sezgin Gunes¹, Ashok Agarwal², Ralf Henkel³, Asli Metin Mahmutoğlu¹, Rakesh Sharma³, Sandro C. Esteves⁴, Abdurrahman Aljowair⁵, Dilara Emirzeoglu⁶, Abdullah Alkhani⁵, Luisa Pelegrini⁸, Ahmad Jourmah⁷, Edmund Sabanegh⁹

¹*Tıbbi Biyoloji, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Türkiye*

²American Center for Reproductive Medicine, Cleveland Clinic, OH, ABD

³*Medical Bioscience, University of Western Cape, Güney Afrika*

⁴ANDROFERT, Andrology and Human Reproduction Clinic, Campinas, SP, Brazil

⁵Prince Sattam bin Abdulaziz University, Suudi Arabistan

⁶*Moleküler Tıp, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Türkiye*

⁷*Alfaisal University, Suudi Arabistan*

⁸University of Sao Paulo, Brezilya

⁹*Urology, Cleveland Clinic, OH, ABD*

Amaç: MLH1 ve MSH2 yanlış eşleşme onarımı ve mayotik krossover için önemli genlerdir. Yapılan çalışmalar, bu genler ile erkek infertilitesi arasında bir ilişki olduğu belirtildiğinden dolayı, oligozoospermik erkeklerde MLH1 ve MSH2 genlerinin metilasyon durumlarını araştırdık. **Gereç-Yöntem:** Bu çalışmaya 10 oligozoospermik hasta ve 29 normozoospermik erkek donör kontrol grubu olarak dahil edildi. MLH1 ve MSH2 genlerinin promotor bölgelerinin metilasyon profilleri incelendi. Sperm hareketliliği ve seminal reaktif oksijen türleri (ROS) seviyesi belirlendi. Oligozoospermik ve normozoospermik erkekler arasında MLH1 ve MSH2 genlerindeki metilasyon farklılıkları ROC analize ile değerlendirildi.

Bulgular: MLH1 geni metilasyonun, oligozospermik erkeklerin normozospermik erkeklerle karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü ($P=0,0013$). Ayrıca, MLH1 geni metilasyonu ile seminal ROS seviyesi arasında anlamlı düzeyde pozitif bir ilişki bulundu ($r=0,384$; $P=0,0159$). Buna karşın MSH2 geni metilasyonu ve oligozospermi arasında bir ilişki bulunmadı. MLH1 geni metilasyon durumu için ROC analizi anlamlı düzeyde farklılık gösterdi ($P=0,0275$). ROC eğrisi altında kalan alan %61,1 olarak bulunurken, duyarlılık ve özgüllük ise sırasıyla %22,2 ve %100 olarak belirlendi.

Sonuç: Bulgularımız MLH1 geni promotor metilasyonunun idiyopatik oligozospermide sperm DNA zincirindeki yanlış eşleşmelerin onarımında ve azalan kiazma oluşumunda rolü olabileceğini göstermektedir.

Association between promoter methylation of MLH1 and MSH2 and reactive oxygen species in oligozoospermic men – a pilot study

Sezgin Gunes¹, Ashok Agarwal², Ralf Henkel³, Aslı Metin Mahmutoğlu¹, Rakesh Sharma³, Sandro C. Esteves⁴, Abdurrahman Aljowair⁵, Dilara Emirzeoglu⁶, Abdullah Alkhani⁵, Luisa Pelegrini⁸, Ahmad Joumah⁷, Edmund Sabanegh⁹

¹Medical Biology, Ondokuz Mayıs University, Turkey

²American Center for Reproductive Medicine, Cleveland Clinic, OH, USA

³Department of Medical Bioscience, University of Western Cape, South Africa

⁴ANDROFERT, Andrology and Human Reproduction Clinic, Campinas, SP, Brazil

⁵Prince Sattam bin Abdulaziz University, Saudi Arabia

⁶Molecular Medicine, Ondokuz Mayıs University, Turkey

⁷Alfaisal University, Saudi Arabia

⁸University of Sao Paulo, Brazil

⁹Department of Urology, Cleveland Clinic, OH USA

Objective: MLH1 and MSH2 are important genes for DNA mismatch repair and crossing over during meiosis. Since an association of these genes in male infertility is implicated, we investigated the methylation patterns of the DNA mismatch repair genes MLH1 and MSH2 in oligozoospermic males.

Materials-Methods: Ten oligozoospermic patients and 29 normozoospermic donors as controls were included in the study. Methylation profiles of the MLH1 and MSH2 promoters were analyzed. In addition, sperm motility and seminal reactive oxygen species (ROS) levels were recorded. Receiver operating characteristic (ROC) analysis was conducted to determine the accuracy of the DNA methylation status of MLH1 and MSH2 genes to distinguish between oligozoospermic and normozoospermic men.

Results: In oligozoospermic men, the MLH1 gene was significantly ($P=0.0013$) more methylated compared to normozoospermic men. Additionally, there was a significant positive association ($r=0.384$; $P=0.0159$) between seminal ROS levels and the MLH1 gene methylation. In contrast, no association between MSH2 gene methylation and oligozoospermia was found. ROC curve analysis for methylation status of MLH1 was significant ($P=0.0275$) with an area under the curve of 61.1%, a sensitivity of 22.2% and a specificity of 100.0%.

Conclusion: The data indicate that methylation of the MLH1 promoter may play a role in repairing relevant mismatches of sperm DNA stands and reduced chiasma formation in idiopathic oligozoospermia.

SS - 031

Antidiyabetik gen terapi ajanı olarak Glukagon Benzeri Peptid-1 ve hücresel transdiferansiyasyon

Mükerrem Hale Taşyürek¹, Hasan Ali Altunbaş², Salih Şanlıoğlu¹

¹Gen ve Hücre Tedavi Merkezi, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, Türkiye, 07058

²İç Hastalıkları AD, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları
BD, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, Türkiye, 07058

Tip 2 diyabet (T2DM) hastalığının tedavisi glikemik kontrol sağlayan ilaçlarla tam olarak sağlanamadığından, glukoz indüklük insülin sentezini arttırıcı, beta hücre replikasyon ve adacık neogenezini indükleyici ve adacık hücrelerini apoptozisten koruyucu tedavi stratejileri geliştirilmektedir[1, 2]. T2DM hastalarında inkretinlerin (Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1)) normal bireylere göre %50 oranında azaldığı tespit edilmiştir [3]. Bu doğrultuda; GLP-1 gen nakli yoluyla inkretin yetmezliğinin giderilmesine yönelik çalışmamızda uzun süreli, kalıcı gen ekspresyonu yapabilme yeteneğine sahip lentiviruslarla T2DM sıçan modelinde GLP-1 gen naklinin terapötik etkilerini araştırmayı hedefledik. Öncelikle insülin sinyal peptidi ve furin kesim bölgeleri de eklendiği GLP-1 gen sekansı sentetik çift zincirli DNA olarak sentezlettirildi. Tasarlanan sekansın TOPO-TA klonlama stratejisiyle giriş vektörüne klonlanmasıyla oluşturulan giriş vektörü, Gateway Teknolojisi yardımıyla destinasyon vektörüyle rekombine edilerek GLP-1 gen ekspresyon vektörü başarıyla oluşturuldu. Bu vektörün paketleme plazmidleri ile 293T hücrelerine kotransfeksiyonuyla döner hücre kültürü şişelerinde yüksek titrede lentiviruslar(LentiGLP-1) üretildi. Transdükte MIN6 hücrelerinde cAMP üretimindeki ve glukoz indüklük insülin salınımındaki artış ile in vitro fonksiyonelliği analiz edilen lentiviruslarla diyabetik sıçanlara in vivo gen nakil uygulaması gerçekleştirildi. LentiGLP-1 aktarılan diyabetik sıçanların hiperglisemik glukoz seviyelerinin 250 mg/dl'nin altına düştüğü belirlendi. Ayrıca insülin duyarlılık ve glukoz toleranslarında gelişme görülen sıçanlarda plazma trigliserit seviyelerinin normalizasyonu gözlemlendi. Adacık kiteleri ve insülin pozitif hücre oranları incelenen sıçanların diyabetik sıçanlara oranla %45 daha fazla adacık kitlesine sahip olduğu belirlendi. Ek olarak, pankreatik kesitlerin asiner bölgelerinde, adacık olamayacak kadar küçük insülin pozitif hücre kümelerine rastlanarak GLP-1'in pankreas hücreleri üzerinde farklılaştırıcı etkilerine işaret etmektedir[4][5].TÜBİTAK-112S114

Glucagon like peptide-1 as an antidiabetic gene therapy agent inducing transdifferentiation of pancreatic endocrine cells

Mükerrem Hale Taşyürek¹, Hasan Ali Altunbaş², Salih Şanlıoğlu¹

¹Human Gene and Cell Therapy Center, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey, 07058

²Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey, 07058

A definitive treatment for Type-2-diabetes(T2DM) is not possible with drugs designed only to provide glycemic control. Thus; new therapy strategies should be considered to stimulate glucose induced insulin secretion; beta-cell replication and islet neogenesis and as well as protect islet cells from apoptosis. Previous studies suggested that 50% decrease in incretin(GLP-1) gene expression was detected in T2DM patients compared to healthy individuals. Therefore; we aimed to overcome incretin deficiency via lentiviral GLP-1 gene transfer by providing a prolonged expression in a rat model of T2DM. To this end; human GLP-1 gene sequence with insulin signal peptide and furin cleavage sites; has been generated by a DNA synthesizer. An entry vector was constructed by TOPO Cloning. With an LR recombination reaction between entry vector and Gateway destination vector; GLP-1 expression vector was developed. High titered lentiviruses were produced in roller bottles, by cotransfection of packaging plasmids with expression vectors to 293T cells. In vitro functionality of LentiGLP-1 vector was proved by an increase in cAMP production and glucose stimulated insulin secretion in transduced MIN6 pancreatic beta-cells. Previously hyperglycemic diabetic rats exhibit lowered blood glucose levels(<250mg/dl) following in vivo administration of LentiGLP-1. Besides; improved insulin sensitivity and glucose tolerance were observed in treated rats; while triglyceride levels were normalised. Islet cell mass and insulin positive cell assessments revealed 45% increase in islet mass after GLP-1 gene delivery. Additionally, detection of insulin positive cell clusters in aciner regions of pancreatic sections should be considered as an indication of transdifferentiation potential of GLP-1 peptide.TUBITAK-112S114

SS - 032

C57BL/6 farelerde Tip 2 Diyabet gelişim sürecinde TRAIL ligandının ve DR5 ve DcR2 reseptörlerinin baskılandığı, ve TRAIL uygulamasının glukoz toleransını ve insülin dirençliliğini hafiflettiği gözlemlendi

Özlem Yılmaz¹, Ufuk Mert², Hasan Ali Altunbaş³, Asef Moballegh², Ahter Dilşad Şanlıoğlu²

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp fakültesi, Gen ve Hücre Tedavi Merkezi, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Antalya

³Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, Antalya

Antiinflamatuar özelliği kısa bir süre önce tanımlanan TNF ile ilişkili apoptoz-indükleyici ligand'ın (TRAIL), hem Tip 1 Diyabet (T1D) hem de Tip 2 Diyabet'te (T2D) koruyucu etkisi olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda, C57BL/6 farelerde yüksek yağlı diyet yanında kısmi beta hücre hasarı ile oluşturulan Tip 2 Diyabet (T2D) modelinde TRAIL ligandı ve reseptörlerinin diyabet sürecindeki ekspresyon farklılıklarını, ve ekzojen TRAIL uygulamasının özellikle glukoz toleransı ve insülin dirençliliği üzerine etkilerini araştırmayı hedefledik. Çalışmamıza dahil edilen hayvanlar, 8 haftalık olana kadar %5-10 yağ içeren normal yağlı yemle, sonrasında en az 8 hafta süresince, merkezimizde üretilen %60 yağ içerikli yüksek yağlı yemle beslendi. T2D modelinin oluşturulabilmesi için, yağlı beslenme yanında tek doz Streptozotosin uygulaması ile kısmi beta hücre hasarı oluşturuldu. Haftalık kilo ve tokluk kan şekeri takipleri gerçekleştirilen kontrol ve deney gruplarında, farklı aralıklarla intraperitoneal glukoz tolerans testi (IPGTT) ve insülin tolerans testleri (IPITT) uygulandı. TRAIL ligand ve reseptör ekspresyon seviyeleri, pankreas kesitlerinde immünohistokimya yöntemi ile araştırıldı. Hayvanlarda aynı zamanda, sistemik inflamasyon belirteci olarak IL-6 seviyeleri ELISA yöntemi ile belirlendi. Ekzojen TRAIL uygulaması TRAIL kodlayan üçüncü jenerasyon lentiviral vektörler aracılığıyla ve/veya çözülebilir TRAIL kullanılarak gerçekleştirildi. TRAIL ligandı ve DR5 ve DcR2 reseptörlerinin, T2D gelişim sürecinde baskılandığı, bunun yanında ekzojen TRAIL uygulanmasının glukoz toleransı ve insülin duyarlılığını geliştirici etki gösterdiği ve sistemik inflamasyonu baskıladığı gözlemlendi. TRAIL ligandının diyabet gelişim sürecinde baskılanması, TRAIL'in koruyucu rolünü desteklemektedir. Bulgularımız aynı zamanda, ekzojen TRAIL uygulamasının diyabette olası terapötik etkisine işaret etmektedir (Proje No: TÜBİTAK 112S450).

Expression of the TRAIL ligand and DR5 and DcR2 receptors were suppressed through Type 2 Diabetes development, and exogenous TRAIL application improved glucose tolerance and insulin sensitivity in C57BL/6 mice

Özlem Yılmaz¹, Ufuk Mert², Hasan Ali Altunbaş³, Asef Moballegh², Ahter Dilşad Şanlıoğlu²

¹Center for Gene and Cell Therapy, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

²Department of Medical Biology and Genetic, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

³*Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey*

TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL), known for its recently identified antiinflammatory effect, is thought to play a protective role in both Type 1 (T1D) and Type 2 Diabetes (T2D). In our study, we aimed to detect the alterations in the expression levels of TRAIL ligand and receptors throughout diabetes development along with the effects of exogenous TRAIL treatment on glucose intolerance and insulin resistance in C57BL/6 mice models, constituted via a high fat diet and partial beta cell damage. Mice were fed with a normal diet (5-10% fat) until 8 weeks of age, followed by a high fat diet (60% fat) for at least 8 weeks. Single dose Streptozotocin was used for partial beta cell damage to constitute the T2D model. Weekly measurements of weight and non-fasting blood glucose were performed in experimental and control groups, along with intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) and intraperitoneal insulin tolerance tests (IPIIT) at certain intervals. TRAIL ligand and receptor expression levels were investigated in pancreas sections by immunohistochemistry. IL-6 levels were detected by ELISA, to assess systemic inflammation. Exogenous TRAIL application was performed by third generation lentiviral vectors and/or soluble TRAIL. TRAIL ligand and DR5 and DcR2 receptors were suppressed throughout T2D development, and exogenous TRAIL treatment improved glucose tolerance and insulin resistance, while suppressing systemic inflammation. Suppression of the TRAIL ligand throughout diabetes development supports the presumed protective role of TRAIL. Our results also refer to a possible therapeutic effect of TRAIL in diabetes(TUBITAK 112S450).

Bu çalışma TÜBİTAK-112S450 proje numarası ile finansal olarak desteklenmektedir.

TCCAGG COTGAA TCCAGG COTGAA
AACGGG AACGGG AACGGG AACGGG
AGGTTA AGGTTA AGGTTA AGGTTA
GGAAGA GGAAGA GGAAGA GGAAGA
TAAAGA TAAAGA TAAAGA TAAAGA
CAGTATAT CAGTATAT CAGTATAT CAGTATAT
ACACATAT ACACATAT ACACATAT ACACATAT
GAGTTG GAGTTG GAGTTG GAGTTG
ATAGAGTG ATAGAGTG ATAGAGTG ATAGAGTG
AGAGTA AGAGTA AGAGTA AGAGTA
AGGTTT AGGTTT AGGTTT AGGTTT
CTTGA CTTGA CTTGA CTTGA
AGGTA AGGTA AGGTA AGGTA
GGCTAG GGCTAG GGCTAG GGCTAG

ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



HASTALIKLARIN MOLEKÜLER TEMELİ *MOLECULAR BASIS ON DISEASES*

SS - 011

Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu serum mikroRNA'larında potansiyel Biomarkerler

Çilem Ercan¹, Fahri Akbaş¹, Ahmet Elbay²

¹Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

²Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları
Ana Bilim Dalı, İstanbul

Amaç: Yaşa bağlı maküla dejenerasyonu (AMD), merkezi retinanın ilerleyen kronik bir hastalığı, yaşlanan popülasyonlarda önemli bir sağlık sorunu olup, görme kaybının önde gelen bir nedenidir. Serumda dolaşan mikroRNA'lar birçok hastalık için yeni biyobelirteçler olabildiği gibi, hastalık mekanizmasındaki kilit süreçleri gösterebilir ve yeni tedavi yöntemleri geliştirilmesini destekleyebilir. Bu çalışmanın amacı, miRNA ekspresyon profil analizi ve dolaşımdaki miRNA'ların AMD'deki rolünü ve yollarını araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: AMD hastalarına (n=70) ve kontrol (n=50) grubuna ait serum numunelerinden eksozom elde edilmiştir. Eksozomdan miRNA izolasyonu yapıldıktan sonra miRNA'lar cDNA'ya dönüştürülmüştür. Kontrol ve AMD numunelerinde PCR array yöntemiyle, neovaskülerizasyon ve apoptoz ile ilişkili 175 genin bulunduğu panel ile ekspresyonlar karşılaştırıldı. Daha sonra regülasyonunda anlamlı derecede değişiklik olduğu tespit edilen 6 miRNA'nın validasyonu bireysel numunelerde SYBR Green RT-PCR analizi ile doğrulandı. miRNA'ların hedef genleri ve yolları Enrichment pathway analizi ve DIANA mirPath yazılımı kullanılarak belirlendi.

Sonuç: AMD hasta serumu ve kontrol grubu serumları karşılaştırıldığında 175 gen arasında 17 microRNA'nın ekspresyon seviyesinin anlamlı bir şekilde değiştiği görüldü. miR-595, miR-369-5p, miR-484, miR-635, miR-182-5p, miR-335-5p ve miR-626'nın yüksek miktarda eksprese olduğu, miR-542-5p, miR-132-3p, miR-486- 5p, miR-487b-3p, miR-342-3p, miR-139-5p, miR-489-3p, miR-129-2-3p, miR-885-5p, miR-632 ve miR-873-5p'nin ekspresyonunun ise önemli derecede düştüğü saptandı. Bu miRNA'ların apoptoz ve neovaskülarizasyon yollarında önemli rolünün olduğu belirlendi.

Validasyonu yapılan mikroRNA'lardan; mir-626'nın SLC7 genleri ile, mir129-2-3p ve miR-486- 5p'nin immün sistem ile, mir-885-5p WNT/beta catenin yolağı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Serum MicroRNAs as Potential Biomarkers of AMD

Çilem Ercan¹, Fahri Akbaş¹, Ahmet Elbay²

¹Bezmialem Vakıf University, Medicine Faculty, Department of Medical Biology, İstanbul

²Bezmialem Vakıf University, Medicine Faculty, Department of Eye Diseases, Istanbul

Aim: Age-related macular degeneration is a chronic disease progressive to central retina, a major health problem in aging populations, and a leading cause of visual loss. MicroRNAs circulating in the serum may be novel biomarkers for many diseases, may show key processes in disease mechanism and may support the development of new treatment methods. The purpose of this study is to investigate miRNA expression profile analysis and the role and pathways of circulating miRNAs in AMD.

Material-Method: Exosome was isolated from serum samples of controls (n=70) and patients (n=50), miRNA was extracted from these exosomes and the mature miRNAs were selectively converted into cDNA. Initially, cDNAs obtained from mature miRNAs were pooled, expression of 175 gene regions related to neovascularization and angiogenesis were compared between control and patient samples. Afterwards, the validation of 6 miRNA samples that were observed to have significant changes in expression was performed by SYBR Green quantitative PCR of individual samples. Target genes and pathways of MiRNAs were identified using Enrichment pathway analysis.

Result: Seventeen miRNAs were expressed significantly different in AMD individuals compared to the controls. miR-542-5p, miR-132- 3p, miR-486- 5p, miR-487b-3p, miR-342- 3p, miR-139- 5p, miR-489- 3p, miR-129- 2-3p, miR-632 and miR-873- 5p were downregulated, while miR-595, miR-369- 5p, miR-484, miR-635, miR-182-5p, miR-335- 5p and miR-626 were upregulated. These miRNAs were established to have important roles in apoptosis and neovascularization pathways. From the validated microRNAs; Mir-626 with SLC7 genes, miR129-2-3p and miR-486-5p with the immune system, miR-885-5p WNTbeta catenin pathway.

SS - 012

Berberinin AMP-aktif edilmiş protein kinaz yolağında bulunan seçilmiş genlerin ekspresyon düzeylerine etkisi

Gizem Çelebi, Muhammed Abdülvahid Kalkan, Neslihan Çoban, Bilge Özseit Selçuk, Burçak Vural, Evrim Kömürcü Bayrak

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

Amaç: AMPK-aktif edilmiş protein kinaz (AMPK) enziminin $\gamma 2$ düzenleyici alt ünitesini kodlayan PRKAG2 geninde meydana gelen mutasyonlar, PRKAG2 kardiyomiyopatiye sebep olmaktadır. PRKAG2 yanlış anlamlı E506K mutasyonu proteinin Sistatyonin Beta Sentaz (CBS) alanına etki ederek AMPK aktivasyonunu değiştirmektedir. Berberin bir AMPK aktivatörüdür. Bu çalışmanın amacı mutasyonlu hücrelerde, farklı berberin konsantrasyonlarında AMPK sinyal yolağından seçilmiş genler üzerine etkilerini araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: PRKAG2b E506K mutasyonu, pcDNA3.1/V5HisTOPO ekspresyon vektörü kullanılarak in vitro mutagenез yöntemi ile oluşturuldu. Ardından lipofektamin sistemi ile HEK293 hücrelerine transfekte edildi. Berberin (0,1M ve 0,05M), normal ve mutant PRKAG2 ekspresyon vektörü içeren HEK293 hücrelerine 1 ve 24 saat boyunca uygulandı. Transfekte edilmiş hücrelerdeki PRKAG2, PRKAA2, PRKAB2, PFKM, SLCA5A1, SLCA2A4 ve PFKFB3 gen ekspresyonları SYBR green yöntemi kullanılarak kantitatif gerçek zamanlı PZR ile analiz edildi.

Bulgular: Berberinin düşük dozu (0.05M) 24 saatin sonunda mutant hücrelerdeki PRKAG2 ekspresyonunu 2.5 kat artırırken aynı konsantrasyon PRKAA2 ve PRKAB2 ekspresyonlarını en az 2 kat düşürmektedir. Glikoz metabolizması genleri olan PFKM, SLC5A1 and PFKFB3 ekspresyonları 0.05 M berberin uygulanması sonucu mutant hücrelerde normal hücrelere göre artmıştır (sırasıyla 2.1, 12.3, 1.8 kat). Transfekte hücrelerdeki gen ekspresyonlarının 0.1 M berberin uygulaması sonucunda anlamlı değişimler gözlenmemiştir.

Sonuç: Bu çalışmada, E506K mutant hücrelerinde berberinin AMPK yolağında yer alan glikoz metabolizmasındaki genlerin ekspresyonunu etkilediği belirlenmiştir. Berberinin AMPK aktivasyonu üzerindeki etkisini anlamak için daha ileri çalışmalar gerekmektedir.

The effect of berberine on expression levels of selected genes involved in AMP- activated protein kinase pathway

Gizem Çelebi, Muhammed Abdülvahid Kalkan, Neslihan Çoban, Bilge Özseit Selçuk, Burçak Vural, Evrim Kömürcü Bayrak

Istanbul University, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics, Istanbul, Turkey

Objective: The mutations of PRKAG2, the gene for the $\gamma 2$ regulatory subunit of AMP-activated protein kinase (AMPK) caused to PRKAG2 cardiomyopathy. The PRKAG2 missense mutation (E506K) affects CBS (cystathionine beta synthase) domain thought to alter AMPK activity. Berberine is an AMPK activator. The aim of this study was to investigate effects of different concentration of berberine on expression levels of selected AMPK signaling pathway genes in mutated cells.

Materials-Methods: The PRKAG2b E506K mutation were constructed by site directed mutagenesis technique in pcDNA3.1/V5HisTOPO expression vector and then transfected into HEK293 cells by lipofectamine system. Berberine (0,1M-0,05M) is applied HEK293 cells containing wild type and mutant PRKAG2 expression vector for 1-24 hours. The expression of PRKAG2, PRKAA2, PRKAB2, PFKM, SLCA5A1, SLCA2A4 and PFKFB3 genes were determined using SYBR green-based detection in qRT-PCR in transfected cells.

Results: The lower dose of berberine (0.05M) increases PRKAG2 expression in mutant cells 2.5 fold, on the other hand same concentration of berberine decreases PRKAA2 and PRKAB2 expressions at least 2 fold after 24 hours. Glucose metabolism genes; PFKM, SLC5A1 and PFKFB3 expressions are increased by 0.05M berberine in mutated cells compare to wild-type cells (2.1, 12.3, 1.8 fold differences, respectively). Results of 0.1M berberine in transfected cells are insignificant in terms of these gene expressions.

Conclusion: In this study, it was determined that berberine in E506K mutant cells affects the expression of genes involved in glucose metabolism in the pathway of AMPK. Further studies are required to understand the effect of berberine on AMPK activation.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir. (Proje Numarası: 115S137) This study was supported by The Scientific And Technological Research Council Of Turkey (Project number: 115S137).

SS - 013

Koroner Anjiyografi ile DNA hasar düzeyi arasındaki ilişkinin incelenmesi

Tuba Mutlu¹, Bilgehan Karadağ², Eser Durmaz², Duygu Erhan¹, Bahadır Batar¹, Mehmet Güven¹

¹Tıbbi Biyoloji A.D., İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye

²*İç Hastalıkları A.D., Kardioloji B.D., İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, Türkiye*

Koroner arter hastalığı, dünya genelinde morbidite ve mortalitenin başlıca nedenlerinden bir tanesidir. Koroner anjiyografi, koroner arter hastalığının tespit edilmesinde en yaygın olarak kullanılan bir tanı yöntemidir. Koroner anjiyografi invaziv bir tekniktir ve komplikasyon riskleri taşımaktadır. Koroner arter hastaları, anjiyografik işlem boyunca devamlı olarak x-ışını radyasyonlarına maruz kalırlar. X-ışını radyasyonları serbest radikallerin üretimine, serbest radikallerin varlığı da DNA hasarlarının oluşumuna yol açar. Ancak, koroner anjiyografinin DNA hasar düzeyleri üzerine olan etkisi henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda, birden fazla (en az 3 girişim) uygulanan koroner anjiyografinin DNA hasar düzeyleri üzerine olan etkilerini ortaya çıkarmayı amaçladık. Çalışma, anjiyogarfı ve/veya perkütan koroner girişim yapılan 80 hasta ve anjiyografi ve/veya perkütan koroner girişime maruz kalmamış 36 sağlıklı kontrolde gerçekleştirildi. Koroner anjiyografinin varlığında indüklenen DNA hasar düzeyleri, sitogenetik biyomarker olan mikronukleus testi ve plazmada 8-hidroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) analizleri ile saptandı. Ayrıca çalışmamızda, APE1 Asn148Glu, OGG1 Ser326Cys ve PARP1 Val762Ala DNA tamir gen polimorfizlerinin DNA hasar düzeyleri ile olan ilişkileri de incelendi. DNA tamir gen polimorfizmlerinin analizleri, Real-Time polimeraz zincir reaksiyonu (Real-Time PCR) yöntemi ile gerçekleştirildi. Çalışmamızda, hasta grubunda MN sıklığı (9.1 ± 4.3 ; $p=0.002$) ve 8-OHdG ($33,7 \pm 3,8$ ng/mL) seviyesini kontrol (6.4 ± 4.8 ; $17,4 \pm 1,9$ ng/mL, sırasıyla) grubuna göre yüksek tespit ettik. APE1 Glu allelini veya OGG1 Cys allelini taşıyan hastalarda yüksek düzeyde MN sıklığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, sonuçlarımız invaziv kardiyovasküler işlemler sırasında maruz kalınan radyasyonun hastalardaki DNA hasarını arttırdığı göstermektedir. Ayrıca, bu tip hasarlarda DNA tamir genlerindeki polimorfizmler DNA hasarının düzeyini etkilemektedir

Investigation of the relationship between Coronary angiography and DNA damage level

Tuba Mutlu¹, Bilgehan Karadağ², Eser Durmaz², Duygu Erhan¹, Bahadır Batar¹, Mehmet Güven¹

¹*Department of Medical Biology, Istanbul University, Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul, Turkey*

²Department of Cardiology, Istanbul University, Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul, Turkey

Coronary artery disease is one of the major causes of mortality and morbidity throughout the world. Coronary angiography as an invasive cardiovascular procedure is a commonly established diagnostic method for detecting coronary artery disease. Coronary angiography as an invasive technique carries a risk of complications. Coronary artery patients are exposed to x-ray radiations in all of angiographic procedures. X-ray radiations generate free radicals and cause the DNA damage. However, the induction of DNA damage by free radicals in the patients undergoing coronary angiography and the effect of coronary angiography on DNA damage levels have not yet been elucidated. The aim of this study is to determine the effects of coronary angiography on DNA damage levels in the patients undergoing coronary angiography. DNA damage levels were detected by cytogenetic biomarker and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) analysis. Cytogenetic biomarker analysis was detected by micronucleus assay, while 8-OHdG was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique. Furthermore, in the present study, we were investigated the association between APE1 Asn148Glu, OGG1 Ser326Cys, and PARP1 Val762Ala DNA repair gene polymorphisms and DNA damage levels in the patients undergoing coronary angiography. In study, MN frequency (9.1 ± 4.3 ; $p=0.002$) and 8-OHdG level (33.7 ± 3.8 ng/mL) were higher in patient group in comparison to control group (6.4 ± 4.8 ; 17.4 ± 1.9 ng/mL, respectively). Increasing MN frequency was observed in carriers of APE1 Glu allele or OGG1 Cys allele, suggesting that SNPs affect DNA damage. In conclusion, our results show the increased levels of DNA damage in patients after radiation exposure invasive cardiovascular procedures.

Çalışma İstanbul Üniversitesi BAP birimi tarafından desteklenmiştir; P. No: 31436

SS - 014

Endoplazmik retikulum stres sensör protein IRE1 proaterojenik gen ifadelerini düzenler

Pelin Telkoparan Akillilar¹, Ozlem Tufanli², Diego Acosta Alvear³, Peter Walter³, Ebru Erbay²

¹*Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye*

²Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Ankara, Türkiye

³Kaliforniya San Francisco Üniversitesi, Biyokimya Bölümü, San Francisco, Amerika

Amaç: Katlanmamış Protein Yanıtı (KPY) hücrede oluşan stres ile mücadele etmek için endoplazmik retikulumdan (ER) yayılan adaptif bir sinyal yolağıdır. Katlanmamış proteinlerin birikimi ER stresi başlatarak KPY'yi aktive edebilir. KPY aktivasyonu aterosklerotik plak oluşumunun önemli bir işaretidir. Evrimsel olarak korunmuş bir protein olan inositol gerektiren enzim 1 (IRE1), aterosklerotik lezyonlardaki makrofajlarda aktive edilir. IRE1'in farmakolojik hedeflemesinin ateroskleroz tedavisinde arzu edilen bir terapötik yaklaşım olduğu yapılan bir çok çalışmada desteklemektedir. Bu çalışmamızda; IRE1'in aterosklerotik hastalık ilerlemesine doğrudan katkısını bulmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: STF-083010 (150 μ M, 1h) ile muamele edilmiş BMDM’leri doymuş yağ asidi olan 1,000 μ M palmitat ile 20 saat muamele ettik. IRE1 ifadesi durdurulmuş/ durdurulmamış BMDM örneklerinin transkriptom profillerinin RNA-seq metotları ile analiz ettik. Etkilenen genleri kategorize edebilmek için Ingenuity Pathway Analysis (IPA) biyoinformatik programını kullandık. RNA-seq sonuçlarını doğrulamak için gerçek zamanlı-PCR yöntemini kullandık. Ayrıca IRE1’nin ateroskleroz üzerindeki etkisini STF-083010 enjekte edilmiş ApoE^{-/-} fareler de araştırdık.

Bulgular: RNA sekanslama sonuçlarına göre IRE1’in ifadesi durdurulduğunda, 169 genin ifadesinin arttığını ve 135 genin ise ifadesinin azaldığını gözlemledik. Pathway analizi sonuçları, ifadesi azalan birçok genin proaterogenik gen olduğunu göstermektedir. Sonuçlarımızı gerçek zamanlı-PCR ile valide ettik. Son olarak, IRE1’in ateroskleroz üzerindeki *in vivo* etkisini IRE1 inhibitörü enjekte edilmiş ApoE-/- farelerde de doğruladık.

Sonuç: Bulgularımız, kronik ER stresinin ateroskleroz progresyonunda önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir. Bu nedenle, UPR'nin farmakolojik manipülasyonu, aterosklerozu yönetmek için umut verici bir terapötik yaklaşımı temsil eder.

Endoplasmic reticulum stress sensor protein IRE-1 regulates proatherogenic genes

Pelin Telkoparan Akillilar¹, Ozlem Tufanli², Diego Acosta Alvear³, Peter Walter³, Ebru Erbay²

¹Yuksekk Ihtisas University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Ankara, Turkey

²Bilkent University, Molecular Biology and Genetics, Ankara, Turkey

³*Department of Biochemistry and Biophysics, University of California, San Francisco, CA 94143*

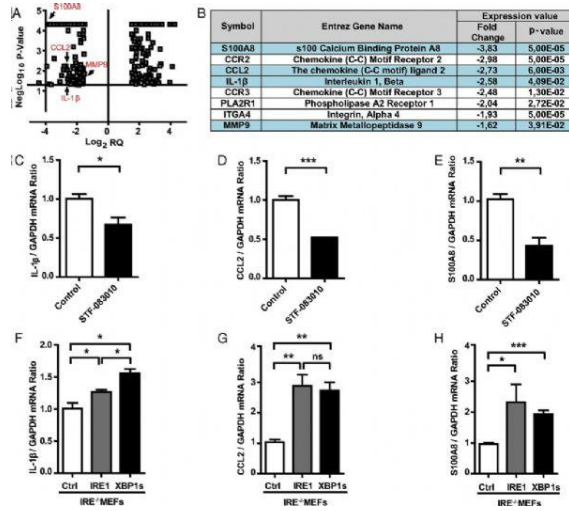
Objective: The Unfolded Protein Response (UPR) is an adaptive signaling emanating from the endoplasmic reticulum (ER) to cope with cellular stress. Accumulation of unfolded proteins can initiate ER stress and activate the UPR. UPR activation is a hallmark of atherosclerotic plaque formation. The most conserved ER-resident UPR regulator, inositol-requiring enzyme 1 (IRE1), is activated in lipid-laden macrophages on atherosclerotic lesions. Several lines of evidence support the notion that selective pharmacological targeting of IRE1 is a desirable therapeutic approach for treatment of atherosclerosis. In this study we aimed to investigate the direct contribution of IRE1 to atherosclerotic disease progression.

Materials-Methods: We stressed STF-083010 (150 μ M, 1h) pretreated BMDMs with saturated fatty acid, 1,000 μ M palmitate, for 20 hours. We analyzed the transcriptomes profiles of the control and IRE1-inhibited BMDMs using RNA-seq methods. To categorize the affected genes, we used the Ingenuity Pathway Analysis (IPA) tool. We confirmed RNA-seq results by qRT-PCR in IRE1 inhibited BMDMs. We also investigated *in vivo* effect of IRE1's on atherosclerotic progression in STF-083010 injected ApoE^{-/-} mice.

Results: We observed increased expression of 169 genes and decreased expression of 135 genes on IRE1 inhibition by using an arbitrary cutoff of 1.5-fold. Pathway analysis identified the down-regulation of many important proatherogenic genes. We validated our findings using quantitative (q) RT-PCR. Last, we sought antiatherogenic effect of IRE1 inhibitors in ApoE^{-/-} mice.

Conclusion: Our findings suggest that chronic ER stress plays an important role in atherosclerosis progression. Therefore, pharmacological manipulation of the UPR represents a promising therapeutic approach to manage atherosclerosis

IRE1 proaterojenik gen ifadelerini düzenler
IRE1 regulates the expression of proatherogenic genes



IRE1 proaterojenik gen ifadelerini düzenler. (A) 60 μ M STF-083010 veya DMSO (kontrol) ile muamele edilmiş BMDM'leri RNA-seq analiz sonuçları. Farklı şekilde ifade edilen genleri Volcano plot şekilleri. (B) Ateroskleroz ile ilişkili mRNA'ların IPA biyoinformatik analiz programı ile analizi (C-E) STF-083010 veya DMSO ile muamele edilmiş BMDM'lerdeki IRE1 bağımlı ateroskleroz ile ilişkili gen ifadelerinin validasyonu. (F-H) Ateroskleroz ile ilişkili genlerin IRE1 ve XBP1 ifadesi geri verilmiş IRE1-/- MEF' hücrelerinde doğrulanması. Data: mean values $\pm$ SEM; n = 3. Student's t test. Ctrl, control; ns, not significant. *P <= 0.05; **P <= 0.01; ***P <= 0.001.

IRE1 regulates the expression of proatherogenic genes. (A) RNA-seq analysis in BMDMs treated with 60 μ M STF-083010 or DMSO (control) for 6 hours. Volcano plot of differentially expressed mRNAs. (B) Analysis of atherosclerosis-related mRNAs using the IPA tool (details are in the text). (C-E) Confirmation of IRE1-dependent atherogenic gene regulation in mouse BMDMs treated with STF-083010 or DMSO (control) by qRT-PCR. (F-H) qRT-PCR analysis of atherogenic gene expression in IRE1-/- MEFs on forced expression of XBP1s or restoring IRE1's function. Data: mean values $\pm$ SEM; n = 3. Student's t test. Ctrl, control; ns, not significant. *P <= 0.05; **P <= 0.01; ***P <= 0.001.

SS - 016

Diz osteoartritlerinde sitokinlerin rollerinin belirlenmesi ve aday biyobelirteç araştırılması

Sezen Atasoy¹, Beyza Servet Göncü², Volkan Gürkan³

¹*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

²Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi, İstanbul

³Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Amaç: Osteoartrit; kıkırdığın yıpranması veya yok olması sonucunda oluşan dejeneratif eklem hastalığıdır. Son yıllardaki çalışmalar kıkırdak dejenerasyonunun sadece mekanik bir problem değil, tüm eklemi ilgilendiren ve matriks proteazların rol aldığı bir rahatsızlık olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda eklem ağrısıyla kliniğe başvurmuş, direkt radyografilerinde ileri dereceli diz osteoartrit bulguları olan ve ameliyat endikasyonu konan 15 primer diz osteoartrit hastasıyla klinik ve radyolojik olarak dizinde osteoartrit bulgusu olmayan ve amputasyon uygulanacak 10 kontrol olgusunun kan ve doku örneklerinde IL 1 β -6-17-18 ve TNF- α kıyaslanarak hastalığın inflamasyonla ilişkisi ve sitokinlerin biyobelirteç olarak kullanılabilirliği değerlendirmiştir.

Gereç-Yöntem: Gruplardaki kıkırdak örnekleri ameliyat sırasında alınarak PBS ile yıkanmış ve hemen sonrasında sıvı azotta dondurulmuştur. Kan örnekleri ise ameliyattan önce EDTA'lı tüple alınmıştır. Kan ve dokü örneklerinden protein izolasyonu yapılmıştır. Sonra IL 1 β -6-17-18 ve TNF- α proteinleri ilişkili antikolar kullanarak Western Blot yöntemiyle incelenmiştir.

Bulgular: Sağlıklı kıkırdak dokuları ile dejenere olmuş kıkırdak dokuları karşılaştırıldığında IL-6 ($p=0,0308$), kan örnekleri karşılaştırıldığında ise IL-1 β ($p=0,0475$) ve IL-17 ($p=0,0012$) anlamlı bulunmuştur. Ayrıca kan ve kıkırdak doku örnekleri için hastalar gruplandırılıp kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.0001$). Hastaların ameliyat öncesi serum C-reaktif protein seviyelerinin sitokinlerle korele olarak yüksek olduğu gözlenmiştir. Kan ve kıkırdak dokusu birlikte değerlendirildiğinde biyobelirteç olmaya aday bir sitokin belirlenememiştir.

Sonuç: Bu sonuçlara göre eklem kırıkdağındaki mekanik stresin sitokinleri uyarak sistemik inflamasyonu tetiklediği ve bu bulguların radyolojik olarak şiddetli eklem değışiklikleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Çalışmadaki hastaların radyolojik evreleri incelendiğinde katabolik sürecin başlamasıyla proinflamatuvar mediyatörlerin salınması, kırıkdağı onarımını engelleyerek kırıkdağı harabiyetini arttırdığı gözlenmiştir.

Identification roles of the cytokines and investigation candidate biomarkers for knee osteoarthritis

Sezen Atasoy¹, Beyza Servet Göncü², Volkan Gürkan³

¹*İstanbul University, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, İstanbul, Turkey*

²Bezmialem Vakıf University, Center For Experimental Research, Istanbul, Turkey

³Bezmialem Vakıf University School of Medicine, Department of Orthopedics and Traumatology, Istanbul, Turkey

Osteoarthritis is degenerative joint disease occurs as result of eroded or destroyed cartilage. Recent studies shown cartilage degeneration is not solely mechanical problem, also involves entire joint and matrix proteases. Study was conducted with 15 primary knee osteoarthritis patients who were admitted to clinic with joint pain, had advanced findings on direct radiography, undergone operation and 10 controls who do not have any clinical/radiological findings, had amputation. IL1 β -6-17-18 and TNF- α were compared to assess the association of disease with inflammation and availability of cytokines as biomarkers. Cartilage specimens were collected during operation, washed with PBS and immediately stored frozen. Blood samples were obtained before operation. Proteins were isolated. IL1 β -6-17-18 and TNF- α proteins were examined by Western Blot using related antibodies.

Compared with healthy and degenerated cartilage tissues IL-6($p = 0,0308$) were statistically significant. Comparing blood samples of the same groups are statistically significant for IL-1 β ($p = 0.0475$) and IL-17($p = 0.0012$). In addition, when all specimens were clustered for blood and cartilage tissue and compared with controls were found statistically significant($p < 0.0001$). It was observed that pre-operative serum C-reactive protein levels of the patients were high, correlated with cytokines. When blood and cartilage tissue are evaluated together, a candidate cytokine to become a biomarker has not been identified. According to results, it has been shown that mechanical stress in joint cartilage induces systemic inflammation by stimulating cytokines and associated with radiologically severe joint changes. When the stages of the patients were examined, it was observed that the proliferation of proinflammatory mediators at the beginning of the catabolic process increased the destruction of cartilage by preventing cartilage repair.

SS - 017

Akut Miyeloid Lösemide NOL7 anlatımı ve Akut Promiyelositik Lösemi Hücrelerinde NOL7'nin All Trans Retinoik Asit direncinde rolü

Zeliha Emrence¹, Melda Sarıman¹, Suzan Çınar², Burcu Salman¹, Ece Biberoglu¹, Neslihan Abacı¹, Sema Sırma Ekmekci¹

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

²*İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Akut miyeloid lösemisinin (AML) M3 alttipi olan akut promiyelositik lösemi (APL) hastalarının %98'inde PML-RARA füzyon geni bulunmaktadır. APL hastalarının tedavisinde all trans retinoik asit (ATRA) kullanılmaktadır. Fakat hastaların bir kısmında ATRA'ya direnç gelişmektedir. Direncin olası sebeplerinden biri, retinoik asit hedef genlerinin fonksiyon kaybı olabilir. NOL7 geni RAR-RXR tarafından düzenlenen tümör baskılayıcı bir gendir. NOL7 geninin bulunduğu 6p23 bölgesinin AML'de dahil olmak üzere birçok kanser ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir. APL hücre soylarında (PML-RARA füzyon geni bulunan NB4 ve bulunmayan HL-60) NOL7 geninin etkisinin ve ATRA'ya direnç gelişimindeki rolünün araştırılması ve AML hastalarında NOL7 gen anlatımının araştırılmasını amaçladık.

Gereç-Yöntem: NB4 ve HL-60 hücre soylarında *NOL7* gen anlatımı, siRNA kullanılarak baskılandı. Baskılanan hücrelerin bir kısmı ATRA ile uyarılarak farklılaşması induklendi. Hücrelerde apoptoz, canlılık, proliferasyon ve granülositik farklılaşmanın analizleri yapıldı. AML kemik iliği örneklerinde (n=89, 53,07±16,82) *NOL7* gen anlatım düzeyleri belirlendi.

Bulgular: NOL7 gen anlatımının %81 oranında baskılandığı NB4 hücrelerinde 24. saatte ATRA uygulanmasına rağmen granülositik farklılaşmanın engellendiği görüldü. ATRA uygulanan 48 ve 72 saat örneklerinde NOL7 gen anlatımındaki artış ile orantılı olarak granülositik farklılaşmanın arttığı görüldü. NOL7 anlatımı, AML hastalarının %10'unda kontrole göre 2 katın altında bulundu.

Sonuç: PML-RARA füzyon geni içeren NB4 hücre soyunda ATRA uygulansa bile NOL7 baskılandığında hücrelerin farklılaşmasının gerçekleşmediği gösterildi. Bu bulgular NOL7'nin AML'de tek başına hücre çoğalması ve apoptoz üzerinde etkisi olmadığını, fakat ATRA ile indüklenen farklılaşmada etkili olduğunu ve ATRA direncinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 52616

NOL7 Gene Expression in Acute Myeloid Leukemia and the role of NOL7 in All Trans Retinoic Acid Resistance of Acute Promyelocytic Leukemia Cells

Zeliha Emrence¹, Melda Sarıman¹, Suzan Çınar², Burcu Salman¹, Ece Biberoglu¹, Neslihan Abacı¹, Sema Sırma Ekmekci¹

¹Department of Genetics, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Istanbul University, Istanbul

²Department of Immunology, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Istanbul University, Istanbul

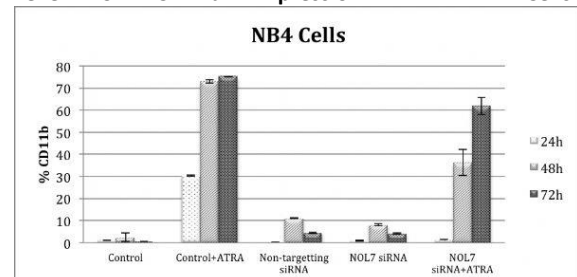
Objective: PML-RARA fusion gene is present in 98 % of patients with acute promyelocytic leukemia (APL) is a subtype of acute myeloid leukemia (AML M3). All-trans retinoic acid (ATRA) is used to treat APL patients. *NOL7* is a tumor suppressor gene regulated by RAR-RXR. 6p23, the region where *NOL7* gene is located, is associated with many types of cancer, including AML. We aimed to investigate the effect of *NOL7* gene on the APL cell lines (PML-RARA positive NB4 cell line and PML-RARA negative HL-60 cell line), the role of *NOL7* in resistance to ATRA and *NOL7* gene expression in AML patients.

Materials-Methods: *NOL7* gene expression was downregulated by using *NOL7* siRNA and these cells were stimulated with ATRA. Apoptosis, cell viability, proliferation and granulocytic differentiation analyses were performed. *NOL7* gene expression levels were determined in AML bone marrow samples (n=89, 53.07±16.82).

Results: Granulocytic differentiation was blocked in NB4 cells at 24 h where the expression of *NOL7* gene was repressed by 81% even though ATRA was applied to cells. Granulocytic differentiation was increased proportionally with *NOL7* gene expression in 48th and 72th hour samples. *NOL7* expression was found to be less than twofold in 10% of AML patients.

Conclusion: NOL7 alone does not affect cell proliferation and apoptosis in AML, but affects differentiation induced by ATRA and may play a role in ATRA resistance. In conclusion, NOL7 expression contributes to ATRA-induced granulocytic differentiation. This work was supported by Scientific Research Project Coordination Unit of Istanbul University. Project Number:52616

NB4 Level	Hücrelerinde of CD11b	CD11b Expression	Anlatım in	Düzeyleri NB4 Cells
--------------	--------------------------	---------------------	---------------	------------------------



Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 52616

SS - 026

Megakoniyal konjenital müsküler distrofi hastalığının patogenezinde mitokondriyal füzyon ve fisyon mekanizmalarının rolü

Evrin Aksu¹, Beril Talim², Burcu Balcı Hayta¹

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

²Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik ve Perinatal Patoloji Ünitesi, Ankara, Türkiye

Amaç: Mitokondriler sürekli fisyon ve füzyon mekanizmaları geçiren dinamik organellerdir. Bu mekanizmalar arasındaki denge, mitokondri morfolojisini, boyutunu ve işlevini düzenlemekle birlikte hücre homeostazı için çok büyük öneme sahiptir. Son yıllarda direkt mitokondri ile ilişkilendirilmeyen birçok nöromusküler hastalıkta mitokondriyal işlev/morfoloji kaybı gözlenmiş olup, nedenleri ve mitokondri dinamiği ile ilişkisi günümüze kadar aydınlatılamamıştır.

Çalışmamızda mitokondri işlev/morfoloji kaybı ile ilişkilendirilen nadir nöromusküler hastalıklardan Megakoniyal Konjenital Müsküler Distrofi(KMD)'nin patogeneğinde mitokondri dinamiğinin olası rolü araştırılmıştır. Megakoniyal KMD, fosfatidilkolin biyosentezinde görevli olan Kolin Kinaz Beta enzimini kodlayan *CHKB* genindeki mutasyonlar sonucu ortaya çıkan lipit biyosentez hatası ile karakterize ilk KMD tipidir. Hastalığın en önemli bulgusu kas liflerinde sarkolemmaya yakın olarak gözlenen aşırı büyük (megakoniyal) mitokondrilerdir. *CHKB* mutasyonları mitokondriyal işlev kaybı ve mitofaji yolağının aktivasyonu ile ilişkilendirilmesine karşılık, mitokondriyal füzyon ve fisyon mekanizmalarının kas dejenerasyon yolağında rolü olup olmadığı bilinmemektedir.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda, Megakoniyal KMD hastasına ait primer miyoblast hücreleri miyotüplere farklılaştırılmış, organel morfolojisi/yerleşimi ve dinamik ağ yapısı incelenmiş ve mitokondriyal fisyon/füzyonda görevli temel proteinlerin Western Blot ve immüno floresan boyamalar ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Hastaya ait primer hücrelerde; mitokondri morfolojisinin/yerleşiminin ve dinamik ağ yapısının bozulduğu gözlenmiş olup, mitokondriyal füzyonda görevli temel proteinlerin (Mfn1, Mfn2, OPA1) seviyesinde kontrole göre herhangi bir değişim saptanmazken, fisyonda görevli proteinlerin (Drp1, Mff, Fis1) ifadesinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı (sırasıyla 3,6, 2,0 ve 3,1 kat) sonucuna ulaşılmıştır. Megakloniyal KMD'li hastaların iskelet kas biyopsilerinden alınmış olan kesitlerde hücre kültüründe elde edilen sonuçlar *in-vivo* olarak doğrulanmıştır.

Sonuç: Çalışmamız ile literatürde ilk defa Megakonyal KMD hastalığının patogenezinde iskelet kasında gözlenen mitokondriyal işlev/morfoloji kaybı mitokondriyal fisyon azalısı ile ilişkilendirilmiştir.

The role of mitochondrial dynamics in the pathogenesis of megaconial congenital muscular dystrophy

Evrin Aksu¹, Beril Talim², Burcu Balcı Hayta¹

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

²Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Pathology Unit, Ankara, Turkey

Objective: Mitochondria are dynamic organelles that are continuously undergoing fusion and fission events. The counterbalance of these processes maintains morphology/function of organelle, and cellular homeostasis. Altered mitochondrial dynamics has been linked to the pathomechanism of various neuromuscular diseases which are not considered to involve mitochondria; however, no studies to date have investigated the role of mitochondrial dynamics in the progression of these disorders. Therefore, we investigate the role of mitochondrial dynamics in the pathogenesis of Megaconial Congenital Muscular Dystrophy(CMD) associated with mitochondrial dysfunction/dysmorphology. It is caused by mutations in Choline Kinase Beta(*CHKB*) gene, encoding an enzyme involved in phosphatidylcholine biosynthesis. The disease is characterized by megaconial mitochondria at the periphery of muscle fibers and loss of organelle at the center. Although previous studies provide evidence for mitochondrial dysfunction and activation of mitophagy in *CHKB* mutations, the role of mitochondrial dynamics in the pathogenesis of the disease is not known.

Materials-Methods: In this study, cellular localization and distribution of the organelle were analyzed by immunofluorescent staining in Megaconial CMD myotubes and expression levels of mitochondrial fusion/fission proteins were analyzed by Western Blotting.

Results: We observed that the mitochondrial morphology and dynamics were impaired in patient cells. A statistically significant decrease in the expression levels of fission proteins (Drp1, Mff, Fis1) were determined as 3.6., 2.1 and 3.1 fold respectively, compared to controls. Also, these results were confirmed in skeletal muscle biopsies of Megaconial CMD patients by immunofluorescent staining.

Conclusion: Our findings clearly point to a potential role of mitochondrial fission in the pathogenesis of Megaconial CMD.

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi THD-2015-7717 projesi ile desteklenmiştir.

SS - 027

AMP-Aktive edilmiş Protein Kinazın (AMPK) Aktivatörü-AICAR kullanımının AMPK yolağındaki genler üzerine etkisi

Muhammed Abdulvahid Kalkan, Gizem Çelebi, Neslihan Çoban, Bilge Özseit Selçuk, Burçak Vural, Evrim Kömürcü Bayrak

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

Amaç: AMP-aktif edilmiş protein kinazın (AMPK) düzenleyici γ -subunitini kodlayan PRKAG2 genindeki yanlış anlamlı mutasyonlar PRKAG2 hipertrofisine sebep olmaktadır. Ekibimizin önceki çalışmasında; bir ailede üç jenerasyondan normal sistolik fonksiyonlu ventriküler hipertrofiye sahip hastalarda PRKAG2 geninde fonksiyonu tam olarak bilinmeyen E506K yanlış anlamlı mutasyon (E506K) tespit edilmiştir. Bu mutasyon AMPK aktivitesinde rol aldığı düşünülen CBS domainde yer almaktadır. Bu çalışmada mutant ve doğal-tip transkript hücrelerde, AMPK aktivatörü olarak AICAR uygulamasının AMPK sinyal yolağındaki genlerin ekspresyon düzeylerine etkisi araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: PRKAG2 geni b izoformu pcDNA3.1/V5HisTOPO ekspresyon vektöre bağlandı. Yönlendirilmiş mutagenез tekniği ile E506K mutasyonu oluşturuldu ve lipofektamin ile HEK293 hücrelerine transfeke edildi. Normal kültür şartlarında AICAR iki doz (0,5 mM ve 1 mM) ve iki zaman (1.saat-24.saat) olarak uygulandı. PRKAG2, PRKAA2, PRKAB2, PFKM, SLCA5A1, SLC2A4 ve PFKFB3 genlerinin ekspresyon miktarları kantitatif RT-PCR ile saptandı.

Bulgular: Mutant ve doğal tip transfekte hücre hatlarında AICAR uygulamasının 1. saatinde genel olarak genlerin anlatım miktarlarında azalma tespit edilmiştir. AICAR uygulamasının 1. saatteki anlatım düzeylerine göre 24.saatte, PFKM haricindeki diğer genlerin anlatım düzeyleri 5-30 kat arttığı belirlenmiştir. 24.saat ilaç uygulamasında mutant hücrelerde doğal-tip hücrelere göre PRKAG2 (her iki dozda), SLC5A1 (düşük doz) ile PRKAB2 (yüksek doz) ekspresyon profillerinde yaklaşık 2 kat artış gözlenmiştir.

Sonuç: Çalışmamızda AICAR'ın AMPK aktivatörü olarak etki ettiği diğer çalışmalar ile uyumlu olduğu görülmüştür. PRKAG2 E506K mutasyonu varlığında AMPK yolağındaki glikoz metabolizmasından seçilmiş genlerin anlatım düzeylerinde artış olduğu ilk defa belirlenmiştir.

PRKAG2 kardiyomiyopatisine sebep olan PRKAG2 genindeki E506K mutasyonunun AMPK aktivitesine etkilerinin belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

The influence of AMP-Activated Protein Kinase (AMPK) Activator-AICAR on genes from AMPK Pathway

Muhammed Abdulvahid Kalkan, Gizem Çelebi, Neslihan Çoban, Bilge Özseit Selçuk, Burçak Vural, Evrim Kömürcü Bayrak

Istanbul University, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics, Istanbul, Turkey

Objective: Missense mutations in PRKAG2 gene for the gamma-2 regulatory subunit of AMPK cause PRKAG2 cardiomyopathy. In our previous study, we identified a novel PRKAG2 E506K mutation causing familial ventricular hypertrophy. In this study, the effect of AMPK activator AICAR in in vitro administration on the expression profiles of genes in the AMPK signalling pathway was investigated.

Materials-Methods: The PRKAG2b E506K mutation was constructed by site directed mutagenesis technique in pcDNA3.1/V5HisTOPO expression vector and then transfected into HEK293 cells by lipofectamine. Under normal culture conditions, AICAR was administered in two doses (0.5 mM and 1 mM) and two time points (1st hr-24th hour).

PRKAG2, PRKAA2, PRKAB2, PFKM, SLCA5A1, SLCA2A4 and PFKFB3 genes' expression levels were analysed by quantitative RT-PCR.

Results: A general reduction in the expression levels of almost every studied gene was seen at 1st hour in all type cells where the drug AICAR was administered. All genes, except for PFKM, had 5-30 fold overexpression in the 24th hour in all cells. Approximately 2 fold increase in expression levels of PRKAG2 (both of doses), SLC5A1 (low dose) and PRKAB2 (high dose) were observed in mutant cells relative to wild type at the 24th hour.

Conclusion: In our study it was seen that AICAR acted as AMPK activator. In the presence of PRKAG2 E506K mutation expression levels of genes selected from glucose metabolism in the pathway of AMPK were found to increase.

Further investigations should be conducted to illuminate PRKAG2 gene's E506K mutation effects on AMPK activity in pathophysiology of PRKAG cardiomyopathy.

This study was supported by The Scientific And Technological Research Council Of Turkey(Project number: 115S137).

Bu çalışma TUBİTAK tarafından desteklenmiştir. (Project numarası: 115S137).

SS - 028

LGMD2R'nin genom düzenleme araçları kullanılarak zebra balığında modellenmesi

Ecem Kural Mangıt, Gülsüm Kayman Kürekçi, Cansu Koyunlar, Fulya Yaylıacioğlu Tuncay, Şeyda Ünsal

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Amaç: Limb-Girdle müsküler distrofiler (LGMD) proksimal kaslarda tutulumla karakterize olan nöromüsküler nadir hastalık grubudur. Grubumuz tarafından 2013 yılında desmin geninde ilk kez rastlanan bir mutasyonun neden olduğu otozomal resesif LGMD fenotipi tanımlanmıştır (LGMD2R, MIM 615325). Mutasyonun desmin proteininin lamin B proteini ile etkileşim bölgesinde olduğu tespit edilmiştir. Ancak hastalık klasik desminopati fenotipinden farklı olarak hücre içinde desmin birikimine neden olmamaktadır. Hastalık fenotipine desminin lamin B ile etkileşiminin bozulmasından kaynaklanan mekanotransdüksiyon hatasının neden olduğu düşünülmektedir. Amacımız hastaya özgül bir model oluşturarak hastalığın mekanizmasını anlayabilmektir.

Gereç-Yönteni: CRISPR/Cas9 kullanılarak zebra balığında desma ve desmb olmak üzere iki kopya halinde bulunan desmin izoformları KO edilmiş ve farklı ifade profilleri in situ-hibridizasyon ile gösterilmiştir. Yabani tip zebra balığı kas dokusu ve doku kesitleri kullanılarak birlikte-immünöçtürme ve PLA deneyleri yapılmıştır. Hastaya özgül model oluşturabilmek için TALEN genom düzenleme aracı kullanılmıştır.

Bulgular: In-situ hibridizasyon çalışmasının sonuçları desma'nın iskelet kasında ve desmb'nin düz kaslarda ifade olduğunu göstermiştir. Ancak; desmb'nin KO olduğu durumlarda desma ifadesi düz kaslarda da görülmektedir. Birlikte-immünöktürme ve PLA deneyleri ile desmin-lamin B proteinlerinin yabancıl tip zebra balıklarında doğrudan etkileşimde olduğu gösterilmiştir. TALEN kullanılarak desmin-lamin B bağlanma bölgesi, desma üzerinde erken stop kodonu oluşturmak suretiyle bozulmuştur.

Sonuç: Yabani tip balıklarda görülen desmin-lamin B etkileşimi mutant balıklarda olmayacağından erişkin dönemde mekanotransdüksiyon kaskadının bozulması beklenmektedir. Çalışmalarımız bu yönde devam etmektedir. Bu çalışma ile LGMD2R hastalığında kas dejenerasyonuna neden olan primer patolojinin mekanotransdüksiyon hasarı olduğu gösterilerek yeni bir hastalık oluşum mekanizması literatüre kazandırılacaktır.

Modeling LGMD2R in zebrafish using genome editing tools

Ecem Kural Mangıt, Gülsüm Kayman Kürekçi, Cansu Koyunlar, Fulya Yaylıacioğlu Tuncay, Şeyda Ünsal

Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Medical Biology

Objective: Limb girdle muscular dystrophy (LGMD) is a rare neuromuscular disorder affects mainly proximal muscles. In 2013 our group has described an ultra-rare autosomal recessive LGMD phenotype caused by an unusual desmin mutation (LGMD2R, MIM 615325). Mutation was found to be located on the lamin B binding domain of desmin protein. However there is no intracellular desmin accumulation observed. It has been predicted that the disease phenotype caused by a mechanotransduction error due to loss of interaction between desmin and lamin B proteins. Our aim is to create a patient-specific model in order to understand the underlying mechanisms of the disease.

Materials-Methods: Using CRISPR/Cas9, we knocked-out desmin orthologues (desma and desmb) in zebrafish and described their differential expression profiles via in-situ hybridization. Co-immunoprecipitation and in-situ proximity ligation assays were performed using zebrafish muscle. We use TALENs to create patient specific mutation.

Results: The results showed that desma expression is mainly somitic while desmb expressed in gut. However desma expression observed in gut in the absence of desmb. We demonstrated that desmin interacts directly with lamin B in wild-type zebrafish muscle. To mimic the patient-specific mutation we disrupted the lamin B-binding domain on desma by creating an early stop codon using TALEN.

Conclusion: Since the desmin-lamin B interaction was hindered in mutant zebrafish, mechanotransduction cascade is expected to be disrupted. Research on mutant fish is ongoing. This study is going to reveal new mechanism for disease formation by demonstrating the primer pathology in LGMD2R caused by mechanotransduction error.

Bu proje TÜBİTAK tarafından desteklenmektedir (214S174)

SS - 030

CaMKII gamma aktivitesinin fosforilasyona bağlı regülasyonu ve vasküler düz kas fonksiyonundaki önemi

Mehtap Yilmaz Tezcan¹, Samudra S Gangopadhyay², Paul Leavis³, Zenon Grabarek⁴, Kathleen G Morgan⁵

¹Mustafa Kemal Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji ABD, Hatay, Turkey

²*Boston Universitesi Tip Fakultesi, Boston, MA ABD*

³Tufts Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji ABD, Boston, MA ABD

⁴Harvard Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Moleküler Biyoloji, Boston, MA ABD

⁵*Boston Üniversitesi, Sargent College, Sağlık Bilimleri, Boston, MA ABD*

CaMKII oligomerik yapıya sahip bir serin / treonin fosfotransferazdır ve aktivasyonu kalsiyum / kalmodulin bağlanması sonucu Thr287'de otofosforilasyon ile olmaktadır. İlginç bir şekilde kalsiyum / kalmodulinin kompleksten ayrılması halinde bile Thr287'de otofosforilasyonu sonucu uzun süre aktivitesini devam ettirebilmektedir ve bu durum komplekse “moleküler hafıza” kazandırılmaktadır. Antisens oligonükleotid kullanılarak, CaMKII 'nın daha önce vasküler kontraktileteyi azalttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu sürecin mekanizması tam olarak bilinmemektedir.

Bu çalışmada CaMKII γ üzerinde fizyolojik olarak anlamlı olan yeni bir fosforilasyon noktası ve bu fosforilasyonun CaMKII γ fonksiyonu üzerine etkisi ortaya koyulmuştur. Ser26'nın fosforilasyonunun CaMKII γ kinaz aktivitesini inhibe ettiği görülmüştür. CaMKII gamma'nın ATP bağlanma bölgesi içinde bulunan Ser26 fosforilasyonunun, enzimin konstitütif aktivitesini sonlandırdığı gözlemlenmiştir. Ser26'daki fosforilasyonun fizyolojik önemi test etmek için bir fosfospesifik Ser26 antikorü üretilmiştir. Ardından yapılan çalışmalarda kan damarlarının depolarizasyon ile kontraksiyonu üzerine Ser26 fosforilasyonunda artış olduğu görülmüştür. Ser26'nın fosforilasyonunun kinaz aktivitesini etkileyip etkilemediğini belirlemek için, Ser26 amino asiti Ala veya Asp'a dönüştürölerek nokta mutasyona uğratılmıştır. CaMKII'nin fosforile edilmiş durumunu taklit eden rekombinant S26D, in vitro olarak Thr287 otofosforilasyon seviyesinde çarpıcı bir düşüş gösterdiği ve dışarıdan verilen substrata (otokamid-3) karşı katalitik aktivitesinin büyük ölçüde azaldığı saptanırken, S26A mutasyonunun ise hiçbir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Moleküler modellemeyele birleştirilmiş olan bu veriler ışığında, CaMKII gamma Ser26 üzerindeki negatif yükün, ATP bağlanmasını bloke ederek, enzimin katalitik aktivitesini Thr 287 otofosforilasyonunu inhibe ederek göstermektedir. Burada, Ser26 fosforilasyonunun, CaMKII aktivitesini bloke ederek vasküler kontraktilitede önemli bir mekanizma oluşturduğu görülmektedir.

Phosphorylation dependent regulation of CaMKII gamma activity and its implication in vascular smooth muscle function

Mehtap Yilmaz Tezcan¹, Samudra S Gangopadhyay², Paul Leavis³, Zenon Grabarek⁴, Kathleen G Morgan⁵

¹Mustafa Kemal University, Department of Biology, Molecular Biology, Hatay, Turkey

²Boston University School Of Medicine, Boston, MA USA

³Tufts University, Medical School, Department of Physiology, Boston, MA USA

⁴Harvard University, School Of Medicine, Department Of Molecular Biology, Boston, MA USA

⁵Boston University, Sargent College, Department of Health Sciences, Boston, MA USA

Calcium/calmodulin-dependent kinase II (CaMKII) is a serine/threonine phosphotransferase which is capable of long-term retention of activity due to autophosphorylation at Thr287 within each subunit of its oligomeric structure. Using an antisense oligonucleotide, CaMKII γ was previously demonstrated to lead to decreased contractility of blood vessels. However, the mechanism of this process remains unknown.

Major discovery of this study is the determination of a novel and physiologically significant phosphorylation-dependent function of CaMKII γ . Phosphorylation of Ser26 was found to switch off kinase activity. Here shown that phosphorylation of CaMKII gamma at Ser26 a residue located within the ATP binding site, terminates the sustained activity of the enzyme. To test the physiological importance of phosphorylation at Ser26, a phosphospecific Ser26 antibody was generated and an increase of Ser26 phosphorylation is demonstrated upon depolarization and contraction of blood vessels. To determine if the phosphorylation of Ser26 affects the kinase activity, the Ser26 residue was mutated into an Ala or Asp. The recombinant S26D mutant mimicking the phosphorylated state of CaMKII displays a dramatic decrease in Thr287 autophosphorylation levels in vitro and greatly reduces the catalytic activity towards an exogenous-substrate (autocamtide-3), while the S26A mutation has no effect. These data combined with molecular modeling indicate that a negative charge at Ser26 of CaMKII gamma inhibits the catalytic activity of the enzyme towards its autophosphorylation site at Thr287 most likely by blocking ATP binding. Thus, Ser26 phosphorylation constitutes an important mechanism for switching off CaMKII activity, which may play an important role in vascular contractility.

HÜCRE BİYOLOJİSİ

CELL BIOLOGY

SS - 034

Hücrenin kaderini belirleyen yeni bir ilişki: E2F1 & PKA

Mustafa Gökhan Ertosun¹, Fatma Zehra Hapil², Osman
Nidai Özeş³

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik,Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

³ALTAY Biofarma, 94066, CA, ABD

E2F1, hücre döngüsü ve apoptozu düzenleyen en önemli transkripsiyon faktörlerinden biridir ve özellikle aktivasyonu, translasyon sonrası modifikasyonlarla düzenlenebilir. E2F1'in muhtemel üç farklı PKA fosforilasyon bölgesini tespit ettik ve PKA'nın bu bölgelere bağlanarak bu bölgeleri fosforile ettiğini gösterdik. Bu alanların fosforilasyonunun önemini incelemek için, E2F1 ekspresyon vektörü üzerinde bölge spesifik mutasyon gerçekleştirilerek alanın (A) veya glutamik asit (E) mutantları oluşturulup, daha sonra 293T hücrelerine transfekte edilerek stabil klonlar meydana getirildi. PKA aktivasyonunun E2F1 düzeylerini nasıl etkilediğini aydınlatmak için, E2F1 yüksek eksprese eden hücreler, farklı zaman aralıklarında forskolin veya PKA-inhibitörü (PKI) ile muamele edildi. E2F1 mutantlarının hücre çoğalması üzerindeki etkisi MTT ve Ki67 boyaması ile değerlendirildi. E2F1 hedef genlerin ekspresyon seviyeleri western blot ve qPCR ile ölçüldü. Muhtemel PKA fosforilasyon bölgesi mutant E2F1 vektörleri ile transfekte edilen hücrelerin çoğalması MTT analizi ile değerlendirildi. LnCap ve 293 hücrelerinde ise glikoz alım hızları araştırıldı.

Sonuçlarımıza göre, E2F1 seviyeleri forskolin muamelesinin 8-16 saat arasında azalırken, 24 saatlik muameleden sonra normal seviyeye dönmektedir. Forskolin'in etkisi, fosforile-E2F1'in proteozom ile parçalandığını gösteren biçimde PKA inhibitörü (PKI) veya laktasistin varlığında kaybolmaktadır. E2F1 ve PKA birbirleri ile forskolin muamelesi ile etkisi artacak biçimde etkileşime girmekte ve E2F1'in fosforilasyonu meydana gelmektedir. Alanin (A) mutantlarının ektopik ekspresyonu hücre proliferasyonunda, hücre içi glikoz alınımlında ve Ki67'nin boyanmasında artışa neden olmakta iken; Glutamik asit (E) mutantları proliferasyonu azaltmaktadır. Bununla birlikte hem LNCaP hem de 293 hücrelerinde pro-apoptotik genlerin ekspresyonunu arttırarak apoptozise neden olmaktadır.

Özetle, en önemli hücre döngüsü regülatörlerinden biri olan E2F1'in aktivitesi cAMP ile aktive olan PKA aracılığıyla fosforilasyonlarla düzenlenmektedir.

A new relationship that determines the destiny of the Cell: E2F1 & PKA

Mustafa Gökhan Ertosun¹, Fatma Zehra Hapil², Osman
Nidai Özeş³

¹Akdeniz University School of Medicine, Department of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery, Antalya, Turkey

²Akdeniz University School of Medicine, Department of Medical Biology an Genetics, Antalya, Turkey

³ALTAY Biopharma, 94066, CA, USA.

E2F1 is one of the most important transcription factors in regulation of cell cycle and apoptosis. Its activity can be regulated by post-translational modifications. We identified three putative PKA phosphorylation sites of E2F1, and have shown that PKA binds to and phosphorylate these sites. To study the significance of phosphorylation of these sites, we site-directionally mutated to alanine(A) or glutamic acid(E) on E2F1 expression vector, then the clones were stably transfected into 293T cells. To elucidate how PKA activation influences E2F1 levels, E2F1 overexpressing cells were treated with forskolin or PKA-inhibitor (PKI) for different time intervals. The impact of E2F1-mutants on cell proliferation was assessed by MTT and Ki67 staining, the expression levels of E2F1 target genes were measured by western blot and qPCR. Proliferation of the cells transiently transfected with E2F1-mutants was evaluated by MTT assay. Cell-based glucose-uptake was explored in 293 and LNCaP cells.

According to our results, E2F1 levels decrease after 8-16 hours of forskolin treatment, yet return to normal level after 24 hour of treatment. The Forskolin's effect disappears in the presence of PKA inhibitor (PKI) or lactacystine indicating that phosphorylated-E2F1 is degraded by proteasome. E2F1 and PKA interact with each other and this is augmented by forskolin treatment, resulting in phosphorylation of E2F1. Ectopic expression of Alanine (A) mutants leads to an increase in cell proliferation, uptake of Glucose and Ki67 staining whereas that of Glutamic acid (E) mutants reduce proliferation but induce expression of pro-apoptotic genes and apoptosis in both LNCaP and 293 cells.

In summary, activity of E2F1, one of the most important cell cycle regulator, seem to be regulated by cAMP-activated PKA-mediated phosphorylations.

SS - 035

DR5'in hücre yüzeyi ifadesinde HuR ve Vps39'un rolü

Ufuk Mert, Fatma Zehra Hapil, Ahter Dilşad Şanlıoğlu

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Antalya

TRAIL (TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand) ligandı, ölüm reseptörlerine bağlandığında hücreyi apoptoza yönlendirebilen TNF ailesi üyesi bir sitokindir. Apoptotik sinyal iletmeye yeteneğine sahip iki adet hücre yüzeyi reseptörü bulunmaktadır. TRAIL sinyal yolağına dair birçok nokta aydınlatılmış olmasına rağmen, reseptörlerin regülasyonu hala tam olarak anlaşılamamıştır. Kanser hücrelerini TRAIL aracılı apoptoza yönlendirebilmenin ilk koşulu, DR4 ve DR5 reseptörlerinin hücre yüzeyinde ifade edilebilmesidir. DR4'ün plazma membranına taşınma mekanizması kısmen anlaşılmış olsa da, DR5'in hücre yüzeyine nasıl çıktığı bilinmemektedir.

Çalışmamızda, LNCaP ve HeLa hücrelerinde HuR ve Vps39 proteinlerinin ifadeleri, sırasıyla anti-HuR ve anti-Vps39 siRNA'ları ile baskılandıktan sonra, bu hücrelerden sitoplazmik, nüklear ve plazma membran fraksiyonları elde edildi. Bu fraksiyonlarda Western Blot ve ELISA yöntemleriyle DR5 reseptör miktar tayini yapılarak HuR ve Vps39 baskılanmasının DR5 seviyeleri üzerindeki etkileri değerlendirildi. siRNA ile transfeksiyon sonrası TRAIL-aracılı apoptoz ve nekroptoz oranları, ELISA yöntemi aracılığıyla belirlendi.

HuR proteininin baskılanması, Western Blot ve ELISA (p=0,036) verilerine göre LNCaP hücre hattında DR5'in hücre yüzeyindeki ifadesini düşürmüştür. Benzer bir sonuç HeLa hücre hattı için de geçerlidir. HeLa hücrelerinde aynı zamanda HuR baskılanması sonucu DR5 yüzey ifadesindeki azalmaya paralel olarak TRAIL aracılı apoptoz engellenmiştir. Vps39'a ilişkin sonuçlarımıza göre ise, bu proteinin baskılandığı durumda her iki hücre hattında da nüklear DR5 miktarının değiştiği, ancak Vps39'un DR5'in hücre yüzey ekspresyonunda direk etkili olmayabileceği görülmüştür. Sonuç olarak, HuR proteini DR5'in yüzey ifadesini etkilemektedir. Bu mekanizmanın doğrulanabilmesi ve daha ayrıntılı biçimde aydınlatılabilmesi için, farklı hücrelerde de gerçekleştirilecek ileri çalışmalar önemli olacaktır.

Role of HuR and Vps39 in cell surface expression of DR5

Ufuk Mert, Fatma Zehra Hapil, Ahter Dilşad Şanlıoğlu

Akdeniz University School of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Antalya

TRAIL (TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand), which is a member of the TNF superfamily of cytokines, can induce apoptosis when bound to its two apoptosis-initiating receptors. Although much about TRAIL signaling pathway has been elucidated, details regarding the regulation of its receptors remain highly elusive. Unlike DR4, cell surface expression mechanism of which is relatively well understood, translocation means of DR5 receptor to the plasma membrane is unknown. Following suppression of HuR and Vps39 expressions via anti-HuR and anti-Vps39 siRNAs, in LNCaP and HeLa cell lines; cytoplasmic, nuclear, and membrane fractions were isolated. Effects of HuR and Vps39 knockdown on DR5 expression in different subcellular fractions were evaluated by Western Blot and ELISA assays. Moreover, TRAIL-induced apoptosis and necroptosis levels following siRNA transfections were determined via the ELISA method.

HuR knockdown in LNCaP cells were found to decrease DR5 surface expression as shown by both Western Blot and ELISA ($p=0,036$). Similar results were obtained from experiments performed on the HeLa cell line. HeLa cells also displayed reduced apoptosis levels in parallel with the HuR knockdown-related decrease in surface expression of DR5. Our results also revealed that, nuclear DR5 expression was altered in both cell lines following Vps39 suppression; however, Vps39 may not be directly involved in the cell surface expression of DR5.

As a consequence, HuR protein influences the plasma membrane expression of DR5. In order for these results to be confirmed, and revealed in more detail, further studies to be held also in different cell types will be significant.

Bu çalışma, TDK-2015-942 proje numarası ile Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

SS - 036

Epidermal farklılaşmanın iki önemli proteini; reseptörle etkileşen serin-tireonin kinaz 4 (RIPK4) ve keratin 14 (KRT14)'ün etkileşiminin gösterilmesi

Ceren Sümer¹, Asiye Büşra Boz¹, İdris Er¹, Bayram
Toraman², Ersan Kalay², Tuba Dinçer²

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

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

Çok katmanlı epidermin gelişimi esnasında gerçekleşen epidermal farklılaşma, farklı genlerin farklı katmanlarda doğru zamanda ekspres edilmesini gerektiren karmaşık bir süreçtir. Daha evvel yürüttüğümüz genetik haritalama çalışmaları kapsamında epidermal farklılaşmada kritik öneme sahip *RIPK4* genindeki mutasyonlar, epidermal farklılaşma bozukluğuna bağlı ciddi konjenital malformasyonlarla karakterize Bartsocas-Papas sendromuyla ilişkilendirilmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda *RIPK4*'ün *IRF6*, *DVL2*, *PKCδ*, *PKC-β*, *PKP1* ve *clAP1/2* proteinleri ile etkileştiği ve *IRF6*, *PKCδ* ve *PKP1* ile etkileşimlerinin ise epidermal farklılaşmada rol aldığı bilinmektedir. Çalışmamızın amacı, *RIPK4*'ün etkileştiği diğer proteinleri belirleyerek epidermal farklılaşmadaki rolünün moleküler seviyede anlaşılmasına katkı sağlayacak yeni veriler elde etmektir. Bu doğrultuda ilk aşamada insan keratinosit cDNA kütüphanesi *RIPK4*'ün yem olarak kullanıldığı büyük ölçekli maya ikili hibrit yöntemiyle tarandı ve *RIPK4* ile *KRT14*'ün etkileştiği yönünde ön bilgiye ulaşıldı. Sonrasında epidermal farklılaşmada önemli rolleri olduğu gösterilen ve epidermin bazal katmanında birlikte ekspres olan bu iki protein arasındaki etkileşim immünopresipitasyon ve immünofloresan yöntemleri kullanılarak memeli hücrelerinde araştırıldı. Bu araştırmalar sonucunda, *RIPK4*'ün *KRT14* ile etkileştiği, bu etkileşimin *RIPK4*'ün N-terminalinde bulunan kinaz domaini üzerinden gerçekleştiği ve bu etkileşimin *RIPK4*'ün kinaz aktivitesine bağlı olduğu görüldü. Diğer taraftan, *RIPK4* ile *KRT14*'ün hücrelerin çoğunluğunda belirgin olarak çekirdeği kuşatır şekilde birlikte yerleştiği görüldü. Sonuç olarak, bu çalışma ile epidermal farklılaşma sürecinde yer aldığı bilinen *RIPK4* ve *KRT14*'ün birbiriyle etkileştikleri ilk kez gösterilmiş olup bu etkileşimin fonksiyonel öneminin anlaşılmasına yönelik ilave çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Identification of interaction between two important proteins of epidermal differentiation; receptor interacting serine/threonine protein kinase 4 (RIPK4) and keratin 14 (KRT14)

Ceren Sümer¹, Asiye Büşra Boz¹, İdris Er¹, Bayram Toraman², Ersan Kalay², Tuba Dinçer²

¹Karadeniz Technical University Institute of Health Sciences,
Department of Medical Biology, Trabzon

²Karadeniz Technical University Faculty of Medicine,
Department of Medical Biology, Trabzon

Epidermal differentiation during the formation of stratified epidermis is a complex process in which different genes expressed in different layers at the right time. As a result of genetic mapping studies in our department, *RIPK4* mutations were associated with Bartsocas-Papas syndrome, which is characterized by abnormal epidermal differentiation related congenital malformations. So far *RIPK4* was shown to interact with IRF6, DVL2, PKC δ , PKC- β , PKP1 and cIAP1/2 proteins. *RIPK4* interactions with IRF6, PKC δ and PKP1 were reported to be important for epidermal differentiation. The aim of our study is to identify *RIPK4* interacting proteins to understand the role of *RIPK4* in epidermal differentiation at the molecular level. In order to achieve this aim firstly, a human keratinocyte cDNA library was screened by a large scale yeast two hybrid system using *RIPK4* as bait and *KRT14* was identified as a *RIPK4* interacting partner. Thereafter, interaction between these two proteins, which both have important roles in epidermal differentiation and expressed in the basal layer of epidermis, was investigated in mammalian cells by using immunoprecipitation and immunofluorescence techniques. Results showed that *RIPK4* interacts with *KRT14* through its N-terminal kinase domain and kinase activity of *RIPK4* is important for this interaction. Moreover, *RIPK4* and *KRT14* co-localizes in the cell, especially on structures that surrounds the nucleus. With our results we showed for the first time that *RIPK4* and *KRT14*, two proteins involved in epidermal differentiation interact with each other. Further studies are required to understand the functional importance of this interaction for epidermal differentiation.

Bu çalışma, KTÜ Araştırma Fonu tarafından (Proje no: 9749) desteklenmiştir. Proje yürütücüsü. Dr. Tuba DİNÇER

SS - 037

Reseptörle etkileşen serin/tireonin kinaz 4 (RIPK4) ve pleimorfik adenoma gen benzeri 2 (PLAGL2) proteinlerinin etkileşimlerinin incelenmesi

Asiye Büşra Boz Er¹, İdris Er¹, Bayram Toraman², Ersan Kalay², Tuba Dinçer²

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 61080 Trabzon

²Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, 61080 Trabzon

Vücut dış etkilere karşı koruyan ve su kaybını engelleyen epidermis, bazal katmandaki keratinositlerin farklılaşarak üst katmanlara doğru göç etmesiyle oluşmaktadır. Epidermal homeostaz keratinositlerin çoğalması, farklılaşması ve ölümü arasındaki dengeye dayalı olup TGF-beta, NOTCH, PI3K, WNT ve NF-KB gibi gelişim biyolojisi için önemli yollar tarafından düzenlenmektedir. Bir serin/tireonin kinaz olan ve özellikle farklılaşma sürecine giren ve farklılaşmış hücrelerde üretilen RIPK4, cIAP1/2, DVL2 ve IRF6 gibi proteinlerle etkileşerek sırasıyla NF-KB, WNT ve PKC sinyal yollarının düzenlenmesine katılmaktadır. Eksikliği epidermal farklılaşma bozuklukları ile karakterize Bartsocas-Papas sendromu ile tarafımızdan ilişkilendirilmiş olan RIPK4'ün, epidermal farklılaşmadaki rolünün moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışma ile RIPK4'ün etkileştiği proteinleri tanımlayarak epidermal farklılaşmadaki rolünün anlaşılmasına katkı sağlanması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, insan RIPK4 proteini yem olarak kullanılarak insan keratinosit cDNA kütüphanesi büyük ölçekli maya ikili hibrit yöntemi ile tarandı ve bir transkripsiyon faktörü olan PLAGL2'nin RIPK4 ile etkileştiği yönünde ön veriye ulaşıldı. İlk kez görülen bu etkileşimin doğrulanması için RIPK4 ve PLAGL2 etkileşimi memeli hücrelerinde immüno-presipitasyon ve immüno-floresan yöntemleri kullanılarak incelendi. Etkileşimi doğrulamaya yönelik yapılan çalışmalar ile PLAGL2 ve RIPK4'ün memeli hücrelerinde de etkileştiği, etkileşimin RIPK4'ün kinaz domaini ile PLAGL2'nin C-terminali üzerinden gerçekleştiği, RIPK4'ün kinaz aktivitesinin etkileşim için gerekli olduğu görüldü. Ayrıca RIPK4'ün fazladan ekspresyonunun PLAGL2'nin çekirdeğe gitmesini engelleyerek sitoplazmada kalmasına neden olduğu gözlemlendi. Sonuç olarak, daha evvel sinir kök hücrelerinde farklılaşmayı engellediği bilinen PLAGL2'nin keratinosit hücrelerinde farklılaşmayı tetikleyen RIPK4 ile etkileşerek epidermal homeostazda kritik bir rol üstlendiği yönünde önemli verilere ulaşıldı. Bununla beraber RIPK4-PLAGL2 etkileşiminin fonksiyonel etkisinin belirlenmesi için ilave çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Investigation of interaction between receptor-interacting serine-threonine kinase 4 (RIPK4) and pleiomorphic adenoma gene-like (PLAGL2) proteins

Asiye Büşra Boz Er¹, İdris Er¹, Bayram Toraman², Ersan Kalay², Tuba Dinçer²

¹Karadeniz Technical University, Health Science Institution,
Medical Biology Department, 61080 Trabzon

²Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Medical Biology Department, 61080 Trabzon

Epidermis is a stratified epithelium which is formed by differentiation of basal layer localized keratinocytes while migrating to the upper layers. Epidermal homeostasis depends on the delicate balance between proliferation, differentiation and death of keratinocytes and is regulated by signalling pathways of developmental biology such as TGF-beta, NOTCH, PI3K, WNT and NF-KB. RIPK4 as a serine/threonine kinase expressed in differentiated keratinocytes, was previously shown to interact with proteins cIAP1/2, DVL2 and IRF6 to regulate respectively NF-KB, WNT and PKC signalling. RIPK4 deficiency was associated with Bartsocas-Papas syndrome, characterized by epidermal differentiation related congenital defects, by studies in our department. However, the molecular basis of its action during epidermal differentiation is not well known. Therefore, we aim to understand role of RIPK4's in epidermal differentiation through identifying RIPK4 interacting proteins. For this purpose, firstly the human keratinocyte cDNA library was screened by large-scale yeast two hybrid assay using human RIPK4 protein as bait and transcription factor PLAGL2 was identified. For verification, RIPK4 and PLAGL2 interaction was analysed in mammalian cells using immunoprecipitation and immunofluorescence techniques. Our results showed that PLAGL2 and RIPK4 interact with each other through N-terminal kinase domain of RIPK4 and C-terminal domain of PLAGL2 and kinase activity of RIPK4 is important for this interaction. Moreover, RIPK4 expression prevents PLAGL2's nuclear transfer and two protein co-localize in the cytoplasm. PLAGL2 was previously shown to prevent differentiation of neural cells and RIPK4 induces differentiation in keratinocytes. Therefore, our results indicate that RIPK4-PLAGL2 interaction might play critical role in epidermal homeostasis.

Bu çalışma, KTU Araştırma Fonu tarafından (Proje no: 9749)desteklenmiştir. Proje yürütücüsü. Dr. Tuba DİNÇER

SS - 038

TGF β sinyal yolağının Reseptörle Etkileşen serin/tireonin Kinaz 4 (RIPK4) tarafından baskılanması

Tuba Dinçer¹, Asiye Büşra Boz Er², İdris Er², Gülden Yorgancıoğlu Budak², Bayram Toraman¹, Ersan Kalay¹

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, 61080, Trabzon

²Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 61080, Trabzon

Reseptörle etkileşen Serin/Treonin Protein Kinaz 4 (RIPK4) epidermal farklılaşmanın önemli bir düzenleyicisidir. Perinatal letal olan RIPK4 knock-out farelerde çok katmanlı yassı epitel hücrelerden oluşan epiderminin organizasyonu bozulmakta, en dış katman olan kornifiye tabaka kaybolmaktadır. İnsan RIPK4 mutasyonları epidermal farklılaşma bozukluğuna bağlı gelişen konjenital malformasyonlarla karakterize Bartsocas-Papas sendromu ile tarafımızdan ilişkilendirilmiştir. Farklı araştırmalarla epidermal farklılaşmanın önemli bir düzenleyicisi olan RIPK4'ün PKC, NF- κ B ve Wnt sinyal yollarında görev aldığı gösterilmiştir. Ancak, RIPK4'ün epidermal farklılaşmanın önemli bir bileşeni olan TGF β sinyal yolağındaki rolü bilinmemektedir. Bununla birlikte epidermal farklılaşmanın yer aldığı yara iyileşme süresinde TGF β 'nın RIPK4 ekspresyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Bu çalışma ile keratinosit farklılaşmasının önemli düzenleyicileri olan RIPK4 ve TGF β sinyal yolağı arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda RIPK4'ün TGF β sinyal yolağının hücre içi iletimi üzerine etkisi keratinosit orijinli HaCaT hücre hattı kullanılarak çalışılmıştır. Bu kapsamda, TGF β ile indüklenen Smad2/3 fosforilasyonu, Smad2/3-Smad4 etkileşimi, Smad2/3'ün çekirdeğe transferi ve TGF β bağımlı gen ekspresyonu üzerine RIPK4'ün etkisi araştırıldı. Sonuçlarımız, RIPK4'ün fazladan ekspresyonunun, TGF β ile indüklenen HaCaT hücrelerinde aktive olmuş reseptör tarafından gerçekleştirilen Smad2/3 fosforilasyonunu azalttığı, Smad2/3 ve Smad4 arasındaki etkileşimi baskıladığı, Smad2/3'ün çekirdeğe transferini engellediği ve ayrıca TGF β bağımlı gen ekspresyon seviyesini düşürdüğü görüldü. Bu çalışma ile epidermal farklılaşmada kritik öneme sahip olan RIPK4'ün PKC, NF- κ B ve Wnt sinyal yollarına ilave olarak TGF β sinyal yolağında da önemli bir rol oynadığı ilk kez gösterilmiştir.

Inhibition of TGF β signalling pathway by Receptor Interacting serine/threonine Kinase 4 (RIPK4)

Tuba Dinçer¹, Asiye Büşra Boz Er², İdris Er², Gülden Yorgancıoğlu Budak², Bayram Toraman¹, Ersan Kalay¹

¹Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine,
Department of Medical Biology, 61080 Trabzon

²Karadeniz Technical University, Institute of Health Sciences,
Department of Medical Biology, 61080 Trabzon

Receptor Interacting Serine/Threonine Kinase 4 (RIPK4) is an important regulator of epidermal differentiation. In prenatal lethal RIPK4 knockout mice, stratified squamous epithelium organization that forms epidermis is destroyed and the outermost cornified layer is disappeared. In our department human RIPK4 deficiency was found to be associated with Bartsocas-Papas syndrome which is characterized by different congenital malformations related with defects in epidermal differentiation. RIPK4 as an important regulator of epidermal differentiation was previously shown to have role in PKC, NF- κ B and Wnt signaling pathways by different groups. The role of RIPK4 in TGF β signaling pathway, which is also an important component of epidermal differentiation, is unknown. However, TGF β was shown to repress RIPK4 expression until skin is re-epithelized during wound healing process in which epidermal differentiation is highly involved. The scope of this study is to investigate the relation between TGF β signaling and RIPK4 which are both important regulators of epidermal differentiation. Within this scope, the effect of RIPK4 on intracellular transmission of TGF β signaling was studied in keratinocyte originated HaCaT cell lines by analyzing TGF β induced Smad2/3 phosphorylation, Smad2/3-Smad4 interaction, Smad2/3 nuclear translocation and TGF β dependent gene expression. Our results showed that overexpression of RIPK4 reduced Smad2/3 phosphorylation, repressed Smad2/3-Smad4 interaction and inhibited Smad2/3 nuclear translocation and TGF β dependent gene expression in TGF β stimulated HaCaT cells. With this study, RIPK4, as a critical component of epidermal differentiation, was shown to play a role in TGF β signaling pathway in addition to its role in PKC, NF- κ B and Wnt signaling pathways.

Bu çalışma, 1001- TÜBİTAK- Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projeleri Destekleme Programı kapsamında, yürütücülüğünü Yrd. Doç. Dr. Tuba DİNÇER yaptığı 114Z341 No'lu "RIPK4'ün (Reseptörle etkileşen serin/tireonin kinaz 4) TGF β sinyal yolağındaki rolünün araştırılması" başlıklı proje ile desteklenmiştir.

SS - 040

Floresan işaretli Wheat Germ Agglutinin yardımıyla iki farklı kanser hücre soyunda hücre yüzey glikanlarının analizi

Yosun Mater¹, Günnur Demircan²

¹Gebze Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kocaeli

²*İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Yapılan çalışmada, MCF 7 (estrogen receptor positive [ER+]) ve MDA-MB-231 (estrogen receptor negative [ER-]) meme kanseri hücre hatlarına, hücre zar yüzeylerinde yer alan bazı sialik asit tiplerine ve özellikle β -GlcNAc tipi sialik asit şekerine özgün olarak bağlanabilen Fluorescein işaretli Wheat Germ Agglutinin (FITC-Triticum vulgaris [WGA]) uygulanmıştır. Böylece ER (+) ve ER (-) meme kanseri hücrelerinin zar yüzeylerinde görülen bazı sialik asit rezidüleri spesifik olarak işaretlenmiş ve ışına farkları göreceli olarak irdelenmiştir.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda MCF 7 ve MDA-MB-231 kanser hücre hatları üzerine uygulanan FITC-Triticum vulgaris [WGA], N-asetilglukozamin oligomerlerine, sialik asitlerin (GlcNAc, Neu5Ac) birimleri ve özellikle β -GlcNAc tipi sialik asit içeren glikan birimine spesifik bağlanma özelliğine sahiptir. Kullanılan işaretleme prosedürü, konvansiyonel floresan işaretleme prosedürlerinden çalışmaya uygun olarak modifiye edilmiş ve geliştirilmiştir.

Bulgular: Bu çalışmada adı geçen şeker rezidülerini özel işaretleyebilme kabiliyetindeki lektinin, hücre yüzeylerinde yer alan, N-asetilglukozamin oligomerlerini, sialik asitlerin (GlcNAc, Neu5Ac) ve özellikle β -GlcNAc tipi sialik asit içeren glikan birimi farklılıklarını üç saat (3h) gibi kısa bir zamanda belirleyebildiğini açıkça ortaya konmuştur. Böylece immünofloresan işaretli lektinlerin, şeker residülerine bağlanarak hücre yüzey glikokonjugatlarının hızlı ve hatasız ayrılmasında kullanılabilirliği bir kez daha gösterilmiştir.

Sonuç: Bu yöntemin daha hızlı ve nispeten daha kolay bir yöntem olması, geliştirildiği takdirde MCF 7 ve MDA-MB-231 kanser hücre hatları benzeri ER (+) ve ER (-) göğüs kanserleri hasta örneklerinde kullanılabilirliğini göstermektedir. Bu durumda hastalığın erken teşhisinde, patolojik bulgulara destek ve/veya alternatif bir yöntem olabileceğini düşündürmektedir.

The Analysis of cell surface glycan profiles through fluorescein - labelled Wheat Germ Agglutinin on two different cancer cell lines

Yosun Mater¹, Günnur Demircan²

¹Gebze Technical University, Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Kocaeli

²*Istanbul Bilim University Medical Faculty, Medical Biology and Genetics, Istanbul*

Objective: In this study, Wheat Germ Agglutinin (FITC-Triticum vulgaris [WGA]) with Fluorescein markers which can be specifically bound to some sialic acid types found on cell membrane surfaces and especially the sialic acid sugar of the β -GlcNAc type has been applied to MCF-7 (estrogen receptor positive [ER+]) ve MDA-MB-231 (estrogen receptor negative [ER-]) breast cancer cell line. Thus, certain sialic acid residues seen on the membrane surfaces of ER(+) and ER(-) breast cancer cells were specifically labeled and the irradiation differences were relatively analyzed.

Materials-Methods: FITC-Triticum vulgaris [WGA] applied on MCF-7 and MDA-MB-231 has specific binding properties to N-acetylglucosamine oligomers, units of sialic acids (GlcNAc, Neu5Ac) and especially glycan unit containing sialic acid of β -GlcNAc type. The labeling procedure used was modified and improved to work with conventional fluorescent labeling procedures.

Results: It is clearly demonstrated that Lectin having the ability to label sugar residues and lectin can determine N-acetylglucosamine oligomers, units of sialic acids (GlcNAc, Neu5Ac) and especially Glycan unit containing sialic acid of β -GlcNAc type which are located on the cell surface within 3 hours. Thus, shown once again, Immunofluorescently labeled lectins bind to sugar residues and can be used for rapid and error-free separation of cell surface glycoconjugates.

Conclusion: This method is faster and easier. If it is developed, demonstrating that ER(+) and ER(-) breast cancer like MCF-7 and MDA-MB-231 cancer cell lines can be used in patient samples. This suggests that there may be an alternative method and/or support for pathological findings in the early diagnosis of the disease.

SS - 041

Karaciğer iskemi/reperfüzyon hasarında, karaciğer ve uzak organlarda Endoplazmik Retikulum (ER) stresinin rolü

Erkan Ermiş¹, Pınar Baysan Çebi¹, Hasibe Verdi¹, Güldal Esendağlı Yılmaz², Yahya Ekici¹, F. Belgin Ataç¹

¹Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

Karaciğer iskemi/reperfüzyon(I/R) hasarı, pringle manevrası gerektiren karaciğer cerrahisinde ve transplantasyonunda geçici iskemi ve sonrasında dolaşımın tekrar sağlanmasıyla oluşmaktadır. Reperfüzyon sırasında açığa çıkan serbest oksijen radikalleri IR hasarında önemli rol oynamaktadır. Ortaya çıkan bu serbest radikallerin de etkisiyle endoplazmik retikulumda(ER) biriken katlanmamış /hatalı katlanmış proteinler sonucu ER stresi tetiklenmektedir. Çalışmamızda karaciğerde oluşan hasara ek olarak diğer uzak organlardaki olası ER stresinin varlığının ve hücre ölümü üzerindeki rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla Wistar Albino 15 adet erişkin erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar rastlantısal olarak 3 gruba ayrıldı. Grup1 (İskemi/reperfüzyon):orta hat insizyonu ile açılarak karaciğere giden hepatik portal ven ve hepatik arter bulldog klemp ile kapatıldı.60dk iskemi süresi sonunda,60dk reperfüzyona bırakıldı. 60dk'nın sonunda ise sakrifiye edildi.Grup2(Sham):orta hat insizyonu ile açılarak 120dk bekletilip sakrifiye edildi. Grup3(Kontrol):Bu gruptaki sıçanlara hiçbir işlem uygulanmayıp, sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen tüm sıçanların karaciğer,akciğer,böbrek ve beyinleri patolojik inceleme ve RNA izolasyonu için alındı. Elde edilen RNA'lar cDNA'ya çevrilip, light cycler480 cihazında ER stres genleri olan GRP78, PERK, ATF6 ve CHOP ifadelenmelerine bakıldı. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi. Karaciğer,akciğer,böbrek ve beyinde ER stres gen ifadelerinde sham grubuna göre farklı oranlarda artış gözlemlendi. Patolojik değerlendirme sonucunda İskemi/reperfüzyon grubunda,hepatosit kordonlarında daralma ve hepatoselüler kayıp ile karakterize parankim hücre zedelenmesi ve nötrofil lökosit infiltrasyonu görüldü. Literetürde ilk kez karaciğer I/R hasarı sonrası karaciğerin yanı sıra uzak organlarda ER stresinin etkisi gözlemlendi. Sonuç olarak ER stresinin hem lokal hem de uzak organlarda etkili bir rol oynadığı düşünülmektedir. IR' na bağlı olarak gelişen ER stresinin dokular üzerinde yarattığı etkinin araştırılması gereken önemli bir konu olduğunu düşünmekteyiz.

The role of Endoplasmic Reticulum (ER) stress in liver and distant organs during liver ischemia/reperfusion injury

Erkan Ermiş¹, Pınar Baysan Çebi¹, Hasibe Verdi¹, Güldal Esendağlı Yılmaz², Yahya Ekici¹, F. Belgin Ataç¹

¹Baskent University Medical Faculty, Department of Medical Biology, Ankara

²Gazi University Medical Faculty, Department of Pathology, Ankara

Liver ischemia/reperfusion (I/R) injury, occurs in pringle maneuver requiring liver surgery by ischemia, and after that re-establishment of circulation. Free oxygen radicals, which emerge during reperfusion, play an important role in I/R injury that may induce unfolded / misfolded proteins in endoplasmic reticulum (ER) trigger ER stress. An attempt was therefore made to assess the role of ER stress in cell death and the presence of this stress in both liver and in distant organs. Wistar Albino male rats were used. Group1(I/R): Rats were opened with midline incision and hepatic-portal-vein and the hepatic-artery were closed with a bulldog clamp. At the end of 60 minutes ischemia period, 60 minutes of reperfusion was applied. The rats were sacrificed at the end of reperfusion. Group2(Sham): Rats were opened with midline incision and after 120 minutes rats were sacrificed. Group3 (Control): No procedures were applied to this group. All of tissues were collected for pathological examination and ER-stress gene expression. GRP78, PERK, ATF6, CHOP were examined with LC480 device. Results were evaluated as statistically significant. There was an increase in the expression levels of ER stress genes in liver, lung, kidney and brain when compared with sham group. In addition parenchymal cell injury and neutrophil leukocytes infiltration which was characterized with narrowing of hepatocytes cords in I/R group. After liver I/R injury effect of ER stress was observed in distant organs in addition to liver. The results indicate that ER stress after I/R effect both local and distant organs.

İMMÜNOBİYOLOJİ
IMMUNOBIOLOGY

SS - 047

TNF- α Reseptör 1 (TNFR1) Sinyal İletimi, JAK2, c-Src ve Protein Kinaz A (PKA) aracılı fosforilasyonlarla düzenlenmektedir

Fatma Zehra Hapil, Fatma Ece Copuroglu, Ufuk Mert,
Osman Nidai Ozes

*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik
Anabilim Dalı*

TNF- α , birçok farklı sinyal yolağını aktive edebilen bir sitokin olup, etkilerinin çoğunu tip 1 reseptörü TNFR1 sayesinde sağlamaktadır. TNFR1 aracılı NF- κ B, apoptoz ve nekroptoz yolları ince detaylarıyla bilinmesine rağmen, ERK ve Akt aktivasyon mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Bilinen sitokin ve interferon reseptörleri, tirozin fosforilasyonlarına uğramalarına müteakip bu yolları açmaktadır. TNFR1'in c-Src ve JAK2 gibi tirozin kinazlara bağlandığı gösterilmiştir. Bu nedenle, TNFR1'in tirozin fosforilasyonuna uğruyor olabileceğini ve bu fosforilasyonun SH2 bölgesi barındıran Grb2 ve p85 proteinleri için bağlanma alanı oluşturarak TNF-aracılı ERK ve Akt aktivasyonlarında rol oynayabileceğini; TNFR1 tarafından aktive edilebilen bir anti-inflammatuar protein olan PKA'nınsa, bu süreci düzenliyor olabileceğini öngördük.

TNFR1'in JAK2, c-Src ve PKA tarafından fosforile edildiğini *in vitro* kinaz reaksiyonlarıyla gösterdikten sonra, muhtemel fosforilasyon motiflerini (Y360,Y401,T411,T417) alanin(A) ve aspartat(D) aminoasitlerine dönüştürdük.Bu mutantların ERK ve Akt aktivasyon fosforilasyonlarına etkilerini western blot;Grb2 ve p85 bağlama yetilerini co-immunopresipitasyon;NF-κB aktivasyonuna etkilerini NF-Luc lusiferaz sistemi,apoptotik süreçte etkisini kolorimetrik kaspaz-3,8 aktivasyon ölçümü,nekroptoz etkisini supernatantta DNA fragmentasyon deneyi, hücre sağkalımına etkisini ise MTT ile belirledik. Elde ettiğimiz sonuçlara göre TNFR1,c-Src tarafından Y360, JAK2 tarafından Y401 ve PKA tarafından T417 noktalarından fosforile edilmekte,PKA fosforilasyonu tirozin fosforilasyonunu baskılamaktadır.TNFR1'in Y401'den fosforilasyonu TNFR1 sinyalzomunda Grb2 ve p85 bağlantısını kuvvetlendirip,ERK ve Akt aktivasyonlarından artışa yol açmakta,Y360 noktasından fosforilasyonuyla ERK aktivasyonunu baskılamaktadır.Her iki tirozin fosforilasyonu da apoptoz ve NF-κB yollarını baskılamakta,Y401D mutanı ile transfekte hücrelerde hücre proliferasyonu azalırken,Y360D mutanı ile transfekte hücrelerde artmaktadır.TNFR1'in PKA tarafından fosforilasyonu, Akt aktivasyonunu baskılamakta, ERK aktivasyonunaysa arttırmaktadır.Sonuç olarak, TNFR1'in ERK aktivasyonunda Y401 ve T417 noktalarından fosforilasyonu pozitif,Y360 fosforilasyonuyla negatif rol oynamaktadır.Akt aktivasyonu ise,TNFR1'in tirozin

fosforilasyonundan pozitif, PKA fosforilasyonundansa negatif etkilenmektedir.

Type 1 TNF- α Receptor (TNFR1) Signaling is regulated by JAK2, c-Src and PKA Mediated Phosphorylations

Fatma Zehra Hapil, Fatma Ece Copuroglu, Ufuk Mert,
Osman Nidai Ozes

Akdeniz University School of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics

TNF- α , a pleiotropic cytokine, exerts most of its effects through its type 1 receptor (TNFR1). Although how TNFR1 signals to apoptosis, necroptosis and NF- κ B activation is extensively studied, exactly how TNFR1 affects the activities of ERK and AKT is less well understood. To our knowledge, for a cytokine or interferon receptor to activate these pathways, the receptor should be phosphorylated at tyrosine residue(s). TNFR1 is demonstrated to interact with JAK2 and c-Src tyrosine kinases. As there are two putative tyrosine phosphorylation sites in the death domain of TNFR1, we hypothesized that TNFR1 could be tyrosine phosphorylated, and these phospho-tyrosine residues may recruit SH2 domain-bearing proteins such as Grb2 and PI3Kp85 to engage ERK and Akt activation pathways, respectively. Besides, PKA, an anti-inflammatory protein kinase activated by TNF- α could regulate TNFR1 tyrosine phosphorylation.

After we demonstrated JAK2, c-Src and PKA-mediated phosphorylations of TNFR1 by *in vitro* kinase reactions, we substituted putative phosphorylation sites (Y360, Y401, T411, T417) with alanine (A) and aspartate (D) residues. We investigated influences of these mutants to ERK and Akt activation phosphorylations by western blot, Grb2 and p85 interactions by co-immunoprecipitation, NF- κ B activation by NF-luc assay, apoptosis by colorimetric caspase assays, necroptosis by DNA fragmentation assay, cell proliferation by MTT. Our results show that TNFR1 is phosphorylated by c-Src at Y360, by JAK2 at Y401, and by PKA at T417. PKA phosphorylation attenuates tyrosine phosphorylation. Y401 phosphorylation leads to increased binding affinity to both Grb2 and p85, and augmented ERK and Akt activations, while Y360 phosphorylation suppresses ERK activation. Both tyrosine phosphorylations suppress apoptosis and NF- κ B pathways. Transfection with Y401D mutant decreased, Y360D mutant increased cell proliferation. PKA-mediated phosphorylation of TNFR1 suppresses Akt, but augments ERK pathways.

Bu çalışma, SBAG113s335 proje numarası ile Tubitak, TDK-2016-1272 proje numarası ile Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından desteklenmiştir.

SS - 048

Sıçan karaciğer dokusunda fluoresan işaretli lektinler ile hücre yüzey glikanlarının analizi

Sule Beyhan Ozdas¹, Yosun Mater²

¹*Istanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Bilimler Tıbbi
Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul Türkiye*

²Gebze Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kocaeli, Türkiye

Amaç: Bu çalışmamızda, normal karaciğer dokusun oluşturan karaciğer hücrelerinin, kan damarlarının ve safra kanallarının hücre yüzeylerinde yer alan galaktoz (Gal β 4GlcNAc) şekere, N-asetilglukozamin oligomerlerine, sialik asidine (GlcNAc, Neu5Ac) özellikle de β -GlcNAc tipi sialik aside özgün olarak bağlanabilen iki farklı Fluorescein (FITC) işaretli lektin kullanılmıştır. Böylece karaciğer dokusu içinde yer alan hücrelerin zar yüzeylerinde görülen bazı şeker rezidülerinin lektinler ile spesifik olarak işaretlenebilirliği ve bunların mikroskopik olarak görüntülenebilirliği irdelenmiştir.

Gereç-Yöntem: Bu amaçla çalışmamızda Sprague Dawley türü sağlıklı sıçanların karaciğer dokuları kullanılmıştır. Doku kesitleri üzerine uygulanan ve spesifik olarak belirli dizilere bağlanma özelliğine sahip olan fluoresein işaretli lektinlerden ilki, Maackia amurensis-1 lektini (FITC-MAL-I) diğeri ise Fluoresein işaretli Wheat Germ Aglutinin (FITC-WGA) lektinidir. FITC-MAL lektini sialik asit üzerinde yer alan Gal β 4GlcNAc'ı işaretlerken FITC-WGA ise GlcNAc ve Neu5Ac'i de işaretlemekle beraber, özellikle β -GlcNAc tipi sialik asidi işaretler. Çalışmamızda kullanılan fluoresein işaretleme prosedürü, amaçlanan çalışmaya uygun olarak modifiye edilmiş ve geliştirilmiştir. Çalışma sonunda elde edilen doku kesiti boyamaları Nikon Eclipse 80i Fluoresan Mikroskopu ile incelenmiş ve elde edilen mikrograflar irdelenmiştir.

Bulgular: Bu çalışmada kullanılan yöntem ile, şeker rezidülerini spesifik olarak işaretleyebilme kabiliyetindeki lektinlerin hücre yüzeylerinde yer alan Gal β 4GlcNAc, N-asetilglukozamin oligomerlerinin, GlcNAc, Neu5Ac ve özellikle β -GlcNAc tipi sialik asit miktarlarındaki farklılıklar ortaya konulmuştur.

Sonuç: Çalışmamız sonucunda modifiye edilip geliştirilerek uygulanmış olduğumuz bu yöntem sayesinde, hücre yüzey şekerlerinin hızlı ve hatasız ayrılmasında kullanılabileceği gösterilmiştir. Elde ettiğimiz bulgular neticesinde kullanmış olduğumuz bu yöntemin geliştirilmesi ile bazı hastalıkların erken teşhisinde etkili bir yöntem olarak tercih edilebileceğini düşünmekteyiz.

The analysis of cell surface glycan profiles through fluorescein-labelled lectins on rat liver tissue

Sule Beyhan Ozdas¹, Yosun Mater²

¹*Istanbul Bilim University, Faculty of Medicine, Basic Sciences Division, Department of Medical Biology and Genetics, Istanbul, Turkey*

²Gebze Technical University, Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Kocaeli, Turkey

Objective: Two different Fluorescein (FITC) labeled lectins were used in our study. These are specifically bind to galactose (Gal β 4GlcNAc) sugar, N-acetylglucosamine oligomers, and sialic acid (GlcNAc, Neu5Ac), especially β -GlcNAc type sialic acid, which are present on the liver tissue's cell membrane surfaces of blood vessels and bile ducts.

Thus, it has been investigated that certain sugar residues seen on the membrane surfaces of cells in the liver tissue can be specifically labeled with lectins and displayed microscopically.

Materials-Methods: In our study we used Spraque Dawley type healthy rats. Fluorescein-labeled lectins, which are applied on liver tissue sections and specifically bind to the obtained sequences, are Maackia amurensis-1 lectin (FITC-MAL-I) and Wheat Germ Agglutinin (FITC-WGA). FITC-MAL-I labels Gal β 4GlcNAc on sialic acid whereas FITC-WGA labels GlcNAc and Neu5Ac, especially β -GlcNAc type sialic acid. The fluorescein labeling procedure used in our study has been modified and improved in accordance with the study. The obtained results were analyzed with a Nikon Eclipse 80i Fluorescent Microscope.

Results: Our method used in this study revealed differences in the amounts of target sugar residues (Gal β 4GlcNAc, N-asetilglukozamin oligomers, GlcNAc, Neu5Ac and especially β -GlcNAc type sialik acid) on the cell surface of lectins capable of labeling sugar residues.

Conclusion: Our study shows that the efficiency of the method we use to quickly and accurately separate cell surface sugars. According to our results, if this method is further developed, it may be preferred as an effective method for the early diagnosis of some diseases.

SS - 002

Hepatoselüler karsinom hücrelerinde ilaç muamelesine hassas yeni moleküler hedeflerin entegre çoklu-omik veri analizleri kullanılarak belirlenmesi

Gökhan Yıldız¹, Pelin Telkoparan Akıllılar²

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji
Anabilimdalı, 61080, Trabzon, Türkiye

²Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji
Anabilimdalı, 06520, Ankara, Türkiye

Amaç: Hepatoselüler karsinom (HSK) kansere bağlı ölümlerde dünyada üçüncüdür. HSK hücreleri, kemoterapötik ajanlara karşı yüksek direnç gösterirler ve HSK tedavisi için moleküler hedefli ilaçların bulunmasına ihtiyaç vardır. Bu çalışmanın amacı, çoklu-omik veri analizlerinin birleştirilmesiyle HSK hücrelerinde ilaç muamelesine hassasiyet gösteren moleküler hedefler ağıni belirlemektir.

Gereç-Yöntem: 16 farklı HSK hücre hattına uygulanan 225 ilaç muamelesinin verileri Genomics of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC) veri tabanından alındı. HSK hücrelerinin bu muamelelere verdikleri yanıt profilleri, kümeleme analiziyle; ilaç muamelesine hassas hedefler Gen Seti Zenginleşme Analizi'yle (GSZA) belirlendi. Belirlenen genlerin ve biyolojik partnerlerinin HSK hücrelerindeki ekspresyon değerleri mikrodizin (GSE36133); genetik verileri Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC) veri tabanı analizleriyle belirlendi. Tüm sonuçlar, PathVisio programı kullanılarak bir sinyal ağında birleştirildi.

Bulgular: Kümleme ve GSZA analizleriyle HSK hücrelerinin ilaç muamelelerine gösterdikleri yanıt profillerine göre iki gruba ayrıldıkları ve bu grupların ilaç muamelelerine hassasiyetleriyle/dirençleriyle ilişkili 6 ana hedefin bulunduğu (mTORC1, mTORC2, DNAPK, mTOR, EGFR, IKK ve PI3K; her biri $p<0.05$) belirlenmiştir. Bu genlerin ve kodladıkları proteinlerin biyolojik partnerlerinin (740 gen) transkriptomik ve genomik verilerinin analizleri neticesinde, ilaç muamelesine hassas ve dirençli hücreler arasında 11 gende ekspresyon (her biri $p<0.05$) ve 2 gende somatik mutasyon (ITPR2 ve PIK3R4, $p=0.039$) farklılığı belirlenmiştir. Elde edilen tüm verilerin bir moleküler ağda birleştirilmesiyle, HSK hücrelerinde ilaç muamelelerine daha hassas olan sinyal ağı belirlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışmayla, HSK hücrelerinin ilaç muamelelerine gösterdikleri dirençte ve hassasiyette rol oynayan ve HSK'ya karşı moleküler hedefli yeni tedavilerin geliştirilebilmesinde hedeflenebilecek sinyal ağı biyoinformatik yöntemlerle belirlenmiştir.

Integrated multi-omics data analyses identified novel drug sensitivity associated molecular targets of hepatocellular carcinoma cells

Gökhan Yıldız¹, Pelin Telkoparan Akıllılar²

¹Karadeniz Technical University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, 61080, Trabzon, Turkey

²Yuksek Ihtisas University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, 06520, Ankara, Turkey

Objective: Hepatocellular carcinoma (HCC) is the third leading cause of cancer related deaths, worldwide. HCC cells are highly resistant to chemotherapeutic agents; and molecularly targeted drugs against HCC are needed. The aim of this study is to determine drug sensitivity-associated molecular targets network of HCC cells by integrating multi-omics data.

Materials-Methods: Results of 225 different drug treatments on 16 HCC cell lines were retrieved from Genomics of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC) database. Drug response profiles of HCC cells; and drug-sensitive molecular targets were determined with clustering and Gene Set Enrichment Analysis (GSEA), respectively. Expression and genetic alteration data of the defined genes and their biological partners in HCC cells were analysed using microarray (GSE36133) and Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC) data, respectively. All results were integrated into a network using PathVisio software.

Results: Cluster analyses determined that, HCC cell lines consist two groups according to their drug response profiles. Further analyses of these groups with GSEA revealed drug treatment sensitivity/resistance-associated molecular targets (mTORC1, mTORC2, DNAPK, mTOR, EGFR, IKK and PI3K; all $p < 0.05$). Transcriptomics and genetic analyses of these genes and their biological partners (740 genes) revealed that, 11 genes are differentially expressed ($p < 0.05$); and 2 genes have somatic mutations (ITPR2 ve PIK3R4, $p = 0.039$) between drug sensitive and resistant cells. Integration of the obtained data to a molecular pathway revealed drug treatment sensitivity-associated network in HCC cells.

Conclusion: The results of this study provide drug sensitivity-associated molecular targets network for development of novel molecularly targeted therapies against HCC.

SS - 003

Prostat kanserinde palladyum (II) kompleksi ve microRNA Ekspresyonu

Hale Şamli¹, Buse Vatansever², Murat Şamli³, Nazlıhan
Aztopal², Veysel Turan Yılmaz⁴, Deniz Dinçel¹

¹*Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Genetik Ana Bilim Dalı, Bursa*

²Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Bursa

³Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

⁴Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Ana Bilim Dalı, Bursa

Etkili anti-kanser aktivitelelerinden dolayı, Platin grubu elementlere olan ilgi son yıllarda giderek artmaktadır. Bir Platin grubu elementi olan Palladyum(II) bileşiğinin, birçok kanserin tedavisinde yeni bir bileşik olabileceği ihtimali son zamanlarda bilim dünyasında büyük umut yaratmıştır. Yeni sentezlenmiş Palladyum(II) bileşiklerinin prostat kanserindeki büyüme baskılayıcı aktiviteleri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Ancak, Palladyum(II) bileşiğinin prostat kanserinde microRNA (miRNA) ekspresyon profili üzerindeki etkisi günümüze kadar hiç araştırılmamıştır. Bu amaçla; çalışmamızda Yılmaz ve ark. tarafından sentezlenen Palladyum(II) kompleksinin $[Pd(II)], [PdCl(terpy)](sac) \cdot 2H_2O$ ($terpy = 2,2':6',2''$ -terpyridine ve $sac = Sakkarinat$ anyonu), DU-145, PC-3 (androjen bağımsız), VCaP (androjen bağımlı) prostat kanseri hücre hatları ve PNT1A normal prostat hücre hattı miRNA'larının ekspresyonu üzerine olan etkisini araştırdık.

Başlangıçta, Pd(II) kompleksinin hücreler üzerindeki sitotoksik/apoptotik etkisi araştırıldı. Elde edilen sonuçlar değerlendirilerek, hücrelere 25µM Pd(II) kompleksi uygulandı ve 14 saat sonra, High-Pure-RNA-Isolation-Kit (RocheAppliedScience) kullanılarak total RNA izolasyonları gerçekleştirildi. Elde edilen total RNA'lardan Universal cDNA Sintesis Kit (Exiqon) ile cDNA örnekleri oluşturuldu. Hücrelerin miRNA ekspresyon profilleri, Exilent-SYBR-Green-master-mix(Exiqon) kullanılarak Lightcycler-480 ile analiz edildi.

Pd(II) kompleksinin uygulandığı ve uygulanmadığı (kontrol) kanser hücrelerinde yapılan analiz sonrasında; Pd(II) uygulanan dört hücre grubunun hepsinde kontrol grubuna kıyasla ekspresyonda artış gösteren 33 adet miRNA tespit edilmiştir (Resim-1). Pd(II) uygulanan PC3'de altı (hsa-miR-143-3p, 146b-5p, 224-5p, 296-5p, 616-3p, 3163-1-382096-1), VCap'de bir (hsa-miR-7-5p), PNT1A'da ise iki adet (hsa-miR-106b-5p, 200b-3p) miRNA'nın ekspresyonunda azalma tespit edilmiştir. Sonuç olarak; sentezlenen Pd(II) kompleksinin tüm hücre gruplarında, kontrolle kıyasla ortak pek çok miRNA'nın sentezini artırdığı ve az sayıda miRNA sentezini azalttığı belirlenmiştir. Elde edilen miRNA profilinin Pd(II)

kompleksinin hücre içerisindeki işleyiş mekanizmasının
çözülmesinde kaynak oluşturacağı kanaatindeyiz.

Palladium (II) complex and microRNA expression in prostate cancer

Hale Şamlı¹, Buse Vatansever², Murat Şamlı³, Nazlıhan Aztopal², Veysel Turan Yılmaz⁴, Deniz Dinçel¹

¹Department of Genetics, Faculty of Veterinary Medicine,
University of Uludag, Bursa

²*Department of Biology, Institute of Sciences, University of Uludag, Bursa*

³Department of Urology, Faculty of Medicine, University of Acibadem, İstanbul

⁴Department of Chemistry, Faculty of Arts and Science,
University of Uludag, Bursa

There is an increasing interest in Platinum group elements in recent years because of its effective anti-cancer activities. It's promising that as a platinum group element, Palladium(II) [Pd(II)] complex may be a novel compound in the treatment of many cancers. There are many studies of newly-synthesized Pd(II) complexes on growth inhibitory activity on prostate cancer. However, effect of Pd(II) complex on microRNA(miRNA) expression profiles in prostate cancer has not been yet investigated. We investigated effect of Pd(II) complex (Pd(II)), [PdCl(terpy)](sac)•2H₂O (terpy=2,2':6',2''-terpyridine and sac=saccharinate-anion) which is the newly-synthesized by Yilmaz et al, on DU-145, PC-3, VCaP prostate cancer cell-lines and PNT1A normal prostate cell-line. Initially, cytotoxic/apoptotic effects of Pd(II) complex on cells were investigated. After evaluation of the outcome, 25 μM of Pd(II) complex was applied to cells and total RNA was isolated after 14h using High-Pure-RNA-Isolation-Kit (Roche Applied Science). Afterwards, cDNA samples were synthesized using Universal-cDNA-Synthesis-Kit (Exiqon). MicroRNA(miRNA) expression profiles of cells were analyzed by LightCycler-480 using Exilent-SYBR-Green-mastermix (Exiqon). Expression of 33 miRNAs were detected to increase in all tumor cell-line series that were treated with Pd(II) when compared to control group of cell-lines series without treatment (Picture-1). Expressions of six miRNAs (hsa-miR-143-3p, 146b-5p, 224-5p, 296-5p, 616-3p, 3163_1_382096-1), one miRNA (hsa-miR-7-5p) and two miRNAs (hsa-miR-106b-5p, 200b-3p) were detected to decrease in Pd(II) treated PC-3, VCaP and PNT1A cell-lines, respectively. As a result, it was determined that the newly synthesized Pd(II) complex have increased and decreased the synthesis of many miRNAs in treated cell-lines compared to control cell-lines. We think that miRNA profiles may provide a source in resolving the functioning mechanisms of Pd(II) complex in cells.

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE

Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi tarafından OUAP(V)-2013/3 no'lu proje tarafından desteklenmiştir.

This study is supported by a Grant from the Research Foundation of Uludag University, the project numbered OUAP(V)-2013/3.

Resim 1: PC-3, DU-145, VCaP ve PNT1A hücre hatlarında ekspresyonu up-regüle olan miRNA'ların listesi

Picture 1: List of the miRNAs that the expressions were up-regulated in PC-3, DU-145, VCaP and PNT1A cell lines

miRNA	Δ/Δ Ct PC3-Pal/PC3	Δ/Δ Ct DU145- Pal/DU145	Δ/Δ Ct VCAP-Pal/VCAP	Δ/Δ Ct PNT1A- Pal/PNT1A
hsa-let-7a-5p	3.74	10.65	6.92	16.81
hsa-let-7b-5p	2.06	6.99	3.06	7.41
hsa-let-7c-5p	7.17	14.12	6.4	8.4
hsa-let-7f-5p	23.99	9.02	52.47	82.54
hsa-miR-100-5p	10.5	57.66	12863.44	37.03
hsa-miR-125b-5p	4.06	10.8	7.32	15.41
hsa-miR-15a-5p	14.6	7.94	16	30.24
hsa-miR-15b-5p	12.86	61.08	25.57	60.31
hsa-miR-16-5p	15.08	11.44	8.72	21.8
hsa-miR-17-5p	8.87	33.39	32.34	17.76
hsa-miR-181a-5p	7.72	12.42	4.57	29.52
hsa-miR-182-5p	5.61	4.4	6.46	16.32
hsa-miR-183-5p	3.92	5.4	6.46	30.31
hsa-miR-196a-5p	5.86	2.68	3.61	6.79
hsa-miR-19b-3p	64.03	10.23	7.53	42.33
hsa-miR-200c-3p	7.83	3.5	2.94	3.38
hsa-miR-20a-5p	4.09	3.85	2.32	19.84
hsa-miR-21-5p	57.48	13.17	15.21	34.06
hsa-miR-222-3p	5.05	6.07	4.98	8.66
hsa-miR-23b-3p	3.61	4.33	2.96	8.01
hsa-miR-24-3p	3.53	3.99	3.27	6.36
hsa-miR-25-3p	5.52	11.21	7.74	14.48
hsa-miR-26a-5p	5.07	28.21	8.67	54.43
hsa-miR-27a-3p	20.91	11.29	7.15	9.13
hsa-miR-27b-3p	12.04	8.16	6.15	31.87
hsa-miR-30c-5p	7.59	5.63	3.78	16.43
hsa-miR-31-5p	2.79	5.65	2.63	6.25
hsa-miR-331-3p	5.36	7.81	5.76	15.82
hsa-miR-361-5p	2.33	2.33	2.38	3.91
hsa-miR-374b-5p	346.4	19.9	13.06	11.87
hsa-miR-425-5p	11.58	16.43	3.33	9.16
hsa-miR-93-5p	3.09	7.45	2.9	11.53
hsa-miR-96-5p	18	4.3	2.42	8.49

SS - 004

Multiple Myeloma hastalarının Myeloma hücrelerinde RNA dizileme ve insilico analizler

**Melda Sarıman¹, Sema Sırma Ekmekci¹, Neslihan Abacı¹,
Aris Çakiris¹, Ferda Perçin Paçal¹, Duran Üstek¹, Mesut
Ayer², Mustafa Nuri Yenerel³, Sevgi Kalayoğlu Beşişik³,
Kıvanç Çefle⁴, Şükrü Palanduz⁴, Şükrü Öztürk⁴**

¹İ.Ü.Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul

²Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Hematoloji BD, İstanbul

³İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Hematoloji BD, İstanbul

⁴İ.Ü.İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Tıbbi Genetik BD, İstanbul

Multiple Myeloma (MM), kemik iliği B hücrelerinin malign hale dönüşmesiyle oluşan hematolojik bir hastalıktır. Hastalığın genetik profili henüz belirlenmemiştir. Çalışmamız da tedavi edilmemiş dört MM hastası ve sağlıklı dört donörün İon Torrent PGM platformu kullanılarak RNA dizilemesi yapılmış ve genlerinin eş zamanlı olarak ifade değişimleri ve genetik varyasyonları araştırılmıştır.

Kemik iliğinden MM hastalarında myelom hücreleri (CD38+,CD138+,CD19-,CD56+) ve sağlıklı donörlerden B hücreleri (CD38+, CD138+, CD19+, CD56-), FACS Aria II Flow sitometri ile hücre yüzeylerine göre ayrıştırılmıştır. RNA-Dizileme kütüphaneleri, myelom hücrelerinin havuzundan ve donör B hücrelerinin havuzundan rRNA uzaklaştırılması ile total RNA'dan hazırlanmıştır. Bu kütüphaneler dizilerek, okumaları (verileri) insan genomuna (GRCh37 / hg19) haritalanmış ve veri analizleri insilico araçlar ile yapılmıştır. Çalışmamız sonucunda, 992 adet yeni ekzon veya alternatif splicing olabilecek aday bölge, 490 adet delesyon veya insersiyon, 1397 adet SNV, 132 adet Frameshift mutasyon bulundu. Hastalarda en fazla kromozom 11 translokasyonu belirlendi. Myeloma profili RPKM değeri kullanılarak ilk 50 genin ekspresyonu sağlıklı hücreler ile karşılaştırıldığında onkogen ailesinden JUN, protein kinaz ailesinden PIM2 ve SIK1, Ubikitin yolağından EEF2, UBB, UBC, transkripsiyon faktör ailesinden FOS, JUND ve KLF, hücre markerlarından CXCR4, CD74, ICAM3 ve SDC1 genlerinin yüksek eksprese olduğu belirlenmiştir. Özellikle Ubikuitin-Proteozom-Endoplazmik Retikulum ile ilişkili HLA-A, HLA-C, TAPBP, TAP1, UBB, gibi MM ile ilişkisi daha önce bildirilmiş bazı genlerde varyasyonlar tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın sonucunda elde edilen veriler MM patogenezinin aydınlatılmasına katkıda bulunacak ve bu konuda yapılacak çalışmalara öncü olacaktır.

RNA sequencing and in silico analysis of Myeloma cells in multiple myeloma patients

Melda Sarıman¹, Sema Sırma Ekmekci¹, Neslihan Abacı¹,
Aris Çakiris¹, Ferda Perçin Paçal¹, Duran Üstek¹, Mesut
Ayer², Mustafa Nuri Yenerel³, Sevgi Kalayoğlu Beşişik³,
Kıvanç Çefle⁴, Şükrü Palanduz⁴, Şükrü Öztürk⁴

¹*Istanbul University, Aziz Sancar Research Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics, Istanbul*

²Haseki Education and Research Hospital, Department of Hematology Istanbul

³I.U, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine Department of Hematology, Istanbul

⁴*U.Istanbul Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Division of Medical Genetics. Istanbul*

Multiple Myeloma (MM); is a hematological disease of transformed malignant B cells. Its genetic profile has not been determined completely. We investigated simultaneous expression changes and genetic variations of four untreated MM patients and four healthy donors using Ion Torrent PGM RNA sequencing.

MM cells (CD38+,CD138+,CD19-,CD56+) and healthy B cells (CD38+,CD138+,CD19+, CD56-) from bone marrow were selected by their cell surface marker using FACSaria II Cell Sorter. RNA-Seq libraries that were prepared from the total RNA pool of MM and donor cells via the depletion of rRNA. These libraries were sequenced and the reads were aligned with the human genome (GRCh37/hg19). Data analysis was performed with in silico tools.

922 possible candidates as new exons and alternative splicing regions were detected. In addition, 490 deletion or insertions and 1397 SNV, 415 fusion transcripts and 132 frameshift mutations were defined in patients. Most commonly observed translocation was chromosome 11 translocation.

Gene expression comparison of the first 50 genes with the highest RPKM value in MM patients and donors resulted with high expression of JUN oncogenous gene, PIM2,SIK1 from protein kinase family, EEF2, UBB,UBC genes from the ubiquitin pathway, FOS,JUND,KLF from the transcription factor family; CXCR4,CD74,ICAM3,SDC1 cell marker genes. Variations of some previously reported genes (HLA-A,HLA-C,TAPBP,TAP1,UBB, which are associated with ubiquitin-proteasome-endoplasmic reticulum) have been identified.

Data from our study will help clarify MM pathogenesis and will pioneer new studies on this topic.

SS - 005

Neoadjuvan kemoterapi alan lokal ileri evre meme kanseri hastalarında dolaşımdaki tümör hücresi moleküler analizleri

Mustafa Akkiprik¹, Perran Fulden Yumuk², Mustafa Ümit Uğurlu³, Sinan Koca⁴, Can Erzik¹, Özkan Alan², İrem Peker¹, Gökçe Güllü¹, Ayşe Özer¹

¹Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.,Maltepe, İstanbul

²Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji, Pendik, İstanbul

³Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD., Pendik, İstanbul

⁴Ümraniye Eğitim Araştırma Hastanesi Tıbbi Onkoloji, İstanbul

Amaç: İzole edilen dolaşımdaki tümör hücrelerinin (CTC) analizi bir "sıvı biyopsi" olarak kanser tedavisinin ve prognozunun öngörülebilmesini sağlayan invaziv olmayan bir kişiye özel tıp uygulamasıdır. Bu çalışmanın amacı neoadjuvan kemoterapi alan lokal ileri evre meme kanserli hastalardan tedavi öncesi ve sonrası periferik kan örnekleri alınarak, CTC moleküler karakterizasyonunu yapmak ve tedaviye verilen yanıt ile ilişkisini ortaya koymaktır.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya 36 neoadjuvan kemoterapi alan lokal ileri evre meme kanserli hasta dahil edilmiş ve hastalardan tedavi öncesi ve sonrası 10 ml kan örnekleri alınmıştır. CTC izolasyonu, tanımlanması ve moleküler analizlerinde immuno-magnetik temelli AdnaTest kitleri kullanılmış, meme kanseri (GA733-2, Muc-1 ve Her-2, Aktin), EMT (PI3K α , Akt-2, TWIST1) ve kök hücre (ALDH1) markerları incelenmiştir. Görüntüleme Agilent 2100 Bioanalizer cihazı kullanılarak DNA 1000 LabChip ile gerçekleştirilmiştir. CTC pozitifliği ve çalışılan markerlar ile tedaviye yanıt (patolojik tam cevap (PCR) ve rezidual hastalık) açısından anlamlılık, Fisher's Exact test ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Otuzaltı hastanın 6'sında (%16,7) tedavi öncesinde CTC pozitifliği saptanmıştır. CTC pozitif olan 6 hastanın 4'ünde kök hücre markeri olan ALDH1 pozitifliği gözlenmiştir (p=0,0245) (Tablo 1). EMT markerlarından PI3Kα ise 3 hastada pozitif bulunmuştur. Hasta takipleri ve tedavileri verilen cevaplar izlenmeye devam etmektedir.

Sonuç: Neoadjuvan kemoterapi alan lokal ileri evre meme kanseri hastalarında CTC pozitifliği ve kök hücre markerlerinin analizi tedaviye verilecek olan cevabın ve hasta sağkalım oranlarının ön görülebilmesi için önemli bir yöntem olabilir. Çalışmalarımız bu kapsamda devam etmektedir.

Molecular analysis of circulating tumor cells in locally advanced breast cancer stage patients receiving neoadjuvant chemotherapy

Mustafa Akkiprik¹, Perran Fulden Yumuk², Mustafa Ümit Uğurlu³, Sinan Koca⁴, Can Erzik¹, Özkan Alan², İrem Peker¹, Gökçe Güllü¹, Ayşe Özer¹

¹Marmara University School of Medicine Department of Medical Biology, Maltepe, İstanbul

²Marmara University School of Medicine Department of Medical Oncology, Pendik, İstanbul

³Marmara University School of Medicine Department of General Surgery, Pendik, İstanbul

⁴Ümraniye Training and Research Hospital, Department of Medical Oncology, İstanbul

Objective: Analysis of circulating tumor cells (CTC) as a "liquid biopsy" is a non-invasive personalized medicine application that allows prediction of cancer treatment and prognosis. The purpose of this study is to determine the molecular characterization of CTCs and to reveal the relation with the response given to the therapy by taking peripheral blood samples before and after treatment from patients taking neoadjuvant chemotherapy.

Materials-Methods: Locally advanced breast cancer stage patients who will receive neoadjuvant chemotherapy were included in the study and 10 ml blood samples were taken before and after treatment. Immuno-magnetic bead based AdnaTest kits were used for CTC isolation, identification and molecular analysis. Breast cancer (GA733-2, Muc-1 and Her-2), EMT (PI3K α , Akt-2, TWIST1) and stem cell (ALDH1) markers were examined. Imaging was performed with DNA 1000 LabChip using Agilent 2100 Bioanalyzer instrument. CTC positivity and response to treatment with studied markers (pathologic complete response and residual disease) were analyzed using Fisher's Exact test.

Results: CTC positivity was detected before treatment in 6 of 36 (16.7%) patients. Four of the six CTC positive patients had ALDH1 positivity as a stem cell marker ($p = 0.0245$). PI3Ka, one of the EMT markers, was found positive in 3 patients. Patient follow-up and response to treatment are still being monitored.

Conclusion: CTC positivity and analysis of stem cell markers in locally advanced breast cancer stage patients who received neoadjuvant chemotherapy may be an important method for predicting the response and patient survival rates. Our work continues in this context.

Bu proje TÜBİTAK (SBAG-115S272) tarafından desteklenmiştir.

CTC pozitifliği ile ALDH1 kök hücre belirtecinin ilişkisi

	ALDH1 pozitif	ALDH1 negatif
CTC pozitif	4	2
CTC negatif	5	25

$p=0,0245$

Relationship between CTC positivity and ALDH1 stem cell marker

	ALDH1 negative	ALDH1 positive
CTC positive	4	2
CTC negative	5	25

$p=0,0245$

SS - 006

Kronik myeloid lösemide Dishevelled proteinlerinin onkojenik etkisinin belirlenmesi

Ceyda Çalışkan¹, Hakkı Ogün Sercan²

¹Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir; İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İzmir

²Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

Kronik miyeloid lösemi (KML), hematopoetik kök hücrelerden kaynaklanan miyeloid hücrelerin proliferasyonu ile gelişen bir hastalıktır. Hastalığın patogenezinde Wnt sinyal yolağında rol alan proteinlerin ifade değişiklikleri ve β -katenin proteinindeki ifade artışı önemli rol oynamaktadır. Dishevelled (Dvl), Wnt sinyal yolağının önemli bir düzenleyicisi olarak tümör gelişimindeki rolleri ile araştırmaların konusunu oluşturmaktadır. Dvl'nin birçok solid tümörde ifadesinin arttığı bilinmekle beraber hematolojik malinilerdeki bilgimiz sınırlıdır.

Ön çalışmalarımızda Dvl genlerinin normal kemik iliğinde ifade olmayıp, KML tanısı almış hastalarda farklı düzeylerde ifade olduğunu belirledik. Bu çalışmadan yola çıkarak hipotezimizi “Dvl, Wnt sinyal yolağı üzerinden KML başlangıcında ve progresyonunda önemli role sahiptir” şeklinde kurguladık. Birinci amacımız Dvl proteinlerinin KML hücre hatlarında onkojenik etkisinin olup olmadığını belirlemektir. İkinci amacımız ise Dvl’nin düzenleyicisi olan CYLD deübikitinaz proteini ile olan etkileşimini ortaya koymaktır. Bu ilişkileri belirlemek amacıyla KML blastik faz hücre hatlarında Dvl1/2/3 genleri siRNA ile sessizleştirilerek PCR Array analizi gerçekleştirilmiştir. Bu sonuçlara göre ifadesinde değişiklik saptanan genlerin protein düzeyindeki ifadeleri de belirlenmiştir. Dvl genlerinin sessizleştirilmesinin hücre canlılığı ve apoptoza etkisi belirlenmiştir. Ayrıca CYLD genin üç farklı KML hücre hattında ifade olup olmadığı ve kodlayıcı dizisinde mutasyon olup olmadığı belirlenmiştir.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre kontrol ile karşılaştırıldığında Dvl sessizleştirilmesi, Wnt sinyal yolağının hem alt hem de üst yolunda pek çok proteini etkileyerek hücrelerin proliferasyon hızını düşürmesini sağlamıştır. KML blastik faz hücre hatlarında CYLD kodlayıcı dizisinde mutasyon bulunmamıştır. Dvl ve CYLD arasında karşılıklı bir düzenleme olduğu belirlenmiştir. Çalışmamız Dvl proteinlerinin KML tedavisinde hedeflenmesinin birbirinden bağımsız pek çok yolak ve proteini birden etkileyebileceğine dair veri sağlamaktadır.

Investigating oncogenic effects of Dishevelled proteins in chronic myeloid leukemia

Ceyda Çalışkan¹, Hakkı Ogün Sercan²

¹Dokuz Eylül University, Department of Medical Biology, İzmir, Turkey; İzmir Institute of Technology, Department of Molecular Biology and Genetics, İzmir, Turkey

²Dokuz Eylül University, Department of Medical Biology, İzmir, Turkey

Dvl is the subject of investigations with roles in tumor development as an important regulator of the Wnt signaling pathway. Expression of Dvl in many solid tumors is upregulated, but our knowledge of Dvls role in hematological malignancies is limited.

We have determined that Dvl genes are not expressed in normal bone marrow, but expressed at different levels in patients with CML. We hypothesized that "Dvl has an important role in the onset and progression of CML through the Wnt pathway". We aimed to determine possible oncogenic effects of Dvl in the CML cell lines and to establish the interaction of Dvl with its regulator CYLD deubiquitinase. For this Dvl1/2/3 genes were silenced in CML blastic phase cell lines and PCRArray analysis was performed. Significantly changed genes were also controlled for their protein expression. Silencing effect of Dvl genes to cell viability and apoptosis was determined. It has also been determined whether there is a mutation in the CYLD gene coding sequence and whether this gene is expressed in the CML cell lines. As a result, Dvl silencing has enabled the cells to decrease the proliferation rate by effecting many proteins in both the upstream and downstream of the Wnt pathway. No mutations were found in the CYLD coding sequence in CML blastic phase cell lines and a correlative relation between the expression of two proteins determined in CML cell lines. Our study suggests that targeting of Dvl proteins in cancer therapy can effect multiple independent pathways and proteins.

Bu çalışma Prof. Dr. Hakkı Ogün Sercan'ın yürütücülüğündeki TUBİTAK 114Z225 No'lu proje ile desteklenmiştir.

SS - 007

Ponatinib ve VS-5584 terapötik ajanlarının Kronik Miyeloid Lösemi lökomogenezine etkileri

Çağla Kayabaşı¹, Besra Özmen Yelken¹, Aycan Aşık¹,
Tuğçe Balcı Okcanoglu², Fatma Söğütü¹, Röya Gasımlı¹,
Sunde Yılmaz Süsluer¹, Çığır Biray Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

²Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Lefkoşa, KKTC

Kronik miyeloid lösemi (KML), t(9;22) mutasyonu nedeniyle BCR-ABL onkoproteinine sahip hücrelerle karakterizedir. Lösemi kök hücreleri (LKH), normal hematopoetik kök hücrelerin (HKH) malignan türevleridir ve dormansileri nedeniyle geleneksel kemoteraplere direnç ve relapsa neden olmaktadır. Ponatinib, T315I mutasyonlu dahil tüm BCR-ABL otofosforilasyonunu inhibe edebilen ATP-yarışmalı tirozin kinaz inhibitörüdür. VS-5584, tercihen kanser kök hücrelerini öldüren, potent, seçici PI3K-mTOR dual-inhibitörüdür.

Çalışmamızda VS-5584 ve/veya ponatinib ile hem KML hem de lösemi kök hücreleri hedeflenerek, apoptoz, hücre döngüsü, onkogenik Akt yolağı fosforilasyonu ve transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerinde meydana getirdikleri değişimlerin araştırılması amaçlanmıştır.

K562 (KML), LSC (LKH) ve HSC (HKH) hücre hatlarında, VS-5584'ün, ponatinibin ve kombinasyonlarının sitotoksik etkileri WST8 ile ölçüldü. Kombinasyon indeksleri CalcuSyn izobologram analiziyle değerlendirildi. Belirlenen IC50, IC75, ED50 ve ED75 dozlarının apoptotik etkileri AnnexinV ve Kaspaz3 analizleri ile akım sitometride, hücre döngüsüne etkileri PI analizi ile akım sitometride ve siklin D1, p27 antikollarıyla westernblot ile değerlendirildi. Fosforilasyon değişimleri "PathScan Akt-Signaling Antibody Array" ile incelendi.

K562, LSC ve HSC hücreleri için sırasıyla, IC50(VS-5584) 270nM, 622nM, 826nM, IC75(VS-5584) 1,1µM, 6µM, 33,9µM, IC50(ponatinib) 0,7nM, 726nM, 826nM, IC75(ponatinib) 1,8nM, 1,3µM, 1,5µM olduğu, ED50 aditif, ED75 ve ED90 sinerjistik etki gösterdiği belirlendi. Ponatinibin indüklediği apoptoza ek olarak, VS-5584'ün hücre döngüsünde belirgin G0/G1 duraklamasına neden olduğu gösterildi. Özellikle LSC hücrelerinde, ponatinib Akt yolağını baskılamada yetersiz kalırken, VS-5584 ile kombinasyonu hücrelerde başta S6, S6K, BAD olmak üzere birçok proteinin fosforilasyonu inhibe ederek Akt yolağını baskıladığı belirlendi.

KML' de aktif olduğu bilinen BCR-ABL bağımsız onkogenik yolların VS-5584 ile baskılanması, geleneksel tirozin kinaz inhibitörü tedavisinin hedeflemekte yetersiz kaldığı LKH' lerin eliminasyonu için umut vadetmektedir.

The effects of the therapeutic agents Ponatinib and VS-5584 on Chronic Myeloid Leukemia leukemogenesis

Çağla Kayabaşı¹, Besra Özmen Yelken¹, Aycan Aşık¹,
Tuğçe Balcı Okcanoğlu², Fatma Söğütlü¹, Röya Gasımlı¹,
Sunde Yılmaz Süslüer¹, Çığır Biray Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Izmir

²Near East University, Vocational School of Health Sciences,
Nicosia, TRNC

Chronic myeloid leukemia (CML) is characterized by cells with BCR-ABL oncoprotein due to t(9,22). Leukemia stem cells (LSC) are malignant derivatives of hematopoietic stem cells (HSC) and cause resistance to chemotherapy because of dormancy. Ponatinib is ATP-competitive tyrosine kinase inhibitor (TKI) capable of inhibiting all BCR-ABL autophosphorylation, including T315I-mutant. VS-5584 is selective PI3K-mTOR dual-inhibitor, preferably killing cancer stem cells.

We aim to investigate changes in apoptosis, cell cycle, oncogenic Akt pathway phosphorylation, and transcription factor activity by targeting CML and LSC with VS-5584 and/or ponatinib.

Cytotoxic effects of VS-5584 and/or ponatinib on K562, LSC, HSC were measured with WST8. Combination indices were evaluated by CalcuSyn isobologram analysis. Apoptotic effects were evaluated with AnnexinV and Caspase3 assays, effects on cell cycle were assessed using PI assay with flow-cytometry and by cyclinD1, p27 antibodies with western blot. Phosphorylation changes were examined with "PathScan Akt-Signaling Antibody Array".

It was determined that IC50(VS-5584) 270nM, 622nM, 826nM, IC75(VS-5584) 1,1μM, 6μM, 33,9μM IC50(ponatinib) 0,7nM, 726nM, 826nM, IC75(ponatinib) 1,8nM, 1,3μM, 1,5μM for K562, LSC, HSC, respectively. ED50 doses were additive, ED75 showed synergistic effect. In addition to ponatinib-induced apoptosis, VS-5584 was shown to cause marked G0/G1 arrest. In LSC, while ponatinib was able to suppress Akt pathway through inhibiting the phosphorylation of several proteins including S6, S6K, BAD in combination with VS-5584, it was insufficient to suppress alone.

VS-5584 mediated suppression of BCR-ABL independent oncogenic pathways known to be active in CML, promises hope for the elimination of LSCs that can't be targeted with traditional TKI therapy.

SS - 008

Malign Mezotelyoma ve Benign Asbest Plörizilerinin karşılaştırmalı genom çapı taranması

Tunç Tuncel¹, Muzaffer Metintaş², Güntülü Ak², Hasan
Veysi Güneş¹

²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

Amaç: Malign Mezotelyoma (MM) genellikle plevra ve peritondan köken alan agresif, nadir bir kanserdir. MM'de en önemli risk faktörü asbest maruziyetidir. Asbestin hücreye verdiği hasarı açıklayan mekanizmalar öne sürülmüş olmasına rağmen, henüz konu hakkında kabul gören bilgiler oluşmamıştır. Asbest maruziyeti kimi temaslıda kansere, kimi temaslı da benign plevral veya akciğer hastalıklarına yol açmaktadır. Çalışmamızda bu durumun altında yatan genetik temeli araştırmak amacıyla MM ve Benign Asbest Plörizisi (BAP) olan bireylerin genomlarını karşılaştırmalı olarak SNP array (Affymetrix/CytoScanHD) ve tüm genom dizileme (Illumina HiSeqX) yöntemleriyle inceledik.

Gereç-Yöntem: ESOĞÜ APKAM'DA değerlendirilen 55 MM'li hastanın plevral tümöründen ve 18 BAP'lı bireyin plevra dokusundan elde edilen DNA, tüm genom SNP array ile taranmış, iki grup arasındaki kopya sayısı değişimleri Nexus Copy Number7.5 programı ile karşılaştırılmıştır. SNParray analizi sonucu hasta grubunda gözlenen kompleks anomali kalıplarını detaylı incelemek, hastalıkla ilişkili aday nükleotid varyantları saptamak ve array verilerini doğrulamak amacıyla 3 MM'li bireyin genomu dizilenmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda MM grubuna özgü anomaliler frekanslarıyla belirlenmiştir. BAP grubunda ise asbest maruziyetine karşı koruyucu etki gösterebilecek NF2 geni kopya sayısı değişimleri bulunmuştur. MM hastalarında sarkomatid tipe özgü farklı anomali kalıbı gözlenmiştir. Tüm genom dizileme yönteminde SNParray ile belirlenememiş, intra-inter kromozomal yeniden-düzenlemeler, Chromoanagenesis benzeri oluşumlar ve SKA3-DDX10 gen füzyonu saptanmıştır. Aralarında MM yatkınlık geni olarak bilinen BAP1 geninde yeni bir frameshift mutasyon ile diğer kanser türleriyle ilişkilendirilmiş bazı patojenik nükleotid varyantları bulunmuştur.

Sonuç: Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar asbestin neden olduğu Malign, Benign değişikliklerin patogenezi hakkında yeni bilgiler vermektedir. Bulunan genetik belirteçlerin, erken tanı ve kişiselleştirilmiş tedavi hedefleri dikkate alınarak fonksiyonel çalışmalarla desteklenmesinin yararlı olacağı kanaatindeyiz.

Comparative genome wide scanning of Malignant Mesothelioma and Benign Asbestos Pleurisy

Tunç Tuncel¹, Muzaffer Metintaş², Güntülü Ak², Hasan
Veysi Güneş¹

¹Eskisehir Osmangazi University Department of Medical Biology
²Eskisehir Osmangazi University Department of Chest Diseases

Objective: Malignant mesothelioma (MM) is an aggressive, rare cancer that usually originates from pleura and peritoneum. Most important risk factor for MM is asbestos exposure. Despite the fact that mechanisms explaining the damage caused by asbestos to the cell have been put forward, there is no accepted information about the subject yet. Asbestos exposure leads to cancer in some contacts and in some cases leads to benign pleural or pulmonary diseases. We scanned genomes of individuals with MM and Benign Asbestos Plaque (BAP) in comparison, by SNParray and whole genome sequencing.

Methods: DNA extracted from the pleural tumor of the 55 MMs and the pleural tissue of the 18 BAP individuals evaluated in ESOGU/APKAM were scanned with SNParray and the copy number changes between the two groups were compared. 3MM genomes sequenced in order to examine the complex anomaly patterns, identify candidate nucleotide variants, and to confirm array-data.

Findings: We discovered anomalies and their frequencies specific to MM group. In BAP group, We found NF2 copy number changes that may be a protective effect against asbestos exposure. We found anomalies specific to Sarcomatoid MM. We found Intra-inter chromosomal rearrangements, chromoanagenesis-like patterns and SKA3-DDX10 gene-fusion by WGS. Several pathogenic nucleotide variants associated with other cancer types have been found with the new frameshift mutation in the BAP1 gene.

Conclusion: The results of our study provide new information on the pathogenesis of malignant, benign changes caused by asbestos. It will be useful to support our data with functional studies for early diagnosis and personal medicine.

TÜBİTAK ProjeNo:115S819, ESOĞÜBAP:201311035,201411D04 tarafından desteklenmiştir.

Bu çalışma "Sağlık Bakanlığı, Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü tarafından desteklenen "Mineral Lifleriyle Çevresel ve Mesleksel Temasin Yol Açtığı Akciğer Patolojilerinin Yönetimine Yönelik İşbirliği Ağı Projesi" kapsamında toplanan hasta verileri ve biyolojik ürünler kullanılmıştır.

SS - 009

2-Hidroksi-5 metoksiasetofenon
tiyosemikarbazon ve N(4) - türevli çinko
komplekslerinin antikanser etkilerinin
değerlendirilmesi

Gökçe Erdoğan¹, Suray Pehlivanoğlu², Osman Nida
Özeş³, Ercan Türkkân⁴, Mükerrerem Fındık⁵, Emine Güler
Akgemci⁵

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü, Antalya

²Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Konya

³Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü, Antalya; ALTAY Biopharma LLC. San Bruno, CA, 94066. ABD

⁴Necmettin Erbakan Üniversitesi, Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi, Fizik Eğitimi Bölümü, Konya

⁵Necmettin Erbakan Üniversitesi, Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi, Kimya Eğitimi Bölümü, Konya

Tiyosemikarbazonlar ve metal kompleksleri antimikrobiyal ve antikanser özelliklere sahip bileşiklerdir. Bu çalışmada, sentezlediğimiz 2-hidroksi-5 metoksiasetofenon tiyosemikarbazon ve N(4)- türevli Zn komplekslerinin antikanser özelliklerini belirlemeyi amaçladık.

Bunun için, meme kanseri modeli olarak metastatik olmayan MCF-7 ve metastatik MDA-MB-231 hücrelerini, yumurtalık kanseri modeli olarak A2780 ile bundan türetilmiş ve cisplatin dirençli CIR5 hücreleri ve prostat kanser hücre hattı olarak da LnCap hücrelerini kullandık. Hücreler kuyucuk başına 1×10^4 hücre olacak şekilde ekildi. 24 saat sonra hücrelere 1000 μM - 500 μM - 250 μM - 100 μM - 50 μM - 10 μM - 1 μM - 0,1 μM - 0,01 μM dozlarında Zn-HMAT, Zn-HMAPT, Zn-HMAET tiyosemikarbazon bileşikleri verildi. Bileşiklerin muamelesinden 48 saat sonra hücre canlılığını MTT yöntemi ile belirledik. MTT sonucuna göre farklı kanser hücre hatlarına bileşiklerimiz karşı olan duyarlılığı farklıdır. MDA-MB-231 hücrelerinde EC_{50} Zn-HMAT için 52.53 μM , Zn-HMAPT için 17.11 μM ve Zn-HMAET için 104.4 μM olarak belirlenmiştir.

Bileşiklerimizin kanser metastazı üzerine etkisini araştırmak için MDA-MB-231 hücrelerini bileşiklerimizin belirlediğimiz EC₅₀ değerlerinde muamele edip 24 saat sonra hücre lizatlarını hazırladık ve EMT belirteçleri Twist1, Vimentin, N-Cadherin ve E-Cadherin protein seviyelerini western blot yöntemi ile belirledik. Genel olarak bileşiklerimizin hepsi EMT belirteçleri olan metastazı indükleyen Twist1, Vimentin ve N-Cadherin miktarlarını azaltırken E-Cadherin seviyesini artırmışlardır.

Bu sonuçlara göre, bileşiklerimiz farklı kanser hücrelerinde doza bağlı olarak hem proliferasyonu baskılamakta hem de meme kanseri hücrelerinde metastatik belirteçlerin ekspresyonunu baskılamaktadır. Bu sonuçlara göre, bileşiklerimiz metastatik ve

kemoterapi direnci gösteren kanser tiplerine karşı alternatif tedavi stratejisi olarak geliştirilebilir.

Evaluation of anticancer effects of 2-hydroxy-5-methoxyacetophenone thiosemicarbazone zinc complexes and it's N(4)- substituted derivatives

Gökçe Erdoğan¹, Suray Pehlivanoglu², Osman Nidai Özeş³, Ercan Türkkan⁴, Mükerrerem Fındık⁵, Emine Güler Akgemci⁵

¹Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Antalya

²Necmettin Erbakan University, Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Konya

³Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Antalya; ALTAY Biopharma LLC. San Bruno, CA, 94066. USA

⁴Necmettin Erbakan University, Ahmet Keleşoğlu Faculty of Education, Department of Physics Education, Konya

⁵Necmettin Erbakan University, Ahmet Keleşoğlu Faculty of Education, Department of Chemistry Education, Konya

Thiosemicarbazones and metal complexes are compounds with antimicrobial and anticancer properties. With this study, we aimed to determine the anticancer properties of synthesized 2-hydroxy-5-methoxyacetophenone thiosemicarbazone and N(4) - derived Zn complexes.

For this, we used non-metastatic MCF-7 and metastatic MDA-MB-231 as breast cancer model, A2780 and cisplatin-resistant CIR5 cell lines as ovarian carcinoma model and prostate cancer cell line LnCap. Cells were plated to be 1×10^4 cells per well, and 24 hours after, cells were treated with thiosemicarbazone compounds (Zn-HMAT, Zn-HMAPT, Zn-HMAET) at the doses of 1000 μ M- 500 μ M- 250 μ M- 100 μ M- 50 μ M- 10 μ M- 1 μ M- 0.1 μ M- 0.01 μ M concentrations. After, 48 hours of incubation cellular viability was determined using MTT assay. According to MTT results, all different cells showed different sensitivity to our compounds.

In order to investigate the effect of our compounds on cancer metastasis, we treated MDA-MB-231 cells with the EC₅₀ values we determined, and 24 hours after we prepared cellular lysates and determined the protein levels of metastatic Twist1, Vimentin, N-cadherin and E-cadherin by western blotting. Overall, all of our compounds diminished the levels of metastatic markers Twist1, N-Cadherin, and Vimentin while they all increased the level of E-Cadherin.

According to our results, our compounds suppress proliferation of different cancer cells in a dose-dependent manner and suppress the expression of metastatic markers in breast cancer cells. Therefore, our compounds may represent an alternative drug candidate to treat metastatic and chemotherapy-resistant certain cancer types against which they can be developed.

SS - 010

Serviks ve meme kanseri hücre hatlarında D-loop, ND4 ve CO-1 mutasyon modellerinin karşılaştırılması

Gamze Turna¹, Serap Yalçın²

¹Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Kırşehir, Türkiye

²Ahi Evran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kırşehir, Türkiye

Amaç: Mitokondriyal gen mutasyonları hücresel olaylarda değişimlere neden olmaktadır. Mitokondriyal DNA'daki (mtDNA) değişimler, kanser dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların patogenezinde kritik rol oynamaktadır. Bu çalışmada, serviks ve meme kanseri hücre hatlarının mitokondriyal DNA'sında D-loop bölgesinin, CO-1 ve ND-4 genlerinin dizi varyasyonlarının varlığının belirlenmesi amaçlandı.

Gereç-Yöntem: HeLa ve MDA-MB-231 hücrelerinden mtDNA izolasyonu gerçekleştirildi ve D-Loop, ND4 ve CO-1 genleri polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile analiz edildi. DNA doğrudan sekanslama, forward ve reverse primerler kullanılarak yapıldı.

Bulgarlar: Serviks ve meme kanseri hücre hatlarında sırasıyla mtDNA'nın mutasyonel analizi, D-Loop bölgesinde A16031d, T16124C, C16223T, C16278T, T16362C, T16519C ve A16031d, A16037d, T16093C, T16189C, C16193CCC, C16214A, C16223T, C16228T, C16236A, T16243G, A16247C, G16255C, A16258C, A16265C, T16276A, C16278T, C16282A, A16293C, T16298TT, C16301A, C16306A, G16310T, C16313A, T16315A, A16322T, T16330A, C16332A, T16359C, T16362C, T16368G, G16373A, G16384A, T16386A, T16413G, G16428C, G16434A, T16437G, G16450C, T16462A, C16465A, C16467T, G16477C, G16496A, C16498A, T16502G, G16504T, T16509A, T16519C, G16526C, T16529A, G16535C varyasyonlarının, CO-1 geninde A6272d, A6281d, G6366A, T6369TA, A6902d ve A6272d, A6281d, C6371T, A6895d varyasyonlarının varlığını ortaya çıkarmıştır. HeLa mtDNA'sının, ND4 geninde bir mutasyon, A11347G, belirlenmiştir. Buna karşılık, MDA-MB-231 hücre hattında ND4 gen mutasyonu tespit edilememiştir.

Sonuç: Sonuç olarak, kanser hücrelerindeki mtDNA mutasyonlarının normal hücrelere kıyasla daha yüksek dağılım sıklığına sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma, D-Loop, ND-4 ve CO-1 mtDNA mutasyonlarının önemini ortaya koymuştur. Kanserde mitokondriyal değişikliklerin önemini belirlemek için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

A comparison of D-loop, ND4 and CO-1 mutation patterns in cervix and breast cancer cell lines

Gamze Turna¹, Serap Yalçın²

¹Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Ahi Evran University, Kirsehir, Turkey

²Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Art and Sciences, Ahi Evran University, Kirsehir, Turkey

Objective: Mitochondrial gene mutations lead to changes in cellular processes. Alterations in mitochondrial DNA(mtDNA) are critical role in the pathogenesis of various diseases, including cancer. In this study, we aimed to the presence of sequence variations of D-loop region, CO-1 and ND-4 genes in the mtDNA of cervix and breast cancer cell line. Materials-Methods: mtDNA was isolated from HeLa and MDA-MB-231 cells and analyzed for D-Loop, ND4 and CO-1 genes by polymerase chain reaction(PCR). DNA direct sequencing was done using the forward and reverse primer.

Results: The mutational analysis of the mtDNA revealed the presence of A16031d, T16124C, C16223T, C16278T, T16362C, T16519C and A16031d, A16037d, T16093C, T16189C, C16193CCC, C16214A, C16223T, C16228T, C16236A, T16243G, A16247C, G16255C, A16258C, A16265C, T16276A, C16278T, C16282A, A16293C, T16298TT, C16301A, C16306A, G16310T, C16313A, T16315A, A16322T, T16330A, C16332A, T16359C, T16362C, T16368G, G16373A, G16384A, T16386A, T16413G, G16428C, G16434A, T16437G, G16450C, T16462A, C16465A, C16467T, G16477C, G16496A, C16498A, T16502G, G16504T, T16509A, T16519C, G16526C, T16529A, G16535C variations in D-Loop region, A6272d, A6281d, G6366A, T6369TA, A6902d and A6272d, A6281d, C6371T, A6895d variations in CO-1 gene, on HeLa and MDA-MB-231 cell lines, respectively. The HeLa mtDNA demonstrated one mutation, A11347G in the ND4 gene. By contrast, we did not detect the ND4 gene mutation in MDA-MB-231 cells.

Conclusion: Results showed that mtDNA mutations in cancer cells have a higher frequencies distribution as compared in normal cells. This study has demonstrated the importance of D-Loop, ND-4 and CO-1 mtDNA mutations. Future studies are required to determine the important role of the mitochondrial alterations in cancer.

SS - 050

Primary Cilia membranında lokalize olan TGF- β Reseptör I/II'nün seramid tarafından regülasyonu ve tümör metastazının kontrolü

Salih Gencer¹, Besim Öğretmen²

¹Üsküdar Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
34662 Üsküdar, İstanbul, Türkiye

²Medical University of South Carolina, Department of Biochemistry and Molecular Biology, 29401 SC, USA

Amaç: Yapılan son çalışmalar, farklı karbon uzunluğundaki seramid türlerinin, karaciğer hemostasisi, insülin direnci, apoptoz ve kanser patolojisi gibi çeşitli biyolojik proseslerde farklı fizyolojik roller üstlendiklerini göstermiştir. Fakat, T8RI/II sinyal yolağı ile kontrol edilen tümör metastazında, sistemik seramide karşı tümör hücreesindeki seramid seramid sinyal mekanizmasının rolü daha önce açıklanmamıştır.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada, A549, UMSCC-22A, MEFs ve 4T1 hücreleri kullanıldı. CerS4-/- fare daha önce belirtildiği şekilde tarafımızdan elde edildi. Hücrelerin in vitro metastaz özellikleri boyden chamber yöntemi kullanılarak yapıldı. CerS4 ve diğer proteinlerin miktarı IHC ve western blot yöntemleriyle tespit edildi.

Bulgar: Bu çalışma ile, Seramid Sentaz 4 (CerS4) tarafından sentezlenen seramidin Smad7 ile TGF-beta reseptör-I arasındaki etkileşimi stabilize ettiğini ve bu kompleksin TGF-beta reseptör I ve II'nin primary cilia membranına hareketini (lokalizasyonunu) bloke ettiğini gösterdik. CerS4'ün moleküler ya da genetik (CerS4 knockout sistemde) düzeyde değişimi Smad7-TGF-beta reseptör I kompleksinin stabilitesini etkileyerek (Arl6 transporter ve TßRI arasındaki etkileşimi artırarak) yeni keşfettiğimiz "cilia targeting signal (31-ATLQ-35)" aracılığı ile TGF-beta reseptör çiftinin primary cilia'da lokalizasyonunu arttırmıştır. Bu aktivasyon ile primary ciliada lokalize olan TGF-beta reseptör çifti Smo üzerinden Shh sinyal yolağını aktive ederek, 'mammary fat pats' yoluyla hem CerS4+/+ fareye hem de CerS4 -/- fareye enjekte edilen 4T1 tümör hücresinin metastazını arttırdığı görülmüştür. Smad7'nin ekspresyonunu arttırmak ya da primary cilia oluşumunu shRNA ile baskılaması (I intraflagella transport protein 88 (IFT88) üzerinden), TGF-beta reseptör I-Smo etkileşimini azaltarak tümör hücrelerinin karaciğer metastazını bloke ettiği görülmüştür.

Sonuç: Bütün bu bulgular, CerS4/Seramid-Smad7 kompleksinin, TGF-beta sinyal yolağı üzerinden tümör metastazını kontrol ederek terapötik amaçlı potansiyel bir hedef olabileceğini göstermektedir.

TGF- β Receptor I/II signaling at primary cilia membrane is regulated by ceramide to modulate tumor metastasis

Salih Gencer¹, Besim Öğretmen²

¹Uskudar University, Department of Molecular Biology and Genetics, 34662 Uskudar, Istanbul, Turkey

²Medical University of South Carolina, Department of Biochemistry and Molecular Biology, 29401 SC, USA

Objective: Recent studies have demonstrated that ceramics with different fatty-acid-chain lengths play distinct physiological roles in various biological processes including, liver homeostasis, insulin resistance, apoptosis and cancer pathogenesis. However, roles of systemic versus tumor ceramide signaling in the regulation of tumor metastasis by controlling TBR1/II signaling have not been described previously.

Materials-Methods: A549, UMSCC-22A, MEFs and, 4T1 murine mammary carcinoma cells were used in this study. CerS4^{-/-} mice was generated as we previously described. In vitro metastasis of cells were measured with Boyden chamber assay. Protein levels of CerS4 and other proteins were detected by IHC and western blot.

Results: Here, we show that ceramide synthase 4 (CerS4) generated ceramide stabilized Smad7-T β RI association, which then inhibited the trafficking of T β RI/II to primary cilia membrane. Genetic or molecular alterations of CerS4 abundance prevented Smad7-T β RI inhibitory complex, and increased association between Arl6 transporter and T β RI via novel cilia targeting signal (31-ATALQ-35). Localization of T β RI/II to primary cilia activated sonic hedgehog receptor smoothened (Smo), inducing liver metastasis both in wild type and CerS4^{-/-} mice in response to endogenous CerS4/ceramide knockdown in 4T1 cells, injected in the mammary pads. Smad7 over expression or primary cilia inhibition by shRNA-mediated knockdown of intraflagella transport protein 88 (IFT88) prevented T β RI-Smo crosstalk and attenuated liver metastasis of 4T1 cells stably transfected with shRNA against CerS4/ceramide.

Conclusion: Overall, these data define a key mechanism for the regulation of TßRI/II targeting selectively at the primary cilia membrane by CerS4/ceramide-Smad7 inhibitory complex to control Shh-mediated cell migration and invasion without affecting canonical TGF-ß signaling.

SS - 051

Hepatoselüler karsinoma gelişiminde Sestrin2'nin rolü

Erkan Kahraman¹, Ezgi Bağırşakçı¹, Ayşim Güneş¹, Funda Yılmaz Barbet², Deniz Nart², Neşe Atabey¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü, İzmir; Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İzmir

²Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İzmir

Hepatoselüler karsinoma (HCC) dünya genelinde altıncı en yaygın görülen kanser türüdür. Dünya çapında kanser nedeni ölümler içerisinde ise ikinci sırada yer almaktadır. Hepatoselüler karsinoma progresyonu ve patogeneğinde oksidatif stres kritik rollere sahiptir. Sestrin2 (hypoxia-inducible gene 95 (Hi95)) hipoksi tarafından indüklenen gen olarak tanımlanmış olup, genotoksik ve oksidatif stress koşullarında aktive olduğu gösterilmiştir. Ancak Sestrin2'nin hepatoselüler karsinoma progresyonunda oynadığı fonksiyonlar bilinmemektedir. Bu çalışmada; Sestrin2 ekspresyonu ve hepatoselüler karsinoma progresyonu arasındaki olası ilişkinin araştırılmasını amaçladık.

Çalışmamızda HCC hücre dizilerinde western blot yöntemi ile, primer hasta dokularında (Normal, HCC, HCC tümöre komşu normal doku) immünohistokimya yöntemi ile Sestrin2 ekspresyonu düzeylerini belirledik. Sestrin2'nin susturulduğu, aşırı eksprese ettirildiği ve hidrojen peroksit ile uyarıldığı HCC hücre dizilerinde Sestrin2'nin proliferasyonu, apoptoz, otofaji, senses, ROS, motilite, invazyon üzerine etkilerini araştırdık.

Sonuçlarımızı HCC hücre dizilerinde bazal koşullarda Sestrin2 ekspresyonu olmadığını, ancak H₂O₂ uyarımı ile Sestrin 2 protein ekspresyonunu doz ve zaman bağımlı olarak indüklediğini gösterdi. Sestrin 2 ekspresyon düzeyinin HCC tümör dokularında, tümöre komşu normal doku ve normal karaciğer dokusu ile kıyaslandığında daha yüksek olduğunu belirledik (sırasıyla %53, %16 ve %0). Sestrin2 protein düzeylerindeki artışın HCC hücre dizilerinde ROS düzeyinin azalmasına, proliferasyonun minimal inhibisyonuna, otofajinin artışına, buna karşın apoptoz ve senesens düzeylerinin azalmasına neden olduğunu saptadık.

Sonuç olarak çalışmamızda ilk kez Sestrin2'nin HCC dokularında aşırı eksprese olduğunu ve HCC hücrelerinde Sestrin2'nin aşırı eksprese ettirilmesinin HCC hücrelerini ROS ile uyarılan apoptoz, otofaji ve senesense karşı koruduğunu gösterdik. Sonuçlarımız Sestrin2'nin hepatokarsinogenezde önemli bir oyuncu olduğu sonucunu desteklemektedir.

The role of Sestrin2 in the progression of hepatocellular carcinoma

Erkan Kahraman¹, Ezgi Bağışakçı¹, Aysim Güneş¹, Funda Yılmaz Barbet², Deniz Nart², Neşe Atabey¹

¹Dokuz Eylül University, Izmir International Biomedicine and Genome Institute, Izmir; Dokuz Eylül University, School of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Izmir

²Ege University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, Izmir

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the sixth most common cancer worldwide. It is the second most common cause of death from cancer worldwide. Oxidative stress has a crucial role in pathogenesis and progression of hepatocellular carcinoma. Sestrin2 (hypoxia-inducible gene 95 (HI95)) which was identified as an inducible gene by hypoxia, has also been shown to be activated under genotoxic stress and oxidative stress conditions. However, the function of Sestrin2 in the hepatocellular carcinoma progression remains unknown. In this study, we aimed to investigate a possible relationship between Sestrin2 expression and progression of hepatocellular carcinoma. In our study, we determined Sestrin2 expression levels in HCC cell lines by western blotting, and immunohistochemistry in primer liver tissues (normal, HCC tumor and HCC tumor neighbor tissues). We examined the effects of Sestrin2 expression in proliferation, apoptosis, autophagy, senescence, ROS levels, motility and invasion of HCC cells by using silencing and overexpression studies. Our results showed that H₂O₂ induced Sestrin2 protein levels in a dose and time dependent manner in HCC cell lines. It was determined that Sestrin2 expression is higher in HCC tumor tissues compared to non-tumor counterparts and normal liver tissues (respectively 53%, 16% and 0%). Also, it was shown that increased Sestrin2 levels caused a minimal inhibition in cell proliferation, increased autophagy, whereas it was decreased ROS levels, apoptosis and senescence levels in HCC cell lines.

In conclusion, here we reported for the first time that Sestrin2 is overexpressed in HCC tissues and Sestrin2 overexpression protects HCC cells from ROS induced apoptosis and senescence. Our results supports that Sestrin2 is one of the critical player of hepatocarcinogenesis.

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi ve Tübitak 1001 proje fonu tarafından desteklenmiştir.

SS - 052

Meme kanserli hastalarda WRN ve DSP genlerinin araştırılması

Hüsnüye Işın¹, Mustafa Işın¹, Canan Kelten Talu², Didem Can Trabulus³, Didem Karaçetin⁴, Şefika Aksoy³, Nejat Dalay¹

¹*İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul*

²İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Birimi, İstanbul

³*İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genel Cerrahi Birimi, İstanbul*

⁴Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Radyasyon Onkolojisi Birimi, İstanbul

Amaç: Meme kanseri, akciğer kanserinden sonra görülen en yaygın kanser türüdür. Meme kanserinde, WRN ve DSP genlerinin ifade ve metillenme değişiklikleri hakkında literatür bilgisi sınırlıdır.

WRN geni, Werner Sendromu geni olarak da bilinen, genomun bütünlüğünü denetleyen aday bir tümör baskılayıcı genidir. Mutasyon taşıyan hastalar 5.dekattan önce epitelial ve mezenkimal tümörler geliştirerek hayatlarını kaybederler.

Desmoplakin (DSP) Desmozomal plakların bir bileşeni olarak hücre içi iskelet yapısını oluşturur. Mutasyonu, otozomal dominant deri bozuklukları ve ARVCs gibi resesif bozukluklardan sorumludur. Çeşitli çalışmalarda, desmosomların azalması ile invazyonun ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamız 104 meme kanserli hastada WRN ve DSP genlerinin metilasyon ve gen ifade düzeylerinin araştırılması üzerine planlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Meme kanserli 104 hastanın tümör ve normal dokularından DNA ve RNA elde edilmiştir. Genlerin ifade düzeyleri RNA' dan cDNA elde edilerek, gerçek zamanlı PCR yöntemiyle analiz edilmiştir. DNA'lardan ise bisülfıt modifikasyon yapıldıktan sonra, metillenme düzeyleri WRN geni metillenmeye özgü PCR yöntemiyle, DSP geni ise bisülfıt dizi analizi yöntemiyle değerlendirilmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda, WRN ve DSP genlerinin tümör örneklerinde, normal meme dokularına göre daha yüksek düzeyde ifade edildiği, tümör ve normal dokularında promotör bölgesinin metillenme düzeylerinde anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır. Aynı zamanda her iki genin tümör örneklerindeki metillenme düzeyi ve gen ifadeleri ile tümör evresinin ilişkili olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Çalışmamız, meme kanserli hastalarda WRN ve DSP genlerinin gen ifadesi ile metillenme düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmadır. Her iki genin gen ifadeleri ve metillenme düzeylerinin klinik açıdan yararlılığının belirlenebilmesi için daha geniş gruplarda araştırılması öngörülmektedir.

Investigation of WRN and DSP gene in breast cancer patients

Hüsnüye Işın¹, Mustafa Işın¹, Canan Kelten Talu², Didem Can Trabulus³, Didem Karaçetin⁴, Şefika Aksoy³, Nejat Dalay¹

¹Basic Oncology Department, Oncology Institute, Istanbul University, Istanbul

²Department of Pathology, Istanbul Research and Training Hospital, Istanbul

³Department of General Surgery, Istanbul Research and Training Hospital, Istanbul

⁴Department of Radiation Oncology, Dr. Sadi Konuk Research and Training Hospital, Istanbul

Objective: Breast cancer is the second most common cancer after lung cancer. There is the limited information about the methylation and expression levels of WRN and DSP genes in breast cancer.

WRN gene also known as Werner syndrome gene is a candidate tumor suppressor gene monitoring genome integrity. Mutation carriers are prone to epithelial and mesenchymal tumors and die before 5 decade. Desmoplakin (DSP) proteins is a member of desmosomal plaque and form the cell cytoskeleton. Mutations cause the autosomal dominant skin disorders and ARVCs. Several research has shown that decrease in desmosomes confer to invasion. In this study we aimed to investigate WRN and DSP gene methylation and gene expression status in 104 breast cancer patient.

Materials-Methods: We isolated DNA and RNA from 104 breast cancer patients' tumor and healthy tissue samples. Gene expression levels were analyzed by real-time PCR method. After bisulphite modification methylation status for WRN was analyzed by methylation specific PCR and for DSP by Sanger sequencing.

Results: The expression levels of WRN and DSP genes are found to be significantly higher in tumor tissue samples. But, methylation status of these genes promoter regions were not observed between tumor and healthy tissues. However, we observed a correlation between tumor status with methylation and gene expression levels in tumor samples.

Conclusion: In conclusion, we investigated the expression levels and promoter methylation status of WRN and DSP genes in breast cancer. For the clinical utility of these two genes, investigation with bigger cohorts is needed.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 30209

SS - 053

Epitelyal-mezenkimal geiş proteinleri, periostin, integrin- α 4 ve fibronektin ifadeleri, metastatik kastrasyona dirençli prostat kanserinin klinik-patolojik özellikleri ve prognozu ile ilişkili midir?

Ece Konaç¹, İlker Kılıçcioğlu¹, Emrullah Söğütülen², Asiye Uğraş Dikmen³, Gülşah Albayrak¹, Cenk Y. Bilen²

¹Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

²Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı

³Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı

Amaç: Metastatik kastrasyona dirençli prostat kanseri (mKDPK) gelişimi, tümör hücrelerindeki apoptotik yanıt yokluğu ve epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) yoluyla komşu hücrelere yapışma yeteneği kaybının bir sonucudur. mKDPK'nin prognozunu belirlemek için önerilen çeşitli biyobelirteçler olmasına rağmen, bunların sadece birkaçı optimal tedavi yönteminin seçimine karar vermede yardımcı olabilmektedir. mKDPK'deki tedavi yöntemi, hastanın bireysel özelliklerine dayalı olarak belirlenecektir. Bu çalışmada, mKDPK hastalarında EMT sürecinde periostin, integrin- α 4 ve fibronektinin ekspresyon durumları ile Gleason skoru, PSA seviyeleri ve metastatik bölgeleri içeren klinikopatolojik veriler arasındaki korelasyonun aydınlatılmasını amaçladık

Gereç-Yöntem: 46 adet mKDPK'li hasta, 20 adet benign prostatik hiperplazi (BPH) ve 20 adet sağlıklı kontrol grubunun periferik kan örneklerinde periostin, integrin- α 4 ve fibronektin ekspresyonlarını Western Blotting yöntemini kullanarak değerlendirildi. Protein ekspresyonları ve klinikopatolojik parametrelerdeki değişiklikler arasındaki bağlantılar mKDPK grubunda analiz edildi.

Bulgular: BPH ve kontrol grupları mKDPK grubuyla karşılaştırıldığında, metastatik hastalarda integrin- $\alpha 4$ ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalmış bulundu ($P > 0.05$). mKDPK gruptaki periostin ve fibronektin protein ekspresyonu BPH ve sağlıklı gruplardan daha yüksek bulundu ($P < 0.001$). Metastatik hastalarda artmış periostin ekspresyonu, kemik metastazı ile anlamlı derecede ilişkiliydi ($P < 0.05$).

Sonuç: mKDPK hastalarındaki artış periostin ve fibronektin ekspresyonları gelecekte terapötik uygulamaların uygun hedefleri olabilir.

Do the expressions of epithelial-mesenchymal transition proteins, periostin, integrin- α 4 and fibronectin correlate with clinico-pathological features and prognosis of metastatic castration-resistant prostate cancer?

Ece Konac¹, İlker Kılıçcioğlu¹, Emrullah Söğütdelen², Asiye Uğraş Dikmen³, Gülşah Albayrak¹, Cenk Y. Bilen²

¹Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics

²Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Urology

³Gazi University, Faculty of Medicine, Department of Public Health

Objective: Development of mCRPC is a result of the lack of an apoptotic response by the tumor cells and loss of the ability to stick to adjacent cells through EMT. Although there are several biomarkers for determining prognosis of mCRPC, only few of them may help decide the selection of the optimal treatment option. The mode of treatment sequencing in mCRPC will be based on the individual characteristics of the patient. The mode of treatment sequencing in mCRPC will be based on the individual characteristics of the patient. In this study, we aimed to explain the correlation between the expression characteristics of periostin, integrin- $\alpha 4$ and fibronectin in mCRPC patients and their clinico-pathological data comprising Gleason score, PSA levels and metastatic sites in the process of EMT.

Materials-Methods: We evaluated by using Western Blotting, periostin, integrin- $\alpha 4$ and fibronectin expressions in peripheral blood samples of mCRPC patients (n=40), BPH patients (n=20) and the healthy control group (n=20). Associations between changes in the protein expressions and clinico-pathological parameters were also analyzed in the mCRPC group.

Results: When comparing BPH and healthy groups with the mCRPC group, a reduced expression of integrin- $\alpha 4$ was found in metastatic patients, albeit being statistically insignificant ($P>0.05$). Protein expressions of periostin and fibronectin in the mCRPC group were higher than those in the BPH and healthy groups ($P<0.001$). Increased periostin expression in metastatic patients was significantly associated with bone metastasis ($P<0.05$).

Conclusion: Elevated periostin and fibronectin levels in mCRPC patients may be appropriate targets of therapeutic intervention in the future.

SS - 054

Prostat kanseri hücrelerinde yeni bir resveratrol analogu olan DMU-212'nin anti kanser etkinliğinin in vitro değerlendirilmesi

Besra Özmen Yelken¹, Çağla Kayabaşı¹, Aycan Aşık¹,
Tuğçe Balcı Okcanoglu², Fatma Söğütü¹, Röya Gasımlı¹,
Sunde Yılmaz Süsluer¹, Çığır Biray Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

²Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Kıbrıs

Prostat kanseri (PCA), gelişmiş ülkelerde erkeklerde görülen en sık ikinci kanser türüdür. Kanser hücrelerinin metastatik yayılımı, epitelial mezenkimal geçiş (EMT) olarak bilinen, evrimsel olarak korunmuş bir gelişim programının yeniden etkinleştirilmesi ile gerçekleşmektedir. EMT'nin PCA'nin progresyonunda ve metastazda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Resveratrol, kırmızı üzümde bulunan potansiyel bir kemopreventif ve kemoterapötik ajandır. Yapılan çalışmalarda, resveratrolün çeşitli kanserlerde anti-tümörijenik etkisi olduğu gösterilmiştir. Sentezlenen resveratrol analogları arasında yer alan DMU-212'nin genellikle G2/M arrestini indüklediği gösterilmiştir. Çalışmamızda, DMU-212' nin prostat kanseri hücre hatlarında hücre döngüsü, apoptoz ve invazyon üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

LNCAp ve PC-3 hücre hatlarında, DMU-212'nin sitotoksik etkisi, WST-8 testi ile belirlenmiştir. DMU-212'nin belirlenen IC50 dozlarının apoptotik etkisi Annexin V, hücre döngüsüne üzerine etkisi PI analizi ile akım sitometride değerlendirilmiştir. Pca hücrelerinin invazyon özelliklerini "Cell Biolabs CytoSelect 96-well Cell Invasion Assay Kit" kullanılarak belirlenmiştir. Tümör invazyonu ile genlerin ekspresyonu analizi "RT² Profiler PCR Array Human Epithelial to Mesenchymal Transition" kiti ile gerçekleştirilmiştir. Siklin B1, siklin D1, E-Kadherin ve β -katenin protein ekspresyon değişimleri western blot ile değerlendirilmiştir.

DMU-212'nin IC50 dozu LNCaP hücre hattında, 1,409 μM (48.saat), 1,017 μM (72.saat), PC-3 hücre hattında ise 3,858 μM (48.saat), 1,827 μM (72.saat) olarak belirlenmiştir. DMU-212 IC50 dozunun LNCaP ve PC-3 hücrelerinde kontrol grubuna göre apoptozu indüklediği ve invazyonu azalttığı, hücre döngüsünde belirgin olarak G2/M duraklamasına neden olduğu bulunmuştur. DMU-212'nin özellikle PC-3 hücrelerinde, WNT sinyal yolağı baskılanması ile EMT'yi inhibe ettiği gösterilmiştir.

EMT inhibisyonu ile PCa'de metastazın engelleyebileceği hipoteziyle uyumlu olarak, DMU-212'nin kanser tedavisinde önemli bir rolünün olabileceği ve daha ileri araştırmaların yapılmasının gerekliliği düşünülmektedir.

The In vitro evaluation of anticancer effect of DMU-212, a novel resveratrol analog, on prostate cancer cells

Besra Özmen Yelken¹, Çağla Kayabaşı¹, Aycan Aşık¹,
Tuğçe Balcı Okcanoğlu², Fatma Söğütü¹, Röya Gasımlı¹,
Sunde Yılmaz Süslüer¹, Çığır Biray Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, İzmir

²Near East University, Vocational School of Health Services, Medical Biology Department, Cyprus

Prostate cancer (PCa) is the second leading cause of cancer among men in developed countries. It is known that EMT plays a crucial role in the metastasis of PCa. It has been reported that DMU-212, which is one of the resveratrol analogs, induces G2/M arrest. We focused on the effect of DMU-212 on the cellcycle, apoptosis, and invasion of prostate cancer cells.

The cytotoxicity effect of DMU-212 on LNCaP and PC-3 cells was determined by WST8. While the apoptotic effect of determined IC50 dose of DMU-212 was tested by AnnexinV, PI analysis were used to evaluate its effect on cellcycle.

The invasion of PCa cells were analyzed by “Cell Biolabs Invasion Assay Kit”. Gene expression were determined by “PCR Array Human Epithelial to Mesenchymal Transition”. Additionally, the protein expression of cyclin B1, cyclin D1, E-cadherin, and β -catenin was evaluated by western blot.

The IC50 dose of DMU-212 on LNCaP and PC-3 cells was found as 1,409 μ M (48 h), 1,017 μ M (72 h), and 3,858 μ M (48 h), 1,827 μ M (72 h), respectively. It was observed that the IC50 dose of DMU-212, reduced the invasion, induced apoptosis and G2/M arrest during the cell cycle. It was shown that DMU-212 inhibited the EMT by suppressing the WNT signalling pathway, especially, on PC-3 cells.

In conclusion, compatible with the hypothesis of that the inhibition of EMT may prevent metastasis in PCa, it is believed that the DMU-212 has a potential role in the treatment of cancer. However, further investigations should be performed.

SS - 055

Crispr/Cas9 ile FOXA1 geni knock-out edilen prostat kanseri hücrelerinde anti kanserojen ajanların PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağına etkileri

Gülşah Albayrak¹, Ece Konaç¹, Asiye Uğraş Dikmen², Cenk Y. Bilen³

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

²Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı AD.

³*Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji AD.*

Amaç: Genel sağkalım süresini uzatabilen günümüz klinik başarılarına rağmen, prostat kanserine (PK) bağlı mortalite halen önemli bir sorundur. İlaça yönelik yeni hedeflerin belirlenmesiyle, PK'nin tedavisindeki başarı oranının artışı sağlanabilecektir. Metformin, FDA onaylı, kemoterapi ilaçlarına kıyasla ucuz, antikanser etkili anti-diyabetik bir ilaçtır. Memantin ise; Alzheimer tedavisinde kullanılan FDA onaylı bir ilaçtır. Çalışmamızda, androjen bağımlı LNCaP hücrelerinde Metformin ve Memantin kullanılarak glukoz ve glutamin metabolizmasının hedeflenmesi ve PK'de sıklıkla görülen genomik düzensizliklerden olan FOXA1 genini knock-out ederek, hastalık patogenezindeki rolünün araştırılmasını amaçladık.

Gereç-Yöntem: Metformin ve Memantin'in prostat kanseri patogeneğinde rol oynayan PI3K/AKT/mTOR yolağında, önemli hücresel süreçlerde görevli genlerin (CASP-3, BCL-2, BAX, Survivin, GSK-3, CCND1, c-MYC, B-Catenin, CDK4, HIF1A, VEGF-A, Fibronektin, İntegrin ve GAPDH) protein ifadeninmelerine etkileri Western Blot ile belirlenmiştir. FOXA1 geninin knock-out edilmesinde Crispr/Cas9 sistemi kullanılmıştır.

Bulgular: Memantin 0,25mM; Metformin ise 2,5mM konsantrasyonda sitotoksik etki göstermiştir. Çalışmamızda; Memantin'in Bax-aracılı apoptozu indükleyerek (0,25mM) anti-neoplastik aktivite gösterdiği ortaya konulmuştur. FOXA-1 geninin knock-out edilmesi ile Siklin D1 (CCND1) protein ifadesinde anlamlı düzeyde azalma görülmüştür ($p<0.05$).

Sonuç: FOXA1, CCND1'in düşük protein ifadenleme seviyesi nedeniyle, PK tedavisinde hedef molekül olarak öngörülebilir. Pre-klinik sonuçlarımız Memantin'in "yeniden konumlandırılmış" bir ilaç olarak kanser tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir. Kanser tedavisinde glukoz metabolizmasının yanı sıra glutamin metabolizmasının hedeflenmesi de potansiyel bir tedavi yaklaşımı olarak ön plana çıkmaktadır.

Effects of anticancer agents in PI3K/AKT/mTOR signalling pathway on prostate cancer cells that FOXA1 gene knocked out via Crispr/Cas9

Gülşah Albayrak¹, Ece Konaç¹, Asiye Uğraş Dikmen², Cenk Y. Bilen³

¹Department of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, Gazi University

²Department of Public Health, Faculty of Medicine, Gazi University

³Department of Urology, Faculty of Medicine, Hacettepe University

Objective: Despite the current clinical advances in prolonging overall survival, mortality due to Prostate cancer (PCa) is still a major problem. Increased success rate in PCa treatment can be achieved by identifying new druggable targets. Metformin is an FDA approved anti-diabetic drug cheaper than other chemotherapeutic agents which was shown to have anti-cancer effects. Memantine is an FDA approved Alzheimer's drug. In our study, we aimed to target glucose and glutamine metabolism in androgen-dependent LNCaP cells by using Metformin and Memantine, and to investigate the role of commonly deregulated FOXA1 gene in PCa disease pathogenesis by knocking out.

Materials-Methods: We investigated the effects of Metformin and Memantine on the protein expression levels of genes that play significant roles in prostate cancer pathogenesis (CASP-3, BCL-2, BAX, Survivin, GSK-3, CCND1, c-MYC, B-Catenin, CDK4, HIF1A, VEGF-A, Fibronectin, Integrin and GAPDH) in PI3K/AKT/mTOR signalling pathway by Western blotting. Crispr/Cas9 system was used to knock-out FOXA1 gene.

Results: Memantine showed cytotoxic effects at 0,25mM and Metformin at 2,5mM. It has been demonstrated that Memantine has anti-neoplastic activity by inducing Bax-mediated apoptosis (0.25 mM). Protein expression levels of Cyclin D1 (CCND1) were decreased statistically significantly in FOXA1 knocked-out cells ($p<0.05$).

Conclusion: FOXA1 might be projected as a target molecule in PCa treatment due to the decreased protein expression levels of CCND1. Our pre-clinic results indicate that Memantine might be used as a new repositioned drug in cancer treatment. Beyond targeting glucose metabolism, glutamine metabolism also holds great promise for a potential treatment option.

SS - 056

Epitel-mezenkimal-dönüşümün proteomik analizi

Zeynep Cansu Üretmen Kağıralı¹, Özge Karayel¹, Erdem Şanal¹, Özgür Şahin², Nurcan Tunçbağ³, Nurhan Özlü¹

¹Koç Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

²*Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara*

³Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyoinformatik Bölümü, Ankara

Amaç: Epitel-mezenkimal-dönüşüm (EMT), kanser gelişiminde ve tümör oluşumunda rol oynayan önemli bir süreçtir. EMT'nin kanser oluşumuna en önemli katkısı, epitel hücrelere invazyon ve metastaz yeteneği kazandırmasıdır. Üzerinde aktif olarak çalışılan bir konu olmasına rağmen, EMT'nin hücre yapısını ve işleyişini sistemler seviyesinde global olarak nasıl değiştirdiği hakkında az şey bilinmektedir. Bu nedenle, EMT sürecinde hücrelerde meydana gelen radikal biyokimyasal değişikliklerin sistematik analizinin yapılması büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada amacımız, sistematik analizler ile EMT sürecinde hücrelere invazyon ve metastaz yeteneği kazandıran yeni düzenleyici faktörler belirlemektir.

Gereç-Yöntem: Daha önceki araştırmalarımızda geliştirdiğimiz karşılaştırmalı proteomik ve fosfoproteomik metotlar kullanılarak, EMT'nin hücre proteinlerine etkileri analiz edilmiştir. Tespit edilen biyokimyasal değişiklikliklerin, ilgili proteinlerin hücrelerde RNAi-temelli susturulması ile, hücrelerin migrasyon yeteneğine etkileri incelenmiştir.

Bulgular: EMT ile hücre proteomunda ve fosfoproteomunda meydana gelen değişiklikler elde edilmiş ve bu değişiklikleri düzenleyen sinyal yolları tespit edilmiştir. Hücrelerde görülen biyokimyasal değişikliklerin hücre göçü yeteneği üzerindeki biyolojik işlevi doğrulanmıştır.

Sonuç: EMT sırasında hücrelerde meydana gelen biyokimyasal değişikliklerin sistematik analizi geliştirdiğimiz karşılaştırmalı proteomik ve fosfoproteomik metotlar kullanılarak yapılmıştır. Çalışmamız sonucunda çok sayıda yeni düzenleyici protein ve bu proteinlerin yer aldığı yeni sinyal yolları belirlenerek, bu çok yönlü karmaşık sürecin moleküler mekanizmasının daha iyi anlaşılması sağlanmıştır.

Proteomic analysis of epithelial-mesenchymal transition

Zeynep Cansu Üretmen Kargali¹, Özge Karayel¹, Erdem Şanal¹, Özgür Şahin², Nurcan Tunçbağ³, Nurhan Özlü¹

¹Koç University, Department of Molecular Biology and Genetics, Istanbul

²*Bilkent University, Department of Molecular Biology and Genetics, Ankara*

³Middle East Technical University, Department of Bioinformatics, Ankara

Objective: Epithelial-mesenchymal-transition (EMT) is an important event having role in carcinogenesis and tumor formation. The most important contribution of EMT to carcinogenesis is to give epithelial cells the ability of invasion and metastasis. Although it has been actively studied subject, at the systems level there is little information about how EMT globally changes structure and function of the cell. Therefore, it is critically important to analyze dramatic biochemical changes occurring in cells during EMT in a systematic way. In this research, our purpose is to systematically analyze EMT to cover novel regulatory factors that provide cells with the ability of invasion and metastasis as a cell undergoes EMT.

Materials-Methods: By taking quantitative proteomic and phosphoproteomic approaches developed in our recent research, the effects of EMT on cell proteins were analyzed. The effects of designated biochemical changes on the migration ability of cells were investigated by RNAi-mediated knockdown of the related proteins in cells.

Results: The changes in both proteome and phosphoproteome of cells, and the signaling pathways regulating these changes were obtained during EMT. The biological function of these biochemical changes on the migration ability of cells were verified.

Conclusion: By employing comparative proteomic and phosphoproteomic methods developed in our group, we provided the systematic analyses of biochemical changes as a cell undergoes EMT. Our study investigated multiple novel regulatory proteins and their signaling pathways which provide a better understanding of molecular mechanism behind this multidirectional complex event.

Bu proje (114Z267/1001) TÜBİTAK Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı tarafından desteklenmektedir. This project is funded by 114Z267/1001 TUBITAK Scientific and Technological Research Projects Funding Program.

SS - 057

Dasatinib ile muamele edilen K562 hücre serisinde, dasatinibin, PP2A katalitik ve reglatuvar alt birimlerinde, enzim aktivitesine ve protein ekspresyonu üzerine etkisinin değerlendirilmesi

Buket Özel¹, Sezgi Kıpçak¹, Çağdaş Aktan³, Çığır Biray Avcı¹, Cumhuri Gündüz¹, Güray Saydam², Nur Selvi Günel¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, İzmir, Türkiye

³*Beykent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

Amaç: Kronik miyeloid lösemi (KML), BCR / ABL translokasyonuna bağlı artmış tirozin kinaz aktivitesi ile karakterizedir. Dasatinib, BCR-ABL1'i inhibe etmek için uygulanan bir tirozin kinaz inhibitörüdür. Dasatinib, imatinibden daha etkili olsa da KML hastalarının %20'si ilaç tedavisine yanıt vermemektedir. Bu durum, tedavide etkin olabilecek alternatif moleküler yolların ve mekanizmalarının aydınlatılmasını gerektirmektedir. KML'de genomik ya da fonksiyonel değişime uğramış birçok hücresel olayda fonksiyon gören protein fosfotaz 2A (PP2A) gibi yapıların incelenmesi bu yaklaşımlardan biri olabilir. Bu çalışmada amacımız, dasatinib ile muamele edilen K562 hücre serisinde, PP2A enzim aktivitesi ve alt birimlerinin protein düzeyinde ekspresyon değişimini saptamaktır.

Gereç-Yöntem: Dasatinibin K562 hücre serisindeki sitotoksik etkisi WST-1, apoptotik etkisi Annexin V ve Apo Direct Tunel, sitostatik etkisi Hücre Döngüsü Analizi, enzim aktivitesi serin/treonin fosfataz ve PP2A'nın alt birimlerindeki protein ifade düzeyleri ise Western Blot analiziyle değerlendirilmiştir. PP2A'nın apoptoz ve hücreleri sağkalım üzerindeki etkisini belirlemek için PP2A inhibitörü Okadaik asit (OA) ile çalışılmıştır.

Bulgular: Dasatinibin, K562 hücresinde sitotoksik etksi 4,6 nM olarak belirlenmiştir. Annexin V'e göre, apoptoz sırasıyla, dasatinibin 2.5 nM ve 25 nM OA kombinasyonu ile 2.35 ve 3.76 kat, Tunel testine göre, aynı sıralama ile 16.45 ve 49.38 kat artmıştır. OA' ile baskılanan PP2A'dan dolayı hücre döngüsünün G2/M fazında tutuklandığı kaydedilmiştir. Hücrelerin PP2A enzim aktivitesi 72.saatte kontrole kıyasla azalmıştır. Western Blot analizi ile PP2A C alt biriminin protein seviyesini kontrole kıyasla azaldığı saptanmıştır.

Sonuç: Sonuç olarak, pek çok hücresel olayda görev alan ve hücrede fosforilasyon/defosforilasyon dengesinin sağlanmasında kritik rol oynayan PP2A'nın KML tedavisinde yeni bir terapötik hedef olabileceğini düşünümekteyiz.

Evaluation of the effect of dasatinib on the enzyme activity and protein expression in PP2A catalytic and regulatory subunits in the K562 cell line treated with dasatinib

**Buket Özel¹, Sezgi Kıpçak¹, Çağdaş Aktan³, Çığır Biray
Avcı¹, Cumhuri Gündüz¹, Güray Saydam², Nur Selvi Günel¹**

¹Department of Medical Biology, School of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey

²Department of Hematology, School of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey

³Department of Medical Biology, School of Medicine, Beykent University, Istanbul, Turkey

Objective: Chronic myeloid leukemia (CML) is characterized by increased tyrosine kinase activity. Dasatinib is a tyrosine kinase inhibitor to inhibit BCR-ABL1. Although dasatinib is more effective than imatinib, 20% of patients don't respond to treatment. Therefore, other approaches should be investigated. Protein phosphatase 2A (PP2A) that is found genetically or functionally altered in CML, may be promising therapeutic target. We aimed to detect PP2A enzyme activity and protein expression level of subunits in the K562 cell line treated with dasatinib.

Materials-Methods: The cytotoxic effect of dasatinib on K562 cell line, were evaluated by WST-1, apoptotic effects by Annexin-V and TUNEL and cytostatic effect by cell cycle analysis. Okadaic acid (OA), inhibitor of PP2A, was studied to determine the effects of PP2A on apoptosis and survival. Enzyme activity and protein levels in subunits were evaluated using serine/threonine phosphatase analysis and Western Blot analysis, respectively.

Results: The cytotoxic effect of dasatinib was determined as 4.6 nM. Apoptosis increased 2.35 and 3.76 fold with the combination of dasatinib and 2.5 nM and 25 nM OA and 16.45 and 49.38 fold in the same order according to Annexin-V and TUNEL and cell cycle arresting at G2/M was increased owing to PP2A suppressing. The enzymatic activity of PP2A decreased at 72 hours. Protein level of the PP2A C subunit decreased.

Conclusion: We believe that PP2A, which plays role in many cellular events and plays a crucial role by providing phosphorylation/dephosphorylation balance in the cell, may be a new therapeutic target in the treatment of CML.

SS - 058

Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)'in farklı kolorektal kanser hücre hatları üzerindeki apoptotik etkileri

Ceren Sarı¹, Ceren Sümer¹, Figen Celep Eyüpoğlu²

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Trabzon

²Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Trabzon

Günümüzde yaygın kanser türlerinden biri olan kolorektal kanserde, kemoterapötiklere karşı gelişen direnç ve kemoterapötiklerin sağlıklı hücreler için toksik olması tedavide karşılaşılan en önemli sorunların başında gelmekte ve bu sorunları aşmak için alternatif terapötik ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızın amacı; kafeik asit fenetil ester (CAPE)'in, farklı kolorektal kanser hücre hatları üzerindeki apoptotik etkilerinin incelenmesidir. Bu bağlamda; HCT-116 ve DLD-1 kolorektal kanser hücre hatları ve sağlıklı kolorektal hücre hattı kullanılarak, CAPE'in hücreler üzerindeki anti tümöral etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, CAPE ile bir kemoterapötik ajan olan 5-Fluorourasil (5-FU), hücrelere ayrı ayrı ve birlikte muamele edilerek oluşturdukları etki hücre canlılık analizi yapılarak incelenmiştir. Ayrıca flow sitometri çalışmaları ile CAPE muamelesinin, kullanılan hücre hatlarında apoptotik hücre yüzdesine ve kaspaz-3 aktivasyonuna etkisi araştırılmıştır. Canlılık analizleri ve flow sitometri çalışmaları sonucunda; CAPE'in, HCT-116 ve DLD-1 hücre hatlarında canlılığı doza bağlı olarak anlamlı oranlarda azalttığı gösterilmiştir. CAPE muamelesinin, DLD-1 ve HCT-116 hücrelerinde 5-FU muamelesine kıyasla daha etkili olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte; CAPE ve 5-FU'nun birlikte kullanılmasının, CAPE'in tek başına kullanılmasına kıyasla hücre canlılıkları üzerinde anlamlı bir fark oluşturmadığı gözlenmiştir. HCT-116 ve DLD-1 hücre hatlarında, CAPE muamelesiyle apoptotik hücre yüzdesinin ve kaspaz-3 aktivasyonunun arttığı gözlenmiştir. CAPE, sağlıklı kolorektal hücreler üzerinde toksik etki oluşturmadan sadece kanser hücrelerinde seçici olarak apoptotik etkiye sebep olmuştur. Bu yönüyle CAPE'in, kanser tedavisinde alternatif bir terapötik ajan olabilme potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir.

Apoptotic effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on different colorectal cancer cell lines

Ceren Sarı¹, Ceren Sümer¹, Figen Celep Eyüpoğlu²

¹Karadeniz Technical University Institute of Health Sciences,
Department of Medical Biology, Trabzon

²Karadeniz Technical University Faculty of Medicine,
Department of Medical Biology, Trabzon

Colorectal cancer is one of the most common type of cancer. The resistance to chemotherapeutics and the toxicity of chemotherapeutics which affects healthy cells constitutes an obstacle for the treatment. Alternative therapeutic agents are needed to overcome these problems. The aim of our study is to investigate apoptotic effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on different colorectal cancer cell lines. In this context; anti tumoral effects of CAPE on HCT-116, DLD-1 colorectal cancer cell lines and a healthy colorectal cell line were investigated. For this purpose, 5-Fluorouracil (5-FU), a chemotherapeutic agent, and CAPE were treated on the cells individually and cooperatively. Their effect was examined by using cell viability assay. In addition, flow cytometry studies investigated the effect of CAPE on apoptotic cell percentage and caspase-3 activation in these cell lines. As a result of these studies; CAPE has been shown to reduce cell viability of HCT-116 and DLD-1 cell lines in a dose dependent manner. CAPE treatment was observed to be more effective in DLD-1 and HCT-116 cells compared to 5-FU treatment. However, using of CAPE and 5-FU together could not make a significant difference on cell viability compared to using of CAPE alone. Apoptotic cell percentage and caspase-3 activation were increased in the HCT-116 and DLD-1 cell lines following CAPE treatment. CAPE caused apoptotic activity in cancer cells and could not make toxic effects on healthy colorectal cells. In this regard, CAPE is thought to have a potential to be an alternative therapeutic agent in cancer treatment.

Bu çalışma, TÜBİTAK Sağlık Bilimleri Araştırma Destek Grubu (SBAG) tarafından (Proje no: 115S628) desteklenmiştir. Proje Yürütücüsü; Prof. Dr. Figen CELEP EYÜPOĞLU

SS - 060

FoxM1 transkripsiyon faktörü inhibisyonunun 4T1 fare meme kanseri hücre hattında metastaz üzerine potansiyel etkilerinin değerlendirilmesi

Funda Demirtaş Korkmaz¹, İrem Doğan Turaçlı², Abdullah Ekmekçi¹

¹*Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü, Gazi Üniversitesi, Ankara*

²Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ufuk Üniversitesi, Ankara

Amaç: Bu çalışmada meme kanserinin en agresif moleküler alt tiplerinden üçlü negatif meme kanseri (TNBC) için terapötik olarak FoxM1 transkripsiyon faktörünü hedefledik. Thiostrepton FoxM1 inhibitörü olarak kullanıldı ve ayrıca FoxM1'in nükleer lokalizasyonunu inhibe edebilen Selumetinib (MEK inhibitörü) ile kombine edildi.

Gereç-Yöntem: Öncelikle inhibitörlerin 4T1 hücrelerindeki sitotoksik etkileri MTT testi ile değerlendirildi. MTT sonuçlarına göre hücreler Thioestrepton'un 2µM ve 4µM konsantrasyonları, Selumetinib'in 8µM ve 16µM konsantrasyonları ile tek başına ve kombine olarak 6 ve 24 saat muamele edildi. Hücre kültürü lizatından protein izolasyonu gerçekleştirildi ve lizatlardaki protein konsantrasyonlarını belirlemek için BCA testi yapıldı. FoxM1 inhibisyonunun metastaz üzerindeki potansiyel etkilerini araştırmak için metastaz ile ilişkili proteinler(FoxM1, ERK, p-ERK, E-cadherine, Vimentin, Twist) Western blot yöntemi ile saptandı.

Bulgular: Thiostreptonun FoxM1 ekspresyonunu azalttığı ve kombine uygulamanın her iki muamele süresinde de etkili olduğu tespit edildi. Beklediğimiz gibi Selumetinib p-ERK ifadesini baskıladı. Thiostrepton'un 4µM konsantrasyonu da 24 saat uygulamada p-ERK ekspresyonunda azalma sağladı. E-kaderin ifadesi özellikle kombine uygulamada hem 6 saat hem de 24 saat muamelede kontrole göre arttı. Thiostrepton tek başına ve Selumetinib ile birlikte uygulamalarının twist ekspresyonunu kontrol ile karşılaştırıldığında tüm konsantrasyonlarda azalttığı görüldü. Vimentin ifadesi 4 µM Thiostrepton ve Selumetinib ile kombine uygulamada azaldı.

Sonuç: Sonuçlarımıza göre FoxM1 inhibisyonunun üçlü negatif meme kanseri hücrelerinin metastaz potansiyelini azaltabileceği ve MEK inhibisyonu yoluyla da bu etkinin artırılabilirliği düşünülebilir.

Evaluating the potential effects on metastasis of FoxM1 transcription factor inhibition in 4T1 mouse breast cancer cell line

Funda Demirtaş Korkmaz¹, İrem Doğan Turaçlı², Abdullah Ekmekçi¹

¹Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Gazi University, Ankara

²Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Ufuk University, Ankara

Objective: In this study we targeted FoxM1 transcription factor therapeutically for triple negative breast cancer (TNBC), which is the most aggressive molecular subtypes of breast cancer. Thiostrepton was used as FoxM1 inhibitor and also it was combined with Selumetinib (MEK inhibitor) which could inhibit nuclear localization of FoxM1.

Materials-Methods: Firstly we analysed cytotoxic effects of these inhibitors on 4T1 cells by MTT test. According to MTT results cells were treated with 2μM and 4μM concentration of Thiostrepton, 8μM and 16μM concentration of Selumetinib alone and in combination for 6 and 24 hours. Protein isolation was performed from cell culture lysate and BCA assay was used to determine protein concentration. Metastasis related proteins were detected by Western blot to investigate the potential effects of FoxM1 inhibition on metastasis.

Results: FoxM1 expression decreased after Thiostrepton and combined treatment was found to be more effective in both treatment times. As expected, p-ERK expression downregulated after Selumetinib treatment. 4 μ M concentration of Thiostrepton was also decreased p-ERK expression after 24h. E-cadherine expression increased especially combined treatment both 6 and 24 h according to the control. Treatment with Thiostrepton and/or Selumetinib decreased Twist expression in all treatments compared to control. Vimentin expression decreased 4 μ M Thiostrepton and combined treatments.

Conclusion: According to our results, it can be concluded that FoxM1 inhibition might decrease metastasis potential of TNBC cells and this effect may be also enhanced through MEK inhibition.

Bu çalışma Tübitak (1002 Hızlı Destek Programı) tarafından desteklenmiştir.

SS - 062

Myc ekspresyonu küçük hücreli akciğer kanser progresyonunu hücre metabolizmasını düzenleyerek sağlar

Onur Tokgün¹, Francesco Paolo Fiorentino², Pervin Elvan Tokgün³, Jun Yokota², Hakan Akça¹

²Genomics and Epigenomics of Cancer Prediction Program, Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol (IGTP), Campus Can Ruti, Barcelona, Spain

³Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD, Denizli

Amaç: Küçük Hücreli akciğer kanseri (KHAK) yüksek ölüm oranına sahip oldukça agresif bir hastalıktır. MYC ailesi onkogenleri %20 oranında amplifiye ve aşırı ekspresdir bu da MYC proteinlerinin KHAK için terapötik hedef olarak güçlü adaylar olduğunu göstermektedir. MYC transkripsiyon faktörü hücresel metabolizma gibi pekçok biyolojik olayı düzenler. Bu çalışmada KHAK hücrelerinde c-Myc tarafından regüle edilen genlerin metabolizma ve fenotip üzerine olası etkilerini araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada MYC aşırı ekspresyonu ve inhibisyonu için kendi kalıcı ve indüklenebilir lentiviral vektörlerimizi hazırladık. Myc ekspresyonunun metabolizma ve gen ekspresyonu üzerine etkileri western blot, qRT-PCR, miRNA/mRNA array, glukoz alım analizi, metabolik analiz (LC-MS) analizi ile değerlendirildi.

Bulgular: MYC ekspresyonundaki değişikliklere bağlı olarak KHAK karsinogenezinde önemli rolleri olan bazı genlerin (SRM,SMS,HK2,GLS1,LDHA vb) ekspresyonları belirlenmiştir. miRNA/mRNA array ve qRT-PCR sonuçlarına göre hücresel metabolizmayla ilişkili pekçok gen belirlendi.

Sonuç: Myc ekspresyonundaki değişiklikler pekçok metabolik genin ekspresyonunu düzenler. Pekçok genin çoğalmaları ve sağkalımlarının metabolik yollara bağlı olmasından dolayı Myc tarafından regüle edilen metabolik genlerin KHAK için terapötik hedef olarak kullanılması önemli olabilir. İndüklenebilir lentiviral vektörümüzün (pTIJ) in vivo ve in vitro olarak terapötik hedef genlerin fonksiyonunun tanımlanmasında önemli olabileceği kanısındayız. Bu çalışma KHAK'da terapötik hedef oluşturması sebebiyle Myc tarafından regüle edilen metabolik genlerin tanımlanmasında önem arz etmektedir.

Myc expression drives small cell lung cancer progression by regulating cellular metabolism

Onur Tokgün¹, Francesco Paolo Fiorentino², Pervin Elvan Tokgün³, Jun Yokota², Hakan Akça¹

¹Department of Medical Biology, Pamukkale University School of Medicine, Denizli, Turkey

²*Genomics and Epigenomics of Cancer Prediction Program, Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol (IGTP), Campus Can Ruti, Barcelona, Spain*

³Department of Medical Genetics, Pamukkale University School of Medicine, Denizli, Turkey

Objective: Small cell lung cancer (SCLC) is a highly aggressive malignancy with extreme mortality and morbidity. MYC family oncogenes are amplified and overexpressed in 20% of SCLCs showing that MYC proteins are strong candidates as therapeutic targets for SCLC. MYC functions as a transcription factor coordinating many biological processes such as altered cellular metabolism. We aimed to evaluate the possible effects of c-Myc regulated genes on metabolism and phenotype of SCLC cells.

Materials-Methods: In this study we constructed our constitutive and inducible lentiviral vectors for Myc expression and Myc inhibition strategies. The effect of Myc expression on metabolism and gene expression profiling were evaluated by western blot, qRT-PCR, miRNA/mRNA microarray (Affymetrix miRNA 4.0/Illumina HT-12), glucose uptake analysis (Promega) and metabolic (LC-MS) analysis.

Results: Due to changes in Myc expression, expression of some mRNAs (SRM,SMS,HK2,GLS1,LDHA, etc) that play an important roles in SCLC carcinogenesis were evaluated.According to miRNA/mRNA array and qRT-PCR results we observed several genes related to cellular m

Conclusion: Changes in the Myc expression regulates the expression levels of several metabolic genes. Since many cancers are dependent on metabolic pathways for their growth and survival, targeting Myc-regulated metabolic genes as a therapeutic strategy can be important for SCLC therapy. In our belief, our inducible lentiviral (pTIJ) vector will be a useful tool for identifying the function of therapeutic target genes both in vivo and in vitro. This study have importance for identifying Myc-regulated metabolic pathways with regards to developing therapeutic strategy in SCLC.

SS - 063

Özgün bir palladyum-barbitürat bileşiğinin anti-kanser ilaç adayı olarak prelinik analizi

Selvi Durmuş Erim¹, Özlem Ünal³, Rouhollah Khodadust³,
Ceyda İçsel⁴, Veysel Turan Yılmaz⁴, Olaf Van Tellinghen⁵,
Havva Yağcı Acar³, Özgür Şahin², Engin Ulukaya¹

¹*İstinye Üniversitesi*²Bilkent Üniversitesi

³Koç Üniversitesi

⁴*Uludağ Üniversitesi*

⁵*Hollanda Kanser Enstitüsü*

Daha önceki çalışmalarımızda özgün yapıdaki paladyum(II) barbitürat kompleksinin meme, kolon, prostat ve akciğer gibi kanser hücrelerinde sitotoksik etkisini göstermiştik. Bu çalışmada ise bu kompleksin, antikanser ilaç adayı olma potansiyelini toksisite, biyolojik dağılım, ABC ve OATP ilaç taşıyıcı proteinleri ile etkileşimleri ve anti-tümör etkinliği açısından değerlendirdik.

In vivo farmakokinetik çalışmalarımız Pd (II) kompleksinin çok düşük bir oral biyoyararlanıma sahip olduğunu, ayrıca oral ve intravenöz uygulamalardan sonra böbrek ve karaciğer gibi organlarda uzun süreli biriktiğini gösterdi. İlaç taşıyıcı proteinlerle etkileşimlerine baktığımızda, Pd kompleksinin MRP2 tarafından çok iyi derecede taşınabildiğini, bunun P-GP ve BCRP tarafından daha az bir seviyede olduğunu önermiştir. Bileşiğimizin, ilaçların hücre içerisine alınmasını sağlayan OATP proteinlerinden ise OATP1A2'nin çok iyi bir substratı olduğu, ancak OATP1B1, -1B3 veya -2B1 tarafından taşınmadığını gösterdi. Şuanki çalışmalarımızda, in vitro sonuçlara dayanarak bu bileşiğin çeşitli xenograft tümör modellerinde in vivo tümör etkililiğini değerlendirmekteyiz.

Preclinical evaluation of a novel palladium complex as anticancer drug candidate

Selvi Durmuş Erim¹, Özlem Ünal³, Rouhollah Khodadust³,
Ceyda İçsel⁴, Veysel Turan Yılmaz⁴, Olaf Van Tellingen⁵,
Havva Yağcı Acar³, Özgür Şahin², Engin Ulukaya¹

¹*Istinye University*²*Bilkent University*

³Koc University

⁴*Uludag University*

⁵*Netherlands Cancer Institute*

A new cationic palladium (II) complex exhibited growth inhibitory effect at low micromolar concentrations in various cancer cell lines including breast, colon, prostate and lung. This study aimed to evaluate the potency of this complex for being an anticancer drug candidate by investigating its safety, biodistribution, drug transporter interactions and tumor efficacy.

The safety and biodistribution profile was assessed after administering mice with various doses of the complex in wild-type mice intravenously, orally or intraperitoneally. In order to test the interactions of the complex with the drug efflux and uptake transporters, MDCKII and HEK293 cell lines overexpressing various drug transporters and knockout mice for certain drug transporters were used. Tumor efficacy of the complex was evaluated using xenograft mouse models.

In vivo pharmacokinetic studies showed that Pd (II) complex has a very low oral bioavailability and tends to be retained in organs for a long time once distributed after oral and intravenous administrations. In vitro cytotoxicity assays using MDCKII cell lines expressing various ABC transporters suggested that Pd (II) complex is a transported substrate of MRP2, and to a lesser extent of MDR1 and BCRP. Cellular uptake assays using HEK293 cell lines expressing OATP proteins showed that Pd(II) complex was specifically transported by OATP1A2, but not by OATP1B1, -1B3 or -2B1. Based on the in vitro results, we are currently assessing in vivo interactions of this complex with the selected drug transporters and its in vivo tumor efficacy in various xenograft tumor models.

SS - 064

Aurora Kinaz İnhibitörü CCT137690' in melanom hücre hattındaki etkisi

**Fatma Söğütü¹, Çağla Kayabaşı¹, Besra Özmen Yelken¹,
Aycan Aşık¹, Tuğçe Balcı Okcanoğlu², Roya Gasımlı¹,
Sunde Yılmaz Süslüer¹, Çığır Biray Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹**

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

²*Yakın Doğu üniversitesi, Sağlık Bilimleri Meslek Yüksek Okulu, Kıbrıs*

Amaç: Melanoma deri kanseri tiplerinden biridir ve epidermin bazal tabakasındaki pigment üreten melanositlerden orjinlenir.

Aurora kinazlar hücre proliferasyonu için gerekli olan ve sitokinez yoluyla G2/M evresini aşmasını düzenleyen serin/treonin kinazlardır. Aurora kinazlar birçok kanserde aşırı ifade edilirler.

Bu çalışmada melanom hücre hattında (NM2C5) aurora kinaz inhibitörü CCT137690 uygulanması sonrasında apoptotik ve hücre döngüsü, migrasyonu, klonojenik hücre canlılığı üzerinde meydana gelen değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: CCT137690, NM2C5 hücrelerindeki sitotoksitesi doza ve zaman bağlı olarak WST-1 testi ile 48 ve 72. saatte belirlenmiştir. IC50 dozunun, apoptoz üzerine etkisi Anneksin V ve JC-1 testiyle, hücre döngüsü üzerine etkisi Cycle test Plus DNA Reagent Kit kullanımıyla Flow sitometri, migrasyonu üzerine etkisi ise Floresan mikroskopu ile değerlendirildi. Madde uygulanmayan grup kontrol grubu olarak değerlendirildi.

Bulgular: CC137690' nın IC50 dozu NM2C5 hücre hattında 48. Saatte 2.34 μM , 72. Saatte ise 1.83 μM olarak hesaplandı. IC50 dozunun 72.ve 48. saatte apoptotik etki gösterdiği ve 72.saatte hücre döngüsünü durdurduğu ayrıca klonojenik hücre canlılığını etkilediği saptanmıştır.

Sonuç: Sonuç olarak, CCT137690 etken maddesinin, melanom kanser hücre hattı üzerindeki kayda değer etkisi, CCT137690' nın anti kanser ajanlar ile kombinasyon tedavilerinde kullanılabileceğini ve in vivo hayvan modellerinde etkisinin detaylıca araştırılabileceğini göstermiştir.

Effect of Aurora Kinase Inhibitor CCT137690 on melanoma cell line

Fatma Söğütü¹, Çağla Kayabaşı¹, Besra Özmen Yelken¹,
Aycan Aşık¹, Tuğçe Balcı Okcanoğlu², Roya Gasımlı¹,
Sunde Yılmaz Süslüer¹, Çığır Biray Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Bornova, Izmir

²Near East University, Vocational School of Health Sciences,
cyprus

Objective: Melanoma is the one of the skin cancer originates in pigment producing melanocytes in basal layer of epidermis.

Aurora kinases belong to serine/threonine kinases family and are essential for regulating the transit to G2/M phase via cytokinesis. Aurora kinases are over-expressed in many cancerous cells.

In present study, it was aimed to determine changes in apoptotic, cell cycle, migration and clonogenic cell viability after treatment of aurora kinase inhibitor CCT137690 in melanoma cell line (NM2C5). **Materials-Methods:** The cytotoxicity of CCT137690 was determined based on dose and time and identified as 48h and 72h by using WST-1 test. The effect of IC50 dose over apoptosis was assessed by using Annexin V and JC-1 method, on cell cycle was evaluated via Cycle test Plus DNA Reagent Kit in flow cytometry, and on migration was estimated by fluorescence microscopy. The untreated group was taken as control.

Results: The IC50 of CCT137690 was calculated as 2.34 μ M at 48 hours and 1.83 μ M at 72 hours in the NM2C5 cell line. The IC50 dose was found to be apoptotic at 48 and 72 hours and led to cell arrest at G2/M phase at 72 h. In clonogenic cell viability test, IC50 dose of CCT137690 was shown to affect the survival rate.

Conclusion: In conclusion, the effect of CCT137690 on the melanoma cancer cell line has shown that it can be used in combination therapy with different anti-cancer agents, and its effect in animal models *in vivo* can be explored in detail.

KÖK HÜCRE
STEM CELL

SS - 018

Primer kortikal nöron kültüründe vitamin D reseptörlerinin susturulmasının GSK3 α ve GSK3 β protein seviyeleri üzerine etkisi

Merve Alaylıoğlu, Erdiñ Dursun, İrem Lütfiye Atasoy,
Selma Yılmaz, Duygu Gezen Ak

*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma
Ünitesi, İstanbul*

Amaç: Alzheimer hastalığı ve diğer taupatiler, hiperfosforile tau proteininin birikiminden oluşan intraselüler nörofibril yumaklarıyla karakterize nörodejeneratif hastalıklardır. Yapılan çalışmalarda tau hiperfosforilasyonunun, glikojen sentaz kinaz 3 α ve 3 β 'nın (GSK3 α , GSK3 β) ekspresyonlarındaki ve bir seri fosforilasyonla düzenlenmekte olan aktivasyonlarındaki artışla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Çalışmalar, vitamin D reseptörü (VDR) ve/veya membran ilişkili hızlı yanıt veren steroid reseptörü (1,25-MARRS) aracılığıyla etkisini gösteren vitamin D'nin eksikliği durumunda, nöronların nörodejenerasyona daha yatkın hale geldiğini göstermiştir. Bir çalışmada ise vitamin D'den zengin beslenilen sıçanlarda tau hiperfosforilasyonunun azaldığı bildirilmiştir. Bu bilgilerden yola çıkarak bu çalışmada, primer kortikal nöron kültüründe vitamin D reseptörlerinin susturulmasının GSK3 α ve GSK3 β protein seviyeleri üzerine etkisini incelemeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem: 16. embriyonik gündeki sıçan embriyolarının neokorteksinden hazırlanan primer kortikal nöronlara VDR, 1,25-MARRS ve VDR+1,25 MARRS siRNA uygulamaları yapıldı. Uygulamalardan 24 ve 48 saat sonra total protein izolasyonları gerçekleştirildi. GSK3 α ve GSK3 β 'nin total ve fosforile izoformlarının protein seviyeleri Western blot yöntemiyle belirlendi.

Bulgular: Uygulamaların 24. ve 48. saatlerinde total GSK3 α ve GSK3 β seviyelerinde anlamlı bir değişiklik saptanmadı. Uygulamaların 48. saatinde; inaktif GSK3 α 'nın VDR siRNA ve VDR+1,25-MARRS siRNA gruplarında, inaktif GSK3 β 'nin ise VDR siRNA, 1,25-MARRS siRNA ve VDR+1,25-MARRS siRNA gruplarında anlamlı derecede düşük olduğu bulundu. Uygulamaların 48. saatinde, aktif GSK3 β 'nin VDR siRNA, 1,25-MARRS siRNA ve VDR+1,25-MARRS siRNA gruplarında anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi.

Sonuç: Sonuçlarımız, vitamin D reseptörlerinin GSK3 α ve GSK3 β 'nin aktivasyon/inaktivasyonunu transkripsiyonel düzenlemeden ziyade fosforilasyon mekanizmaları üzerinden düzenlediğini göstermektedir. Bu bulgular, vitamin D ve reseptörlerinin tau fosforilasyonunda ve dolayısıyla taupatilerin gelişiminde rolü olabileceğini göstermektedir. Bu çalışma İÜBAP Proje No:32605 ve TÜBİTAK Proje No:2145586 tarafından desteklenmiştir.

The effects of vitamin D receptors silencing on GSK3 α and GSK3 β protein levels in primary cortical neuron cultures

Merve Alaylıoğlu, Erdiñ Dursun, İrem Lütfiye Atasoy,
Selma Yılmazzer, Duygu Gezen Ak

*Brain and Neurodegenerative Disorders Research Unit,
Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of
Medicine, Istanbul University, Istanbul*

Objective: Alzheimer's disease and other tauopathies are neurodegenerative disorders characterized with intracellular neurofibrillary tangles composed of hyperphosphorylated tau protein. Studies showed that tau hyperphosphorylation is associated with glycogen synthase kinase 3 α and 3 β (GSK3 α , GSK3 β) overexpression and overactivation regulated by phosphorylations. Studies demonstrated that deficiency of vitamin D, acts via vitamin D receptor (VDR) or membrane-associated rapid response steroid receptor (1,25-MARRS), increase vulnerability of neurons to neurodegeneration. A study demonstrated that tau hyperphosphorylation decreased in rats fed on vitamin D-rich diet. In this study, we aimed to investigate the effects of silencing vitamin D receptors on GSK3 α and GSK3 β protein levels in primary cortical neuron cultures.

Materials-Methods: Primary cortical neurons prepared from neocortex of rat embryos on embryonic day 16 treated with VDR,1,25-MARRS and VDR+1,25 MARRS siRNAs for 24 or 48 hours.Total protein isolation was performed after 24h and 48h of treatments.Total and phosphorylated GSK3 α and GSK3 β protein levels were detected by Western blotting.

Results: There was no significant difference in total GSK3 α and GSK3 β levels after 24h or 48h of treatments. Inactivated GSK3 α levels were significantly lower in VDR and VDR+1,25-MARRS-silenced groups and inactivated GSK3 β levels were significantly lower in VDR,1,25-MARRS and VDR+1,25-MARRS-silenced groups after 48h of treatments. Activated GSK3 β levels were significantly higher in VDR,1,25-MARRS and VDR+1,25-MARRS-silenced groups after 48h of treatments.

Conclusion: Our results demonstrated that vitamin D receptors regulates GSK3 α and GSK3 β activation/inactivation through phosphorylation mechanisms rather than transcriptional regulation. These results indicates that vitamin D and its receptors might have a role in tau phosphorylation and development of tauopathies. The present work was supported by IUBAP, Project no:32605 and TUBITAK, Project no:214S586.

SS - 019

Kalbe-özgü duyu nöronlarının farede *in vivo* işaretlenmesi ve karakterizasyonu

Tuba Akgül Çağlar¹, Mehmet Yalçın Günal², Gürkan Öztürk³, Esra Çağavi⁴

1Sinirbilim Programı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; Rejenaratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Fizyoloji ABD, Tıp Fakültesi, Alaadin Keykubat Üniversitesi, Antalya, Türkiye

³Fizyoloji ABD, Uluslararası Tıp Fakültesi; Rejenaratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

⁴Tıbbi Biyoloji ABD, Uluslararası Tıp Fakültesi; Rejenaratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Otonom ve duysal sinir sistemi kalp fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Motor kontrolün miyokardiyum fonksiyonu üzerinde etkileri iyi tanımlanmış olmakla beraber, duyu nöronlarının kalp ile olan ilişkisi moleküler düzeyde bilinmemektedir. Araştırmamızda, kardiyomiyosit ve kalbe-ölgü duyu sinir hücreleri arasındaki ilişkiyi moleküler ve elektrofizyolojik düzeyde incelemeyi amaçladık. Bu çalışma kapsamında, Arka Kök Gangliyon (AKG) veya Nodoz Gangliyon'daki (NG) kalbe-ölgü duyu nöronlarını *in vivo* işaretlemek, saflaştırmak ve tanımlamak amacıyla akson boyunca geriye ilerleyen (retrograd) ve floresan özelliğı olan bir boya fare kalbine enjekte edilmiştir. Retrograd boyanın kalbe enjeksiyonundan 1, 3, 7, ve 14 gün sonra AKG ve NG'da kalbe-ölgü duyu nöronları disekte edilerek, konfokal mikroskopu altında gözlemlendi. Gangliyondan ayrıştırılan hücrelerin totalin %37'sini işaretlendiğini ve hücre gövdesinde lokalize olduğunu gözlemledik. Enzim ile muamale edilerek ayrıştırılan işaretli AKG ve NG nöronları FACS ile saflaştırıldı. Saflaştırılan duyu nöronlarının sinir hücrelerine ölgü Nörofilament-200 ve Tuj1 proteinlerini ürettiğini immünboyaması ile tespit ettik. Morfolojik analizlere ek olarak, AKG ve NG kökenli nöronlarda optogenetik ile elektriksel aktiviteyi kontrol etmek ve görüntülemek amacıyla sırasıyla ChR2 ve GCaMP6s taşıyan viral vektörler ile enfekte edilmiş kardiyomiyositler ile kokültür edildi. Bulgularımız kardiyomiyosit ve duyu sinir hücreleri arasında elektriksel eşleşmenin olduğunu gösterdi. Bu çalışma ile elde edilen bilgi daha önce tanımlanmamış olan kalp ve sinir sistemi arasındaki ilişkiye hücresel ve moleküler düzeyde ışık tutacaktır.

***In vivo* labeling and characterization of sensory neurons specifically innervating the mouse heart**

Tuba Akgül Çağlar¹, Mehmet Yalçın Günel², Gürkan Öztürk³, Esra Çağavi⁴

¹Neuroscience Program, Institute of Health Science; Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

²Department of Physiology, School of Medicine, Alaadin Keykubat University, Antalya, Turkey

³Department of Physiology, International School of Medicine; Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

⁴Department of Medical Biology, International School of Medicine; Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMERC), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

Nervous system through autonomic and sensory nerves innervating the heart are critical to regulate heart function. Even though the motor control over the myocardium is well-characterized, the role of sensory neurons is largely unknown. Thus, we aimed to reveal the molecular and electrophysiological interaction between cardiomyocytes and sensory neurons innervating the heart. First, a fluorescent and axonal retrograde dye was injected into the mouse heart *in vivo* to label, purify and characterize the heart-specific sensory neurons located in Dorsal Root Ganglion (DRG) and Nodose Ganglion (NG). After 1, 3, 7, and 14 days of injection, we observed that the retrograde dye was localized to DRG and NG neurons via nerve endings innervating the heart, analyzed by confocal fluorescent imaging. The labeled neurons were comprised of 37% in the total population *in vitro* and the dye was localized at neuron cell body. Next, enzymatic dissociated labeled DRG and NG neurons were successfully purified by using Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS). Purified heart-specific sensory neurons were positively stained for neuron-specific Neurofilament 200 and Tuj1 protein. In addition to morphological analysis, DRG and NG neurons were co-cultured with cardiomyocytes transduced with viral vectors carrying ChR2 and GCaMP6s, in order to optogenetically control and image electrical activity, respectively. Our findings suggest that there is an electrical coupling between DRG and NG neurons and cardiomyocytes. The findings from this study will shed light into the previously unknown cellular and molecular basis of heart and sensory nervous system interaction.

Bu araştırma TÜBİTAK 1001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projeleri Destekleme Programı tarafından 1155381 Nolu Proje kapsamında desteklenmektedir. This study is supported by TÜBİTAK under 1001 Scientific and Technological Research Projects Funding Program by project no: 1155381.

SS - 020

Amiloid beta peptid 1-42 ile oluşturulan deneysel alzheimer modelinde PSD-95 inhibitörünün nöronal koruma, öğrenme ve hafıza fonksiyonları üzerine etkisi

Atiye Seda Yar Sağlam¹, Zübeyir Elmazoğlu², Şevin Güney³, Hacer İlke Önen¹, Cemile Merve Seymen⁴, Gülnur Take Kaplanoglu⁴, Çimen Karasu², Emine Sevdâ Menevşe¹

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

²Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

³Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

⁴Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

Amaç: Alzheimer Hastalığı (AH), yaşlı popülasyonda yaygın görülen ve demans olgularının yarısından fazlasını oluşturan geri dönüşümsüz ve ilerleyici nörodejeneratif bir hastalıktır. Bu nedenle AH'nın kompleks moleküler mekanizmalarını hedefleyen, kan beyin bariyerini aşabilen yeni nanomoleküler ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda AH'nın ilk evrelerinde görülen eksitotoksisiteye bağlı iskemik beyin hasarında etkisi in vivo olarak kanıtlanmış Tat-N-Dimer bileşiğinin, Amiloid beta₁₋₄₂ (Aβ₁₋₄₂) ile oluşturulmuş deneysel Alzheimer modelinde öğrenme ve hafıza fonksiyonları üzerindeki etkilerinin moleküler ve davranış düzeyinde incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda, üç aylık erkek Wistar ratlar rastgele 7 gruba ayrıldı. Ratlara intrahipokampal $A\beta_{1-42}$ enjeksiyonu ile deneysel Alzheimer modeli oluşturularak, tedavi gruplarına, her 3 günde bir intravenöz enjeksiyon ile Tat-N-Dimer bileşiği 45 gün süre ile uygulandı. Tat-N-Dimer bileşiğinin öğrenme ve hafıza parametreleri üzerine etkilerini araştırmak üzere, Morris Water Maze Testi, Yükseltilmiş Artı Labirent Testi ve Yeni Nesne Tanıma Testi uygulandı. Davranış testlerinin bitimini takiben, nöronal sağkalım, nöroenez ve öğrenme-hafıza oluşumunda görev alan bazı belirteçler kantitatif Real Time PCR, Western blot, ELISA ve immunohistokimya yöntemleri ile incelendi.

Bulgular: Yapılan davranış analizleri ile tedavi gruplarında, öğrenme ve hafıza fonsiyonlarında artış gözlenirken bu etkilere aracılık eden ve nöroenez, nöronal sağkalım ve nöronal plastisitede görev alan gen ve protein ifadenin düzeylerinde de anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Çalışmamız, Tat-N-Dimer bileşiğinin in vivo koşullarda AH patogenezi karşı potansiyel bir terapötik ajan olabileceği hipotezini desteklemektedir.

The effect of PSD-95 inhibitor on neuroprotection, learning and memory functions in amyloid beta peptide 1-42 induced experimental alzheimer model

Atiye Seda Yar Sağlam¹, Zübeyir Elmazoglu², Şevin Güney³, Hacer ilke Önen¹, Cemile Merve Seymen⁴, Gülnur Take Kaplanoğlu⁴, Çimen Karasu², Emine Sevdâ Menevşe¹

¹Department of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara, Turkey

²Department of Medical Pharmacology, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara, Turkey

³Department of Physiology, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara, Turkey

⁴Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara, Turkey

Objective: Alzheimer disease (AD) is an irreversible and progressive neurodegenerative disease, that is characterized by progressive cognitive and behavioral deficits, seen commonly in elderly population and more than a half of dementia cases. However, novel nanomolecular agents are needed to target the complex molecular pathways of AD that can pass through blood-brain barrier. We aimed to investigate the effect of Tat-N-Dimer molecule, which was proved to lessen the excitotoxicity mediated ischemic brain injury in vivo, on learning and memory functions in Amyloid beta₁₋₄₂ (Aβ₁₋₄₂) induced experimental Alzheimer models at behavioral and molecular levels.

Materials-Methods: In our study, three months old male Wistar rats were divided at random in 7 groups. A β ₁₋₄₂ aggregates will be injected intrahippocampally to induce Alzheimer model and Tat-N-Dimer molecule was injected intravenously for three days to the treatment groups for 45 days. To investigate the effects of Tat-N-Dimer molecule on learning and memory functions, Morris Water Maze, Elevated-Plus Maze and Object recognition task were performed. Following these tests, the markers involved in neural survival, neurogenesis, learning-memory formation, mainly by using Western blotting, quantitative Real Time PCR, ELISA and immunohistochemistry methods.

Results: Our behavioral analysis demonstrated that the genes and proteins involved in learning and memory functions and neurogenesis, neural survival and plasticity were also significantly increased in treatment groups.

Conclusion: Our study supports the hypothesis that Tat-N-dimer compound might be a potential therapeutic agent against the AD pathogenesis, at least in vivo.

SS - 021

1800 MHz Radyofrekans Radyasyona maruz bırakılan sıçanların beyin dokusunda Monoamin Oksidaz A ve Katekol-O-Metiltransferaz genlerinin ifade düzeylerinin incelenmesi

Uğurgül Yaş¹, Nurcan Aras¹, Badel Arslan¹, Ayşegül Çetinkaya¹, Semra Erdoğan²

¹Mersin Üniversitesi,Tıp Fakültesi,Tıbbi Biyoloji Anabilimdalı,
Mersin

²Mersin Üniversitesi,Tıp Fakültesi,Biyostatistik ve Tıbbi Bilişim
Anabilimdalı,Mersin

Cep telefonlarının kullanimındaki artiş, günlük yaşamda elektromanyetik alana (EMA) kronik olarak maruz kalmaya neden olmaktadır. N r drenalin, dopamin ve serotonin gibi nörotransmitterlerin yıkımında rol oynayan Monoamin Oksidaz-A (MAO-A), bipolar bozukluk ve anksiyete gibi bazı psikiyatrik bozuklukların yanı sıra şiddet davranışı ve intihar eēilimi ile de ilişkilidir. Adrenalin, n r drenalin ve dopamin içeren katekolaminlerin inaktivasyonunda rol oynayan Katekol-O-Metiltransferaz (COMT), anksiyete, şizofreni ve depresif bozukluklar için aday gen olarak deēerlendirilmiřtir. Bu çalışmada, beyin dokusunda 1800 MHz radyofrekans radyasyonun MAO-A ve COMT gen ekspresyon seviyelerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada 21 adet Wistar albino dişi sıçan    gruba ayrıldı; deney (n = 7), sham (n = 7) ve kontrol (n = 7). Deney grubu 1800 MHz radyofrekans radyasyonuna 8 hafta boyunca 2 saat/gün maruz bırakıldı. Kontrol grubu kendi koşullarında tutuldu. Sham grubu EMA'ya maruz kalmadan deney grubu ile aynı koşullarda tutuldu. Sıçanların beyin dokusu çıkarıldı ve total RNA, tüm beyin homojenatından elde edildi. cDNA toplam RNA'dan sentezlendi ve gen ekspresyon seviyeleri, Real-Time PCR ile belirlendi. Sonuçlar, COMT geninin ekspresyon düzeyinin, sham ve kontrol grubuna göre EMA'ya maruz kalan grupta arttıēını gösterdi (p = 0.018). Bununla birlikte, MAO-A gen ekspresyonunun gruplar arasında farklılık g stermediēi belirlendi (p = 0.685). Elde edilen bulgular, 1800 MHz radyofrekans radyasyonunun beyindeki COMT geninin ekspresyon seviyesini deēiřtirebileceēini ve bu yolla bazı psikiyatrik bozukluklara neden olabileceēini göstermektedir. Bulgular ileri araştırmalarla desteklenmelidir.

Investigation of Monoamin Oxidase A and Catechol-O-Methyltransferase genes expression levels in the Rat Brain Tissue Exposed to 1800 MHz Radiofrequency Radiation

Uğurgül Yaş¹, Nurcan Aras¹, Badel Arslan¹, Ayşegül Çetinkaya¹, Semra Erdoğan²

¹Mersin University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Mersin

²Mersin University, Faculty of Medicine, Department of Biostatistics and Medical Informatics, Mersin

Increasing in the use of mobile phones causes to chronic electromagnetic field (EMF) exposure in daily life. Monoamine Oxidase-A (MAO-A), which plays role in the destruction of neurotransmitters such as noradrenaline, dopamine and serotonin, is also associated with some psychiatric disorders such as bipolar disorders and anxiety, as well as violent behavior and suicidal tendency. Catechol-O-methyltransferase (COMT), which plays a role in the inactivation of adrenaline, noradrenaline and dopamine-containing catecholamines, has been evaluated as candidate gene for anxiety, schizophrenia and depressive disorders. In this study, we aimed to investigate the effect of 1800MHz radiofrequency radiation on the MAO-A and COMT genes expression levels in the brain tissue. 21 Wistar albino female rats were divided into three groups; exposed (n=7), sham (n=7) and control (n=7). The exposed group were exposed to 1800MHz radiofrequency radiation for 2h/day for 8 weeks. Control group were kept in their own conditions. Sham group were kept in the same conditions with exposed group without EMF exposure. The rats' brains were removed and total RNA was extracted from whole brain homogenate. cDNA was synthesized from total RNA and gene expression levels were determined with Real-Time PCR. The results showed that COMT gene expression level increased in the exposed group according to sham and control group ($p=0.018$). However, the level of MAO-A gene expression level didn't altered ($p=0.685$). According to our results 1800MHz radiofrequency radiation can cause some psychiatric disorders via alter COMT gene expression levels in the brain. Further investigations should be performed to support our findings.

Çalışma Mersin Üniversitesi tarafından desteklenmiştir. (2017-1-TP2-2186).

SS - 022

İnsan nöral kök hücrelerinde Nükleer Faktör I kontrol mekanizmaları

Aslı Kumbasar, Gökçe Cesur, Betül Kutay, Cemre
Lektemur

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

Nükleer Faktör I (NFI) transkripsiyon faktörü ailesi, embriyonik gelişim sırasında, projenitör hücrelerde, yetişkinlerde ise kök hücre nişlerinde gen regülasyonunu kontrol ederek, merkezi sinir sistemi dahil bir çok organ ve dokuda önemli bir rol oynar. Bu ailenin üç üyesi, NFIA, NFIB ve NFIX, bir taraftan kök hücrelerin kendi kendini yenilemesi ile ilişkili genleri bastırırken, diğer taraftan farklılaşma için gereken genleri tetikleyerek nörogenez sürecini düzenlemektedirler. NFI proteinlerinin amino ucunda korunmuş bir DNA bağlanma bölgesi, karboksil ucunda transkripsiyon modülasyon bölgesi bulunur. NFI proteinleri homodimer ya da heterodimer oluşturarak TTGGC(N5)GCCAA dizilerine ya da monomer olarak bu palindrom bölgesinin bir yarısına bağlanabilmektedirler. NFI proteinleri in vitro koşullarda aynı DNA dizilerine, benzer afiniteler ile bağlansalar da canlılarda bu genlerin susturulması ayrı fenotiplere yol açmakta; yetişkin beyinde NFIA, NFIB ve NFIX'in spesifik hücre gruplarında ifade olduğu görülmektedir. Halen her bir NFI geninin spesifik işlevi aydınlatılamamıştır. İnsan nöral projenitör hücre kültüründe NFI proteinlerinin işlevlerini incelemek üzere önce bu proteinlerin ekspresyonlarını karakterize ettik. Daha sonra, farklılaşma süresince, ifadesi baskılanan NFIB proteinin işlevi ve regülasyonu üzerinde odaklandık. *NFIA*^{-/-} hipokampus ve *NFIB*^{-/-} serebellumda ifadesi artan genlerden biri olan *CDO*'nun, 5kb promotor dizisinde bulunan NFI bağlanma bölgeleri, in vitro koşullarda NFI proteinleri ile etkileşmekte, nöral projenitör hücrelerinde ise bu bölgelerden ikisi NFI proteinleri tarafından işgal edilmektedir. NFİlar, bu bölgelerden biri ile etkileşerek *CDO*promotorunun aktivasyonunu baskılayabilmektedirler. Diğer taraftan, nöral projenitör hücrelerinde ifade edilen iki miRNA, miR124 ve miR153, NFIB'nin 3'UTR'ına bağlanarak, translasyonunu baskılamaktadır. Nöral projenitör hücrelerinde NFIB üzerinde (upstream) ve NFIB'nin düzenlediği faktörlerin aydınlatılması, insan merkezi sinir sistemindeki rolünün anlaşılmasına yardımcı olacaktır.

Regulation of Nuclear Factor One in human neural stem cells

Aslı Kumbasar, Gökçe Cesur, Betül Kutay, Cemre
Lektemur

*Istanbul Technical University, Department of Molecular Biology
and Genetics, Istanbul*

Nuclear Factor One (NFI) transcription factor family, play an important role during development and in the adult stem cell niche, regulating gene expression in progenitor cells in various tissues and organs, including the central nervous system. Three family members, NFIA, NFIB and NFIX, repress genes associated with stem cell maintenance and renewal while inducing genes required for neural differentiation, thus regulating neurogenesis. NFIs contain a conserved N-terminal DNA binding domain and a C-terminal transcription modulation domain. NFIs bind the TTGGC(N5)GCCAA sequence as homo- or heterodimers. While NFIs bind the same DNA sequences with similar affinity in vitro, knock-out of these genes in vivo lead to distinct phenotypes and NFIA, NFIB and NFIX are expressed in specific cell subpopulations in the adult brain. Specific functions of each NFI gene has not yet been elucidated. To explore NFI function in human neural progenitor cell culture, first we characterized their expression. Then we focused on function and regulation of NFIB, which is repressed upon differentiation. *CDO*, upregulated in *NFIA*^{-/-} hippocampus and *NFIB*^{-/-} cerebellum, has several NFI binding sites in its 5kb upstream region, all of which bound NFIs in vitro, while in neural progenitors two of these sites were occupied by NFIs. Interacting with one of these sites, NFIs could repress *CDO* promoter activation. Furthermore, miR124 and miR153, miRNAs expressed in neural progenitors, could bind the NFIB 3'UTR and repress its translation. Identification of factors upstream and downstream from NFIB in neural progenitor cells, will help better understand its function.

Bu çalışma TUBİTAK (KBAG 212T017) ve İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

SS - 042

Hepatosit Büyüme Faktörü'nün, EpCAM+/CD133+ Karaciğer Kanser Kök Hücresi Üzerine Etkileri

Emine Kandemiş¹, Neşe Atabey², Esra Erdal²

¹Bahçeşehir Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul;
Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

²Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü (IBG-İzmir), İzmir; Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

Amaç: Karaciğer kanserleri içerisinde en sık görüleni ve en agresif olanı Hepatosellüler Karsinoma (HCC)' dir. Genellikle premalin süreç olarak kabul edilen sirozda, kontrolsüz kollajen tip I üretimi ve hepatosit büyüme faktörü (HGF)/c-met sinyal yolağının aktivasyonu gibi mikroçevreyi etkileyen değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişikliklerin Kanser Kök Hücre (KKH)' lerini aktive ettiği düşünülmektedir. EpCAM+/CD133+ alt popülasyonunun hepatik KKH gibi davranabildiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiş olmasına rağmen, mikroçevre değişikliklerinin KKH aktivasyonunu nasıl etkilediği hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır. Bu çalışmada, kollajen tip I ve HGF uyarımının EpCAM+/CD133+ hücrelerinin davranışları üzerindeki etkisini tanımlamayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: EpCAM+/CD133+ hücreleri HuH-7 hücrelerinden manyetik ayırılma yöntemiyle ayrılmıştır. Ardından EpCAM+/CD133+ hücrelerinin proliferasyonu, invazyon ve “branching morphogenesis” yetenekleri HGF uyarımı ile analiz edilmiştir.

Bulgular: HGF uyarımı, EpCAM+/CD133+ hücrelerinde c-Met' in fosforilasyon düzeyini arttırmıştır. Ayrıca, kollajen tip I' in varlığında HGF uyarımı EpCAM+/CD133+ hücrelerinin invazyonlarını ve "branching morphogenesis" yeteneklerini arttırırken proliferasyonlarını etkilememiştir. HGF' in bu etkisi c-Met inhibitörü olan SU11274 ile ortadan kalkmıştır. Tüm bu veriler HGF ve kollajen tip I' in, EpCAM+/CD133+ alt grubunun invazyonunu uyarak agresif bir fenotipin açığa çıktığını göstermiştir.

Sonuç: Sonuç olarak, HGF/c-Met sinyal yolağının HCC’deki EpCAM+/CD133+ hepatik kanser kök hücrelerinde metastatik fenotipi etkilediğini gözlemledik ve elde edilen sonuçlar hepatokarsinogenez sürecinde hepatik kanser kök hücrelerini hedef alan c-Met inhibitörünün kullanılabileceğini bize düşündürmüştür.

Effects of Hepatocyte Growth Factor on EpCAM+/CD133+ Hepatic Cancer Stem Cells

Emine Kandemiş¹, Neşe Atabey², Esra Erdal²

¹Bahcesehir University, College of Engineering and Natural Sciences, Department of Molecular Biology and Genetics, Istanbul; Dokuz Eylul University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Izmir

²Dokuz Eylul University, Izmir International Biomedicine and Genome Institute (IBG-Izmir), Izmir; Dokuz Eylul University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Izmir

Objective: Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common and most aggressive form of liver cancers. Usually at cirrhosis stage which is considered a premalignant process, microenvironmental changes occurred such as uncontrolled production of collagen type I and activation of hepatocyte growth factor (HGF)/c-met signalling. These changes are thought to activate Cancer Stem Cells (CSCs). Although EpCAM+/CD133+ subpopulation has been shown in a variety of studies that can act as hepatic cancer stem cells, there is limited information on how microenvironment changes effect CSCs activation. In this study, we aimed to define effect of collagen type I and HGF induction on the cell behaviours of EpCAM+/CD133+.

Materials-Methods: EpCAM+/CD133+ cells isolated with magnetic separation from HuH-7 cells. After magnetic separation, proliferation, invasion and branching morphogenesis of EpCAM+/CD133+ cells were analyzed under the HGF induction.

Results: HGF stimulation, increased phosphorylation level of c-Met in EpCAM+/CD133+ cells. In addition, HGF stimulation in the presence of collagen type I did not affect proliferation while increasing the invasion and the ability to branching morphogenesis of EpCAM+/CD133+ cells. These effects of HGF reverted by c-Met inhibitor, SU11274. All these findings showed that HGF and collagen type I regulates an aggressive phenotype by stimulating the invasion of the EpCAM + / CD133 + subgroup.

Conclusion: In conclusion, we observed that HGF/c-Met signaling effects metastatic phenotype of EpCAM+/CD133+ hepatic cancer stem cells in HCC and the results suggest that c-Met inhibitor could be used in targeting hepatic cancer stem cells during hepatocarcinogenesis.

SS - 043

Crohn hastalarının PBMC ve aktif dokularında insan DF-MKH'lerinin T lenfosit alt grupları ve IL-22BP üzerine etkisinin araştırılma

Muazzez Gökalp¹, Noushin Zibandeh¹, Özlen Atıg², Deniz Genç¹, Yazgül Duran¹, Mehmet Kamil Göker³, Tunç Akkoç¹

¹Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik Allerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Marmara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız ve Çene Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Crohn hastalığı sindirim sisteminin kronik inflamatuvar hastalığıdır. İnsan Dental Folikül Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerin (iDF-MKH) kendilerini yenileyebilen ve farklı hücre tiplerine farklılaşma kapasitesinde, doğal ve hücrel immün sistem mekanizmalarının üzerinde immüsupressif etkisi olan hücrelerdir.Bu projede iDF-MKH'lerin Crohn hastalarının periferik kan mononükleer hücrelerinde(PKMH) ve aktif/pasif doku lenfositleri üzerinde CD4+,CD8+,CD+CD25+Foxp3+Treg hücre ve CD4+IL-22BP düzeyleri üzerine etkilerinin in-vitro ortamda araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Diş Hekimliği Fakültemize başvuran sağlıklı bireylerin diş foliküllerinden mezenkimal kök hücre izolasyonları, karakterizasyonları ve farklılaştırması yapılmıştır.

Üniversitemiz Gastroenteroloji Polikliniğine başvuran takipli Crohn tanısı almış hastalardan(n=10) venöz kanından periferik kan mononükleer hücreleri(PKMH) izole edilmiştir. Crohn hastalarında rutin yapılan kolonoskopi sırasında aktif ve pasif doku biopsileri alınmış ve lenfosit izolasyonları yapılmıştır.Lenfositler iDF-MKH varlığında ve yokluğunda anti-CD3 ve anti-CD28 ile 3 gün uyarılmıştır. Kültürlerde CD3+/CD4+/CD8+T, NK,NKT ve B lenfosit düzeylerine, lenfosit proliferasyonun(CFSE işaretli hücrelerde), CD3+/CD4+/CD8+ T lenfosit apoptozuna, CD4+CD25+FoxP3+ Tregülatör hücre oranlarına ve CD4+IL-22BP düzeylerine PKMH'de aktif/pasif doku lenfositlerinde bakılmıştır.

Bulgular: Crohn Hastalarının PKMH'leri iDF-MKH ile kültürlerinde iDF-MKH olmayan gruba kıyasla lenfosit proliferasyonu, lenfosit apoptozunu ve CD4+IL-22BP düzeyini baskılamış ($p<0.05$) ve CD4+CD25+FoxP3+Tregülatör hücre düzeyini arttırmıştır. Crohn hastalarının aktif ve pasif dokularından izole edilen lenfosit hücrelerinin iDF-MKH ile kültürlerinde iDF-MKH olmayan gruba kıyasla aktif doku lenfositlerinde CD8+T hücre ve CD4+IL-22BP düzeylerini baskılamıştır.

Sonuç: Crohn hastalarının kanından izole edilen lenfositlerin proliferasyonunu baskıladığı CD4+Foxp3 T-hücre oranını arttırdığı gösterilmiştir. Aktif ve pasif dokudan elde edilen lenfositlerin CD4+IL22BP ve CD8+ oranını baskılandığı gösterilmiştir.Crohn hastalığında iDF-MKH'lerin immünomodülatör etkisinin olması, bu etkinin tedavi yaklaşımlarında kullanılmasının uygun olabileceğini düşündürmektedir.iDF-MKH'lerin inflamatuvar hastalıkların

tedavi yaklaşımlarında immünomodülatör fonksiyonlarındaki hücreler olarak kullanılmasının uygun olabileceği düşünülmektedir.

Crohn patients in PBMC and active tissue investigation on effect of human DF-MKH on T lymphocyte subgroups and IL-22BP

Muazzez Gökalp¹, Noushin Zibandeh¹, Özlen Atıg², Deniz Genç¹, Yazgöl Duran¹, Mehmet Kamil Göker³, Tunç Akkoç¹

¹Marmara University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Allergy and Immunology, Istanbul, Turkey

²Marmara University, Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Department of Gastroenterology, Istanbul, Turkey

³Marmara University, Faculty of Dentistry, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Istanbul, Turkey

Objective: Crohn's disease is a chronic inflammatory. Human Dental Follicle-Derived Mesenchymal Stem Cells(hDF-MKH) are cells that are able to regenerate themselves and have an immunosuppressive effect on the natural and cellular immunomechanical mechanisms in differentiating capacity to different cell types. In this study, we aimed to investigate the effects of hDF-MSCs on CD4+, CD8+, CD+CD25+Foxp3+Treg cells and CD4+IL-22BP levels in peripheral blood mononuclear cells(PBMC) and active/passive tissue lymphocytes of Crohn's patients.

Materials-Methods: Dentistry Mesenchymal stem cell isolation, characterization and differentiation of dental follicles from healthy individuals who have applied to our faculty have been made. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from venous blood were isolated from patients with Crohn's diagnosis (n=10) who were admitted. Active and passive tissue biopsies were taken and lymphocyte isolation was performed during the colonoscopy performed in Crohn's patients. Lymphocytes were stimulated for 3 days with anti-CD3/CD28 in the presence and absence of hDF-MCF. CD4+/CD8+ lymphocyte apoptosis, CD4+CD25+FoxP3+T regulator cell ratios, CD4+IL-22BP levels in the lymphocyte proliferation (in CFSE marked cells), CD3+/CD4+ and active/passive tissue lymphocytes.

Results: PBMCs of Crohn's patients suppressed lymphocyte proliferation, lymphocyte apoptosis and CD4+IL-22BP levels ($p < 0.05$), increased CD4+CD25+FoxP3+Tregulator cell levels in hDF-MKH cultures. Suppressed CD8+T cell and CD4+IL-22BP levels in active tissue lymphocytes compared to non-hDF-MKH cultures in hDF-MKH cultures of lymphocyte cells isolated from active and passive tissues of Crohn's patients.

Conclusion: It has been shown that Crohn's patients increase the ratio of CD4+Foxp3-T-cells suppressed by proliferation of lymphocytes isolated from the blood of patients. Lymphocytes from active and passive tissue have been shown to suppress CD4+IL22BP and CD8+ ratio. The immunomodulatory effect of hDF-MSCs in Crohn's disease suggests that it may be appropriate to use this effect in therapeutic approaches.

SS – 044

İnsan uzun QT sendromu kökenli uyarılmış pluripotent kök hücrelerde ilgili mutasyonun CRISPR/Cas9 ile düzeltilerek hastalık fenotipinin incelenmesi

Sevilay Şahoglu Göktas^{1,2}, Gizem Örs^{1,3}, Tuğçe Torun^{1,3},
Zeynep Begüm Durdu^{1,3}, Tuba Akgül Çağlar^{1,4}, Yusuf Enes
Kazıcı^{1,4}, Volkan Tuzcu⁵, Emre Deniz⁶, Batu Erman⁷, Esra
Çağavi^{1,3,8}

¹*İstanbul Medipol Üniversitesi, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul, Türkiye*

²*İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ABD, İstanbul, Türkiye*

³*İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ABD, İstanbul, Türkiye*

⁴*İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sinir Bilim Programı, İstanbul, Türkiye*

⁵*İstanbul Medipol Üniversitesi, Pediatrik Kardiyoloji ABD, Tıp Fakültesi Eğitim Hastanesi, İstanbul, Türkiye*

⁶Acıbadem Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik
Departmanı, İstanbul, Türkiye

⁷*Sabancı Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, İstanbul, Türkiye*

⁸*Istanbul Medipol Üniversitesi, Uluslararası Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, İstanbul, Türkiye*

İnsan somatik hücrelerinin uyarılmış pluripotent kök hücrelere (UPKH; iPSC) yeniden programlanması ve CRISPR/Cas9 genetik düzenleme uygulamaları, hastalık mekanizmalarının araştırılabilmesi ve kliniğe yönelik tedavi yöntemleri geliştirilebilmesinin yolunu açmıştır. Çalışmamızın amacı, Uzun QT Sendromu (UQTS) hastalarının somatik hücrelerinin UPKH'lerine yeniden programlanarak mutasyonun CRISPR/Cas9 sistemi ile düzeltilmesi ve genetik düzenlemenin hastalık fenotipine etkilerinin incelenmesidir. Bu amaçla, kalp ritim bozukluklarının en yaygın tiplerinden olan UQTS tanılı hastalarda potasyum kanalı proteini kodlayan KCNQ1 geninde tek nükleotid mutasyonu tespit edildi. Hasta ve sağlıklı aile bireyinden alınan venöz kan hücreleri Oct-4, Sox-2, Klf-4 ve c-Myc genlerini taşıyan Sendai virüsü aktarımı ile yeniden programlandı. UPKH kolonilerinin Oct-4, Sox-2, Tra1-60 ve SSEA-4 gibi köklülük genlerini mRNA ve protein seviyesinde ürettiği qRT-PCR ve immünohistokimyasal boyamalar ile gösterildi. Genetik düzenleme amacıyla, rehber RNA, Cas9, ve GFP genlerini içeren vektör ile ssDNA elektroporasyonla UPKH'lerine verildi. Hasta kökenli GFP+ UPKH'ler FACS ile saflaştırılarak kültürü yapıldı. Taranan 476 koloniden 26'sında genetik düzeltme sekanslama ile gösterildi. Sağlıklı aile bireyinden oluşturulan UPKH'lerinde benzer CRISPR/Cas9 stratejisi kullanarak, aynı mutasyonu KCNQ1 geninde oluşturduk. Oluşturduğumuz mutasyonu %3,7 verimle 216 koloniden 8 kolonide gözlemledik. UQTS fenotipini in vitro incelemek amacıyla; hasta, sağlıklı ve genomu düzenlenmiş UPKH'leri Wnt sinyallerini regüle ederek kardiyomyosite farklılaştırdık. Kardiyomyositlerin elektrofizyolojik analizi, elektrod dizi sistemi ile ölçüm alan CardioECR (xCELLigence®) ve kalsiyuma duyarlı Flou-4 floresan

boyasıyla incelendi. Mutasyon oluşturulmuş kardiyomyositlerde sağlıklı kontrollerine kıyasla, QT aralığında istatistiksel anlamlı uzama tespit ettik. Bu çalışma sonucunda, UQTS kalp hastalık modeli in vitro olarak UPKH temelli oluşturulmuş ve CRISPR/Cas9 sistemi ile genetik düzenlemenin hastalık fenotipine etkisini incelemeye yönelik deneysel çalışmalar yapılmıştır.

Characterization of CRISPR/Cas9 based genome editing on induced pluripotent stem cells derived from long QT syndrome patients

Sevilay Şahoğlu Göktas^{1,2}, Gizem Örs^{1,3}, Tuğçe Torun^{1,3},
Zeynep Begüm Durdu^{1,3}, Tuba Akgül Çağlar^{1,4}, Yusuf Enes
Kazıcı^{1,4}, Volkan Tuzcu⁵, Emre Deniz⁶, Batu Erman⁷, Esra
Çağvı^{1,3,8}

¹Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), İstanbul Medipol University, İstanbul, Turkey

²Istanbul Medipol University, Institute of Health Science, Department of Microbiology, Istanbul, Turkey

³Istanbul Medipol University, Institute of Health Science, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey

⁴Istanbul Medipol University, Institute of Health Science, Neuroscience Program, Istanbul, Turkey

⁵Istanbul Medipol University Hospital, Department of Pediatric Cardiology, Medical Faculty Education Hospital, Istanbul, Turkey

⁶Acibadem Universtiy, Molecular Biology and Genetics Department, , Istanbul, Turkey

⁷Sabancı University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Istanbul, Turkey

⁸Istanbul Medipol University, International School of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey

Generation of induced pluripotent stem cell (iPSC) and CRISPR/Cas9 gene-editing have opened a new avenue in regenerative medicine. Here, we aimed to recapitulate congenital Long QT Syndrome Type-1 (LQTS-1) disease phenotype *in vitro* by deriving patient-specific iPSCs and to correct associated mutation by CRISPR/Cas9 system. LQTS-1 is a common cardiac arrhythmia and mutations in the KCNQ1 gene encoding a voltage-gated potassium channel was detected in LQTS-1 patients. Venous blood cells from a patient and his healthy family member were reprogrammed via Sendai virus carrying coding sequences of pluripotency markers, *e.i.* Oct-4, Sox-2, Klf-4 and c-Myc. iPSC colonies were analysed by expression of pluripotency markers using qRT-PCR and immunocytochemical staining. For genome editing, the vector containing sequences for guide RNA, Cas9 enzyme, GFP and ssDNA carrying corrected sequence were co-transfected to iPSCs by electroporation. GFP expressing iPSCs were single-cell sorted by FACS and 26/476 colonies were edited shown by Sanger sequencing. Using a similar strategy, the disease causing mutation was generated in KCNQ1 gene of control iPSCs, with 3% efficiency. To electrophysiologically characterize the disease phenotype, the healthy, patient and gene-corrected iPSCs were differentiated into cardiomyocytes by regulating Wnt signaling. Their electrical activities and Ca²⁺ kinetics were assayed by CardioECR multi-electrode system and Fluo-4 analysis, respectively. We have observed a significant

prolongation of QT interval in mutant cardiomyocytes compared to healthy controls. Collectively, the LQTS disease model was established in vitro based on patient-specific iPSCs and the corrective effect of genome editing on the disease phenotype was successfully evaluated.

Bu araştırma TÜBİTAK 1003 Öncelikli Alanlar Ar-Ge Projeleri Destekleme Programı tarafından 213S192 Nolu Proje kapsamında desteklenmektedir.

SS - 045

Dental folikül mezenkimal kök hücrelerinin ev tozu akarına duyarlı astım hastalarının lenfositleri üzerinde immünoregülatör etkisi

Deniz Genç¹, Noushin Zibandeh¹, Muazzez Gökalp¹, Ülkü Arıç¹, Ercan Nain¹, Elif Karakoç Aydıner¹, Mehmet Kamil Göker², Tunç Akkoç¹

¹Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik Allerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Marmara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ağız ve Çene Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: İnsan Dental Folikül Mezenkimal Kök Hücreleri (iDF-MKH) otoimmün ve allerjik hastalıkların tedavisinde immünregülasyondaki rolleri önemli bir yaklaşım olmaktadır. Çalışmamızda, IFN- γ uyarımlı veya uyarımsız iDF-MKH'ların ev tozu akarına (Derp1+) duyarlı astım hastalarının periferik kan lenfositleri üzerinde immünomodülatör etkisinin in-vitro ortamda araştırılmasıdır.

Gereç-Yöntem: iDF-MKH dış çekim endikasyonlu sağlıklı bireylerden izole edilmiştir. İmmünterapi almamış Derp1+ astım hastaları ve sağlıklı bireylerin venöz kanından periferik kan mononükleer hücreleri(PKMH) izole edilmiştir. PKMH'ler iDF-MKH(IFN- γ uyarımlı veya uyarımsız) ile kök kültürleri yapılmış ve hücreler I)anti-CD2,anti-CD3 ve anti-CD28(CDmix),II)Derp 1, III)Dexamethasone, IV)IFN- γ ile 72 saat uyarılmıştır.Kültür süresi sonunda CD4+T lenfosit proliferasyonu(CFSE işaretli hücrelerde), lenfosit apoptozu ve CD4+CD25+FoxP3+ Tregülatör hücre oranlarına ve sitokin düzeylerine akım sitometride bakılmıştır.

Bulgular: iDF-MKH'ler (IFN- γ ön uyarımlı ve uyarımsız) Derp1+ astım hastalarının PBMC'lerinin proliferasyonunu ve apoptozunu MKH uygulanmamış kültürlerle kıyasla baskılamış ($p<0.05$) ve CD4+CD25+FoxP3+ Tregülätör hücre düzeylerini arttırmıştır ($p<0.05$). Bu artış IFN- γ ön uyarımlı kültürlerde IFN- γ ön uyarımsızlara kıyasla anlamlı baskılama ve artış göstermiştir ($p<0.05$). iDF-MKH'ler Derp1+ astım hastalarında IFN- γ ve IL-10 düzeylerini MKH olmayan gruba kıyasla arttıran ($p<0.001$, $p<0.0001$) IL-4 düzeylerini baskılamıştır ($p<0.05$). IFN- γ ön uyarımlı MKH kültürlerinde ise IL-10 düzeyini artış IFN- γ ön uyarımsız kültürlerle kıyasla anlamlı arttırmıştır ($p<0.05$). iDF-MKH'ler Derp1+ astım hastalarında lenfosit proliferasyonunu ve lenfosit apoptozunu baskımlarken IFN- γ uyarımı iDF-MKH'lerin lenfosit proliferasyonunu ve apoptozunu baskılama etkisini artırmaktadır. iDF-MKH'ler CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücre oranını artırırken IFN- γ uyarımı iDF-MKH'lerin immünomodülätör etkisini artırarak Treg hücre oranını daha

fazla artırmaktadır. IDF-MKH'lerin Derp1+ astım hastalarının lenfositleri üzerinde immün baskılayıcı etkisi olduğu ve bu etkiyi Treg hücre sayısını artırarak göstermektedir.

Sonuç: Elde edilen sonuçlar astım hastalığında iDF-MKH'lerin hücresel tedavilerde immünmodülatör etkisi ile yeni bir seçenek olabileceğini göstermektedir.

Impact of immunoregulator on the lymphocytes of dental follicle mesenchymal stem cells in house dust-sensitive asthma patients

Deniz Genç¹, Noushin Zibandeh¹, Muazzez Gökalg¹, Ülkü Arıç¹, Ercan Nain¹, Elif Karakoç Aydın¹, Mehmet Kamil Göker², Tunç Akkoç¹

¹Marmara University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Allergy and Immunology, Istanbul, Turkey

²Marmara University, Faculty of Dentistry, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Istanbul, Turkey

Objective: Human Dental Follicle Mesenchymal Stem Cells(iDF-MKH) play the immunomodulatory effect of IFN- γ induced or non-induced iDF-MCs on peripheral blood lymphocytes of house dust mite(Derp1+) susceptible asthmatics in-vitro.**Materials-Methods:** iDF-MKH was isolated from healthy individuals with indications for tooth extraction.Derp1+ asthma patients who have not received immunotherapy and peripheral blood mononuclear cells(PBMC) from venous blood of healthy individuals have been isolated.PKMHS were co-cultured with iDF-MKH(IFN- γ stimulated or uninvolved) and cells were incubated with anti-CD2,anti-CD3 and anti-CD28(CDmix),II)Derp+1,III)Dexamathasone,IV)IFN- γ for 72 hours.At the end of the culture period,cytokines were examined for CD4+T lymphocyte proliferation(in CFSE-labeled cells) lymphocyte apoptosis and CD4+CD25+FoxP3+Tregulator cell ratios and cytokine levels

Results: idf-MSCs (IFN- γ pre-induced and not pre-induced) Derp1+ asthma patients proliferation of PBMCs and apoptosis suppressed compared to cultures untreated MSCs ($p < 0.05$). CD4+CD25+FoxP3+Tregulator is increased at the cell level ($p < 0.05$). This increase was significantly suppressed, increased in IFN- γ pre-stimulated cultures compared to IFN- γ pre-stimulation ($p < 0.05$). idf-MSCs in sick IFN- γ and IL-10 levels Derp1+ asthma group compared to the non-increase of MSCs ($p < 0.001$, $p < 0.0001$) in suppressing IL-4 levels ($p < 0.05$). IFN- γ is pre-stimulated cultures of MSCs to increase IFN- γ IL-10 levels increased significantly compared to not pre-stimulate cultures ($p < 0.05$). idf-MSCs in patients with asthma Derp1+ lymphocyte proliferation and apoptosis of lymphocytes in suppressing IFN- γ stimulation of MSCs idfa-lymphocyte proliferation and increase the apoptosis suppression effect. CD4+CD25+FoxP3+Treg cell ratio increased IFN- γ induction by enhancing the effects of immunomodulators IDf-MSCs are further increasing the rate of Treg cells. idf-MSCs of asthmatics Derp1+ lymphocytes that have an effect on the immune suppressive effect, shows that increasing the number of Treg cells.

Conclusion: The results show that iDF-MSCs in asthma disease may be immunomodulator effect in cellular therapy.

POSTER SUNUMLARI

POSTER PRESENTATIONS

DIĞER
OTHERS

PS - 112

Ameliyat sonrası gelişen peritoneal yapışıklığın önlenmesinde sodyum aljinat ve saf aljinat etkinliğinin enflamasyon açısından incelenmesi

Beyza Göncü¹, Samet Yiğman², Harun Başoğlu³, Emrah Yücesan⁴, Nur Özten Kandaş⁵, Fahri Akbaş⁶, Erhan Ayşan²

¹Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Deneysel Araştırma Merkezi, İstanbul

²Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul

³Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul

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

⁵Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁶Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, İstanbul

Peritoneal yapışıklıklar, peritoneal boşluk içerisinde oluşur ve cerrahi girişimlere bağlı gelişir. Yapışıklık gelişimi fizyolojik iyileşme sürecinin parçasıdır. Alt batin operasyonlarının %90'ından fazlasında oluşan yapışıklıklar kronik ağrı, bağırsak tıkanıklığı ve infertiliteye neden olup, batin cerrahi girişimleri gerektirmektedir. Komplikasyonlardan dolayı hastaların %33'ünde nüks görülür. Histolojik olarak periton, tek katlı mezotelyal hücrelerle kaplı, bağ doku elemanlarının zengindir. Mezotelyal hücreler bazal membrana gevşek olarak tutunmaktadır ve basit bir travmada bile ayrılabilir. Bu hücrelerde hasar olduğunda TNF- α gibi sinyal proteinleri salgılanır. Peritoneal yapışıklıkların önlenmesi için gerçekleştirilen birçok in vivo çalışmada gliserol, metilen mavisi, biyouyumlu polimerik bileşenler kullanılmıştır. Aljinat temelli konjuge polimerler periferel sinir tamirinde, osteoartrit tedavisinde ve yara iyileşmesi sürecinde ciltte adezyon gücünü arttırdığı invivo olarak gösterilmiştir. Saf aljinatın ise perinöral kist tedavisinde granülasyon oluşumunda güçlü inhibisyon etkisiyle verimli bir biyouyumlu yapı olduğu bildirilmiştir.

Çalışmada, peritoneal boşlukta adezyon modeli oluşturularak biyuyumlu Sodyum Aljinat ve Ultra Saf Aljinat uygulaması sonuçları hem histopatolojik olarak değerlendirilmiş hem de enflamasyon takibi için periferik kandan TNF- α düzeyleri incelenmiştir. Çalışmada 33 adet Wistar albino sıçan kullanılmıştır. Peritoneal adezyonlar literatüre uygun oluşturulmuş ve oluşan adezyon Evans Modeli kullanılarak derecelendirilmiştir. Sırasıyla; %1, 2 ve 4'ük sodyum aljinat ve ultra saf aljinat uygulanan altı grup incelenmiştir. Hayvanlar yara oluşumunu takiben 15 gün takip edilmiştir.

Ameliyat öncesi ve sonrası gruplar TNF- α açısından incelendiğinde istatistiksel olarak %1 ve %4'lük ultra saf aljinat gruplarında kontrole göre anlamlı fark belirlenmiştir (sırasıyla $p=0,037$ ve $p=0,002$). Sonuçta peritoneal yapışıklığın önlenmesi ve olası komplikasyonların azaltılması için %1 ve/veya %4'lük

ultra saf aljinat uygulanmasının en verimli yöntem olabileceği değerlendirilmiştir.

Investigation of sodium alginate and pure alginate activity in terms of inflammation for prevention of postoperative peritoneal adhesion

Beyza Göncü¹, Samet Yığman², Harun Başoğlu³, Emrah Yücesan⁴, Nur Özten Kandaş⁵, Fahri Akbaş⁶, Erhan Aysan²

¹Bezmialem Vakif University, Center for Experimental Research, Istanbul

²Bezmialem Vakif University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Istanbul

³Bezmialem Vakıf University, Faculty of Medicine, Department of Biophysics, Istanbul

⁴Bezmialem Vakıf University, Institute of Life Sciences and Biotechnology, Istanbul

⁵Bezmialem Vakif University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Toxicology, Istanbul

⁶Bezmialem Vakif University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul

Peritoneal adhesions (PA) is a post-surgical formation that occurs in the peritoneal cavity and it is a part of healing process. PA formation encountered in more than 90% of the patients who undergo abdominal surgery. Pelvic pains, intestinal obstruction and infertility may develop as well and commonly requires surgery, recurrence is seen 33% of the patients. Peritoneum is a continuous membrane which lines peritoneal cavity with mesothelial cells. Mesothelial cells arranged into loose bundles and can be break down by simple trauma. With that pro-inflammatory cytokines like $\text{TNF}\alpha$ leads to damage of the peritoneal membrane.

Various *in vivo* studies have been investigated to prevent PA's with using glyserol, methylene blue, bio-compatible polymers. Alginat based polymers have been used for the treatment of osteoarthritis, peripheral nerve repair and wound healing, *in vivo*. ure Alginat associated with strong inhibition of perineural granulation.

In this study, we demonstrated PA model according to the literature in vivo and used sodium and ultra pure Alginat. Evaluated the results with TNF α secretion and histopathologically. 33 female Wistar albino rats were used. We have adopted Evans Model for the grading adhesion scores. Rats were divided into 6 groups; normal saline, 1%, 2% sodium alginat, 1%, 2%, 4% ultra pure alginat. Animals followed for 15 days after adhesion formation.

Preop, postop groups were compared in terms of TNF α between ultra pure alginate and controls statistical significance is determined (p=0.037, p=0.002 respectively).

As a result we observed that prevention of PA and decrease complications %1 and/or %4 ultra pure Alginat could be efficient treatment approach.

PS - 116

**INSR-genî ekson 20 bölgesindeki bazı değişimleri:
diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar için olası
bir risk faktörü**

Cenk Kığ¹, Ahmet Özkan¹, Nilsu Kalaycı¹, Buğrahan Şimşek¹, Varol Güler¹, Şeref Kamil Basmacıoğlu², Ayşegül Topal Sarıkaya¹

¹*İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul, Türkiye*

²*İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Gaziosmanpaşa Hastanesi, Dahiliye (iç hastalıkları) Bölümü, İstanbul, Türkiye*

Hücrelerdeki en yaygın katyonlardan olan magnezyum, çeşitli metabolik süreçlerde çok önemli roller üstlenmektedir. Örneğin, DNA replikasyonu, RNA sentezi, glikoliz, membran transportu ve kas kasılması gibi süreçlerde rol oynayan çeşitli enzimlerin aktivasyonu için magnezyum-bağı ATP'ye gereksinim vardır. Tıbbi bakımdan ele alındığında, hücre içi magnezyum dengesindeki bozuklukların diyabet ve kardiyovasküler sorunlar gibi çeşitli hastalıklarla korelasyon gösterdiği saptanmıştır.

Magnezyumun, insülin reseptör tirozin kinaz (INSR) otofosforilasyonu ve insüline yanıt olarak glukoz taşıyıcılarının aktivasyonu için gerekli olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada, INSR'nin otofosforillenme domenini kapsayan ekson 20 bölgesindeki baz değişimleri T2P diyabet hastalarındaki Mg eksikliği arasında bir korelasyon olup olmadığı araştırıldı (27 diyabet hastası, 19 sağlıklı kontrol). INSR geninin ekson 20 bölgesinde iki veya daha fazla sayıda (≥ 2) baz değişimi taşıyan bireylerin diyabet hastalığına daha yatkın olabileceği belirlendi (risk yaklaşık 1,6 kat daha yüksek). Diyabet hastalığıyla, serumdaki düşük Mg düzeyi arasında kuvvetli bir korelasyon olduğu belirlendi ($r_{pb} = +0,6$; $P < 0,0001$). Benzer şekilde, diyabet hastalarının serumlarındaki nitrik oksit düzeylerinin de sağlıklı gruba göre daha düşük olduğu gözlemlendi ($r_{pb} = +0,3$; $P < 0,005$). Örnek sayısının artırılması ve saptanan baz değişimlerinin doğrulanması yönündeki çalışmalarımız devam etmektedir.

INSR geninin ekson 20 bölgesindeki baz değişimlerinin serumdaki Mg ve NO değerleriyle birlikte değerlendirilmesi, hekimlerin diyabet ve kardiyovasküler hastalıklara yatkınlığı olan bireyleri önceden tahmin edebilmesinde yardımcı olabilir. Böylece, genç yaşlarda alınabilecek koruyucu önlemler ileri yaşlarda oluşabilecek ağır komplikasyonların önüne geçilebilir.

Base changes in INSR-gene exon 20 region: a possible risk factor for diabetes and cardiovascular diseases

Cenk Kığ¹, Ahmet Özkan¹, Nilsu Kalaycı¹, Buğrahan Şimşek¹, Varol Güler¹, Şeref Kamil Basmacıoğlu², Ayşegül Topal Sarıkaya¹

¹*Istanbul Yeni Yuzyil University, Medical School, Department of Medical Biology and Genetics, Istanbul, Turkey*

²*Istanbul Yeni Yüzyıl University, Gaziosmanpaşa Hospital, Department of internal diseases, Istanbul, Turkey*

Magnesium, one of the most abundant cations in cells, plays a key role in several metabolic processes. For instance, magnesium-bound ATP is required for activation of a number of enzymes which mediate DNA replication, RNA synthesis, glycolysis, membrane transport, and muscle contraction. From a medical point of view, disturbances of magnesium homeostasis is linked to several disorders including diabetes and cardiovascular diseases.

Mg is required for autophosphorylation of the insulin receptor tyrosine kinase (INSR) and activation of glucose transporters in response to insulin. We have investigated the correlation between polymorphisms of INSR autophosphorylation site (exon 20) and Mg- deficiency in Type 2 diabetes (27 diabetes patients, 19 healthy control). Our preliminary findings demonstrate that base changes in exon 20 region of INSR gene indicates a risk for diabetes. Individuals who carry base changes (≥ 2) in exon 20 of INSR gene seem to be more susceptible to diabetes (app. 1,6 fold higher risk). Moreover, magnesium and nitric oxide levels in serum were found to be lower in diabetic patients when compared to that of the healthy control (Mg, $r_{pb} = +0,6$; $P < 0,0001$; NO, $r_{pb} = +0,3$; $P < 0,005$). Currently, we are trying to increase our sample size and confirm the base changes.

Evaluation of base changes in INSR gene in combination with Mg and NO levels in serum may help physicians to determine patients who are susceptible to diabetes and cardiovascular diseases. Thus, preventative measures can be taken before further complications may develop at older ages.

PS - 118

BİP-IRE1 bağlanmasının coarse grained moleküler dinamik simülasyon ve serbest enerji hesaplamaları ile araştırılması

Zekeriya Düzgün, Zuhale Eroğlu

Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

IRE1, endoplazmik retikulum stresi koşulları dışında luminal domainde BİP şaperon proteini ile bağlı bulunan bir transmembran proteinidir. Stres koşullarında BİP, IRE1 luminal domaininden ayrılarak proteinlerin katlanmasına yardımcı olmakta ve ER stres sensörü olan IRE1 aktif hale gelmektedir. BİP-IRE1 bağlantısı bilinmesine karşın etkileşimin mekanizmaları ortaya konamamıştır. Çalışmamızda BİP-IRE1 bağlanmasının moleküler mekanizmasının moleküler dinamik(MD) simülasyon ve serbest enerji hesaplamaları ile belirlenmesi hedeflenmiştir.

İnsan BIP ve IRE1 luminal domaininin kristalografik yapıları protein databanktan temin edilmiştir. Kayıp rezidülerin modellenmesi için ITASSER(Iterative Threading ASSEmbly Refinement) serveri kullanılmıştır. Protein yapıların 100 nano saniye(ns) süreyle tam atomik düzeyde MD simülasyonları uygulanarak MOLPROBITY server ile yapısal validasyonları gerçekleştirilmiştir. Kübik eksene göre BIP ve IRE1 6 farklı oryantasyonda hizalanarak 2'şer μs 'lık toplam 12 μs "Coarse grained" moleküler dinamik simülasyon gerçekleştirilmiştir. BIP-IRE1 bağlanmasının serbest enerji hesaplamaları MM/PBSA metodu ile hesaplanmıştır.

MD simülasyon ve serbest enerji hesaplamaları sonunda oryantasyonların bağlanma serbest enerjileri sırayla 404.742, -586.892, 1089.903, -877.007, 932.557 ve -1168.115 kJ/mol olarak belirlenmiştir. 4. ve 6. oryantasyonda BİP substrat bağlanma alfa domaininin(SBD- α) konformasyonel değişiklikle IRE1'e bağlandığı ve en yüksek afiniteye sahip 6. oryantasyonda IRE1 luminal domainin 1,2 ve 4. bölgeleri ile BİP NBD-IIB domaini ve SBD- α domainin bağlandığı gözlenmiştir. BİP-IRE1 bağlanması üzerine yapılan deneysel mutagenез çalışmalarında mayada IRE1'in membrana uzanan peptit zincirini içeren 5. bölgesinin BİP bağlanmasında rol aldığı gösterilirken insan BİP-IRE1 bağlanmasında IRE1'in 5. bölgesinin bağlanmada rol almadığı aksine özellikle II-IV aralığındaki rezidülerin bağlanmaya katıldığı gösterilmiştir. Bu sonuç çalışmamızla örtüşmektedir.

ER Stresi hedefli terapötik yaklaşımlar günümüzde önem kazanmıştır. Yaptığımız bu çalışmanın BİP ve IRE1 hedefli ilaç tasarımı araştırmalarına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Investigation of BIP-IRE1 binding by coarse grained molecular dynamic simulation and free energy calculations

Zekeriya Düzgün, Zuhale Eroğlu

*Ege University, Medical Faculty, Department of Medical Biology,
Izmir*

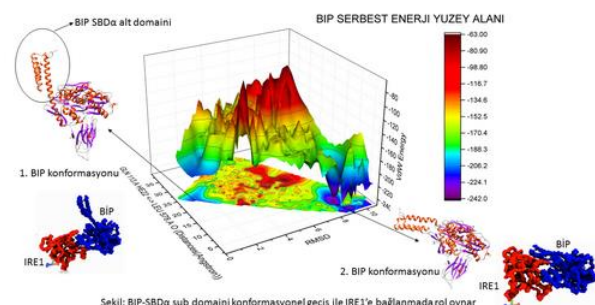
IRE1 is a transmembrane protein that is bound with chaperone protein BIP in the luminal domain except for endoplasmic reticulum stress. Under stress conditions, BIP dissociates from IRE1 luminal domain in order to help proteins to fold. Although BIP-IRE1 binding is known, the mechanisms of their interaction have not been revealed. In our study, Molecular dynamics (MD) simulations and free energy calculations were used to uncover the molecular mechanism of BIP-IRE1 binding. Crystallographic structures of the human BIP and IRE1 luminal domains were obtained from the rcsb.org. ITASSER server was used to model missing residues. Structural validations of the proteins were performed with the MOLPROBITY server after 100 nanoseconds(ns) of full atomic MD simulations. By placing BIP and IRE1 on 6 different orientations on the cubic axis, each with 2 μ s, total of 12 μ s coarse grained molecular dynamic simulation was performed.

At the end of MD simulations free energy calculations carried out and the free energies of the orientations were measured as 404.742,-586.892,1089.903,-877.007,932.557 and -1168.115 kJ/mol, respectively. The highest binding affinity was achieved in the 6th orientation that Regions 1,2 and 4 of IRE1 were found to bind to the NBD-IIIB and the SBD- α domain of the BIP. Experimental mutagenesis studies on human BIP-IRE1 complex was revealed that the residues in the II-IV region were involved to binding to the BIP. These results are consistent with our work.

ER stress-targeted therapeutic approaches have gained importance nowadays. We believe that this study will contribute to the research of BIP-IRE1 targeted drug design.

BIP-SBD α sub domaini konformasyonel ge $\ddot{c}$ iş ile IRE1'e bağlanmada rol oynar

The BIP-SBD α subdomain plays a role to bind IRE1 after conformational transition



PS - 120

Amniyosentez ile prenatal tanı konulan 7821 olguda kromozom analizi sonuçları

Ayfer Pazarbaşı¹, Osman Demirhan¹, Ümit Lüleypay¹,
Lütfiye Özpak¹, Seda Nermin Ilgaz¹, İnayet Nur Uslu¹,
Gamze Cömertpay¹, Gülsevinç Ay¹, Sabriye Kocatürk Sel¹,
Nilgün Tanrıverdi¹, Selim Büyükkurt²

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

²*Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Adana*

Amaç: Kromozomal anomalilerin prenatal tanısı invazif prenatal testler için en yaygın endikasyondur. Amniyosentez, toplumda genetik hastalıkların sıklığının azaltılması ve genetik hasarlı çocukların doğumunun engellenmesi bakımından oldukça önemli tanısal bir işlemdir.

Gereç-Yöntem: Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Sitogenetik laboratuvarımızda Ocak 2000-Mayıs 2017 tarihleri arasında kadın hastalıkları polikliniği tarafından gönderilen ve standart yöntemlerle karyotip analizi yapılmış 7821 olgunun verileri analiz edildi.

Bulgular: Toplam 7821 amniyosentez olgusunun verileri analiz edildi. Kromozom düzensizliği anne yaşı 35 ve üzeri grupta en yüksek bulunurken, üçlü tarama testi riski ile gelen grup bunu izledi. 520 fetusta çeşitli kromozomal anomaliler (%6.64) saptandı. Anormal karyotiplerin %56.92'si (296 olgu) sayısal ve %40.96'sı (213 olgu) yapısal olarak bulundu. 11 olguda hem sayısal hem de yapısal anomaliler gözlemlendi (%2.11). Sayısal anomalilerin %45.94'ü trizomi 21, %18.24'ü trizomi 18, %10.47'si monozomi X, %7.09'u trizomi 13, %5.40'ı triploidi, %3.71'i Klinefelter sendromu, %1.35'i trizomi X, %1.01'i XYY sendromu vb. şeklinde bulundu. En sık bulunan yapısal anomaliler ise; 46,XX/XY, inv(9)(p11;q12)/(p11;q13) (%35.21), 46,XX/XY, 1qh+(%)9.38), 46,XX/XY, 16qh+(%)4.69), 46,XY, Yqh(-) (%4.22), 46,XY, Yqh(+) (%4.22) ve 46,XX/XY, 9qh(+) (%3.75) olarak bulundu. Bunların yanında dengeli, dengesiz translokasyonlar, delesyonlar ve duplikasyonlarda gözlemlendi.

Sonuç: Literatür ve sonuçlarımıza göre ileri maternal yaş, fetal kromozomal anomalilerin temel sebebidir. Fetal kromozomal anomali oranı %6.64 olarak bulunmuştur. Bu oran prenatal tanının önemini ve gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Results of karyotype analysis of 7821 pregnancies prenatally identified with amniocentesis in Turkey

Ayfer Pazarbaşı¹, Osman Demirhan¹, Ümit Lüleypay¹,
Lütfiye Özpak¹, Seda Nermin Ilgaz¹, İnayet Nur Uslu¹,
Gamze Cömertpay¹, Gülsevinç Ay¹, Sabriye Kocatürk Sel¹,
Nilgün Tanrıverdi¹, Selim Büyükkurt²

¹*Çukurova University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Adana*

²Çukurova University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Adana

Objective: Prenatal diagnosis of fetal chromosomal abnormalities is the most common indication for invasive prenatal testing. Amniocentesis is a very crucial diagnostic procedure for preventing the birth of genetically defective fetuses in order to decrease the prevalence of genetic diseases in populations.

Materials-Methods: A retrospective review of our amniocentesis database for the period from January 2000 to May 2017 was carried out. The karyotyping of 7821 fetuses was carried out in Department of Medical Biology from the samples of amniotic fluids which were sent from Department of Gynecology and Obstetrics of Balcali Hospital. A standard nomenclature has been developed to describe each of types of abnormality found in human chromosomes.

Results: A total of 7821 amniocentesis specimens were processed during the study period. 520 fetuses (6.64%) had various chromosomal abnormalities. 56.92% of abnormal karyotypes (296 cases) were numerical and 40.96% (213 cases) were structural. Both numerical and structural chromosomal aberrations were observed in 11 cases (2.11%). The numerical abnormalities were as: trisomy 21 (45.94%), trisomy 18 (18.24%), monosomy X (10.47%), trisomy 13 (7.09%), Triploidy (5.40%), Klinefelter Syndrome (3.71%), Trisomy X (1.35%), XYY Syndrome (1.01%), and the others. The frequent structural abnormalities were as: 46,XX/XY,inv(9)(p11;q12)/(p11;q13) (35.21%), 46,XX/XY,1qh(+)(9.38%), 46,XX/XY,16qh(+)(4.69%), 46,XY,Yqh(-) (4.22%), 46,XY,Yqh(+) (4.22%) and 46,XX/XY,9qh(+)(3.75%). Balanced and unbalanced translocations, deletions and duplications were also found.

Conclusion: According to the literature and our results, advanced maternal age is the main cause of fetal chromosomal abnormalities. Fetal chromosomal abnormality ratio that we found was 6.64%. This ratio emphasize the importance of prenatal diagnosis.

PS - 123

Gestasyonel diyabetin moleküler patofizyolojisinin karşılaştırmalı 2D-DIGE tabanlı proteomiks yaklaşımıyla araştırılması

Gürler Akpınar¹, Murat Kasap¹, Zeynep Cantürk², Aylin Kanlı¹, Yiğit Çakır³, Mehin Zulfıgarova¹

¹Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD. Kocaeli

²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD.
Endokrinoloji ve Metabolizma Bölümü Kocaeli

³Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Kocaeli

Amaç: Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM), ilk olarak gebelikte tanı konulan ve çeşitli derecelerde hiperglisemiyle seyreden bir karbonhidrat tolerans bozukluğudur. GDM hem kısa hem de uzun vadede anne ve bebek üzerinde olumsuz etkilere sahiptir. GDM etiyolojisi aydınlatılamamış olmasına rağmen, artan kanıtlar anne ile fetus arasında bağlantı sağlayan bir organ olan plasentanın GDM gelişiminde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir. Tip 2 DM ve obezitede iskelet kaslarında bir takım proteomik değişiklikler olduğu son zamanlarda yapılan çalışmalarda bildirilmektedir. GDM kaslardaki proteomik değerlendirmeye yönelik çalışma bulunmamaktadır. Plasenta yalnızca gebeliğe özgü eşsiz bir doku olup, gebelikteki majör rolüne rağmen gebelikle ilişkili hastalıklar sırasında plasentadaki proteom değişiklikleri hakkında bilinenler çok azdır. Literatürde GDM da plasenta, yağ dokusu ve kas dokusu proteom analizi ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. GDM'nin etiyolojisi ve patofizyolojisini aydınlatabilmek için GDM'den etkilenen bu üç farklı doku kaynağından proteom analizi yapılmıştır.

Gereç-Yöntem: Bu amaçla alınan örneklerden iki boyutlu jel elektroforezi (2D-DIGE) yapılarak, jeller örnekler arası karşılaştırmalara tabi tutulmuş, ifadesinde farklılık gözlenen protein spotları kesilerek MALDI TOF/TOF analizi ve MASCOT araması ile tanımlanmıştır.

Bulgular: Yapılan karşılaştırmalı spot analizleri sonucunda rektus kası grubundan 12, plasenta grubundan 18 ve omental yağ grubundan ise toplam 15 spotun kesilerek bu spotlara ait proteinler tanımlanmıştır. Tanımlanan proteinlerin STRING analizleri yapılarak birbirleri ile olan ilişkileri ortaya konulmuştur.

Sonuç: Tanımlanan proteinler arasında özellikle GDM ile ilişkili proteinlere rastlanmıştır. Özellikle CAH1 proteinin ifade artışı üç deney grubunda da gözlenmiş ve bu proteinle ilgili hücresel yolların GDM gelişiminde etkili olabileceği üzerinde durulmuştur (Şekil 1). Bu çalışma 114S412 numaralı TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir.

Investigation of molecular pathophysiology of gestational diabetes using comparative 2D-DIGE based proteomics approach

Gürler Akpınar¹, Murat Kasap¹, Zeynep Cantürk², Aylin Kanlı¹, Yiğit Çakır³, Mehin Zulfigarova¹

¹Kocaeli University Medical School Dept. of Medical Biology
Kocaeli

²Kocaeli University Medical School Dept. of Internal Medicine, Endocrinology and Metabolism Kocaeli

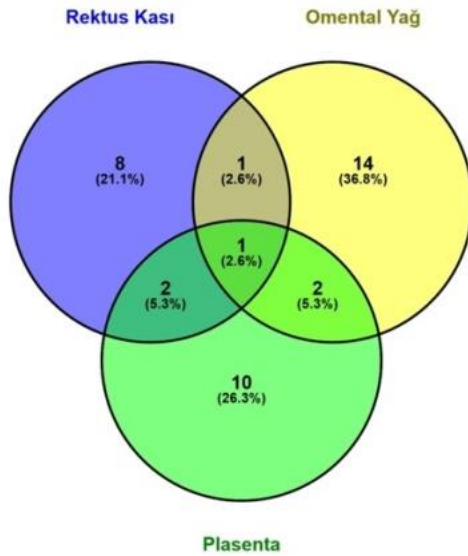
³Kocaeli University Medical School Dept. of Obstructive and Gynecology Kocaeli

Objective: Gestational diabetes mellitus (GDM) is a carbohydrate tolerance disorder causing hyperglycemia. Although the etiology of GDM has not been understood in detail, it is believed that placenta holds the secrets. This hypothesis is in fact supported by the observation that metabolic diseases like hyperglycemia, hyperinsulinemia and dyslipidemia cause structural and functional anomalies occurring in the villus of placenta. Recent studies revealed the changes in proteome of skeletal muscles of type II DM and obese patients. Although placenta is unique pregnancy related tissue and has a major role in pregnancy little is known about the changes of its proteome. In addition, there is no study in the literature about the changes occurring in proteomes of adipose and muscle tissues. Proteome analysis from three different but GDM-associated tissue sources was performed to shed light on etiology and pathophysiology of GDM.

Materials-Methods: For this purpose, 2D-DIGE gel electrophoresis was performed for inter-gel comparisons. A total of 45 differentially regulated proteins were identified by MALDI-TOF/TOF analysis and MASCOT search. Of these proteins 12 were regulated in the rectus muscle, 18 were regulated in the placenta and 15 were regulated in the omental tissue. A bioinformatics network analysis using STRING was performed to elucidate associated networks that were affected by the changes occurred in protein levels.

Conclusion: Among the proteins identified there were GDM associated ones. The regulated expression of CAH1 was detected in all three experimental groups and thus the effect of CAH1 in GDM development was underlined (Figure 1).

Venn şeması / Venn Diagram



Üç grupta tanımlanan regüle olmuş proteinlerin ortak Venn şemasında gösterilmesi. CAH1 proteinin üç grupta da ortak olduğu görüldü.

Venn diagram created to depict the number of common proteins that are differentially regulated in the groups.

PS - 124

Nadir bir hastalık: 10p trizomisi

Seda Eren Keskin, Buket Doğruoğlu, Zeynep İlkay

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD

Trizomi 10p nadir görülen bir kromozomal anomalidir. İlk defa Schleiermacher ve arkadaşları tarafından tanımlanmış olup bildirilen 60 kadar vaka bulunmaktadır. Genellikle 10. Kromozomun kısa kolunun katıldığı translokasyonlar açısından taşıyıcı bireylerin çocuklarında gözlenir. Hastalığın tipik klinik bulguları; mental retardasyon, gelişim geriliği, damak-dudak yarığı, hipotoni, mikrosefali, displastik kulaklar, renal ve kardiyak sistem anomalileridir. Fenotipin şiddeti trizomik bölgenin boyutuna ve katılan diğer kromozoma bağlı olarak değişir. Prognoz genellikle kötüdür ve hastaların %75'i yenidoğan döneminde kaybedilir. Bu bildiride, 10. Kromozomun kısa kolu ile 19. Kromozomun uzun kolu arasında meydana gelen translokasyonun sonucunda oluşan trizomi 10p vakasını sunduk. Dört yaşında erkek çocuğunda, doğum sonrası fizik muayenesinde yarıkdamak dudak, hipotoni ve dismorfik yüz bulguları gözlenmiş. Yapılan sistemik incelemelerde orta hat defekti ve sekundum atriyal septal defekt saptanmış.

Batin ve renal USG normal görünümde tespit edilmiş. Psikomotor gelişim basamakları ayına göre geriden gelmektedir. Mental retardasyon ve gelişim geriliği sebebiyle yapılan kromozom analizleri sonucunda; olguda babanın translokasyon taşıyıcılığına bağlı olarak trizomi 10p ve parsiyel monozomi 19q tespit edilmiştir. Olgumuzun dismorfik yüz görünümü ve klinik bulgularının, 10p trizomisi için bildirilen fenotipik özelliklere uyumlu olduğu gözlenmiştir.

A rare disease: Trisomy 10p

Seda Eren Keskin, Buket Doğruoğlu, Zeynep İlkay

Kocaeli University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics,

Chromosome 10p trisomy is a rare chromosomal anomaly. Since the first description by Schleiermarcher et al, trisomy 10p has been observed in more than 60 patients. Generally, trisomy 10p is observed in children of balanced translocation carrier individuals in which short arm of chromosome 10. Common typical features consist of mental retardation, growth retardation, cleft lip/palate, hypotonia, microcephalia, displastic ears and cardiac/renal abnormalities. The 'phenotypic' expression of this aberrant condition depends on the size of the trisomic segment and/or the involvement of another chromosome. In this report, we present a child with trisomy 10p due to a translocation of the short arm of chromosome 10 to the long arm of chromosome 19. Prognosis is poor and 75% of patients die in the neonatal period.

A 4 year old boy, neonatal physical examination revealed cleft lip and palate, hypotonia and dysmorphic facial findings. Midline defect and secundum atrial septal defect were detected in systemic examination. Abdominal and renal USG were found normal. Chromosome analysis were performed due to mental retardation and developmental delay. Analysis results showed us trisomy 10p and partial monosomy 19q which is originated from t(10;19) in father's karyotype. Dysmorphic facial features and clinical findings of our case were consistent with reported phenotypic features of trisomy 10p.

PS - 125

Nadir hastalıkların genom düzenleme araçları kullanılarak zebra balığında modellenmesi

Ecem Kural Mangit, Gülsüm Kayman Kürekçi, Cansu Koyunlar, Fulya Yaylacioğlu Tuncay, Gizem Önal, Şeyda Ünsal, Burcu Şirin

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Genel Bilgi: H.Ü Zebra Balığı Araştırma Laboratuvarı, nadir hastalıklara neden olan mutasyonların fenotip üzerindeki etkilerinin araştırılması amacıyla 2015 yılında kurulmuştur. Nadir hastalıkların moleküler mekanizmalarının anlaşılması ve yetim ilaçlarının keşfi için zebra balığının model organizma olarak kullanımı nadir hastalıklar için önemli bir fırsat sağlamaktadır. Laboratuvarımızda zebra balığı genomunda mutasyon oluşturmak üzere TALEN ve CRISPR/Cas9 genom düzenleme araçları kullanılmakta ve mutasyonların fenotipe etkileri araştırılmaktadır.

Gereç-Yöntem: Aday gen önceliklendirme çalışmaları kapsamında Üniversitemiz araştırmacıları tarafından ekzm dizileme çalışmaları sonucunda belirlenen nadir hastalık aday genleri KO edilmektedir. Ayrıca, nadir hastalıklarda sık görülen mutasyon tiplerinin zebra balığı genomunda oluşturulabilmesi amacıyla; geniş delesyon için ilgili bölgeyi kapsayan iki gRNA'nın aynı anda enjeksiyonu, nokta mutasyonu için gRNA ile birlikte tek zincirli oligonükleotit enjeksiyonu, geniş insersiyon için donör olarak plasmid enjeksiyonu gibi farklı protokollerin optimizasyonu yapılmaktadır. İlaveten, LGMD2R'de mutasyon oluşturulduktan sonra fenotipin açıklanmasına yönelik RNA ve protein düzeyinde analizler yapılmaktadır.

Bulgular: Gen önceliklendirme çalışmalarında nadir hastalıklar ile ilişkilendirilen genler CRISPR/Cas9 ile KO edilmiştir. Bu genlerin hastalıktan sorumlu mutant gen olma nitelikleri araştırılmaktadır. Nadir hastalıklarda sık gözlenen farklı mutasyonların zebra balığı genomunda oluşturulmasına yönelik çalışmalarımız devam etmektedir. Ayrıca, LGMD2R'nin patogenezi için zebra balığında mutasyon oluşturulmuş ve hastalık fenotipini anlamaya yönelik çalışmalar büyük ölçüde tamamlanmıştır. Mutant zebra balığı soylarının devamlılığını sağlamak ve mutant zebra balığı kütüphanesi oluşturulmak üzere spermlerin dondurulması önümüzdeki süreçteki diğer hedeflerimizdir.

Sonuç: Nadir hastalıklarda sık görülen mutasyonların genom düzenleme araçları kullanılarak zebra balığında oluşturulması ile nadir hastalıkların bireye özgü modellenmesi ve bunu takiben patogenezin ortaya konması ve yetim ilaç adaylarının yüksek ölçekli taramaları mümkün olacaktır.

Rare disease modelling by genome editing tools in zebrafish

Ecem Kural Mangıt, Gülsüm Kayman Kürekçi, Cansu Koyunlar, Fulya Yaylıcıoğlu Tuncay, Gizem Önal, Şeyda Ünsal, Burcu Şirin

Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Medical Biology

Objective: H.U Zebrafish Research Laboratory was established in 2015 to study effects of mutations causing rare disorders on the disease phenotype. Using zebrafish as model organism creates great opportunity for rare diseases to understand the molecular mechanism and for discovery of orphan drugs.

In our laboratory we use TALEN and CRISPR/Cas9 tools to create mutations in zebrafish genome and investigate the affects of mutations on phenotype.

Materials and Methods: For prioritization of candidate genes we knock-out the candidate rare disorder genes which are identified by researchers from our university using exome sequencing. We also optimize protocols to identify the frequent mutations cause rare disorders. Examples are; co-injection of two gRNAs for large deletion of the region of interest, co-injection of gRNA and ssODN for point mutations, using plasmid as donor for large insertions. Furthermore, after the generation of LGMD2R mutation we perform analysis in RNA and protein level to clarify the phenotype.

Results: Genes related to rare disorders was knocked-out using CRISPR/Cas9 in gene prioritization studies. Legibility of these mutant genes as disease-causing are in research. Generation of frequent mutations in rare disorders are ongoing. Besides to explain pathogenesis of LGMD2R, the mutation was created and most of the study on understanding disease phenotype were completed. Our goal is to maintain mutant zebrafish lines and sperm-freezing to create a library.

Conclusion: Along with modeling of rare disorders in zebrafish using genome editing tools, patient-specific modeling and revealing the pathogenesis and high-throughput screening of candidate orphan drugs will be possible.

It was funded by the Scientific and Technological Research Council of Turkey, Project number 214S174 and Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon birimi (TAY-2017-12735) to P. Dincer.

PS - 126

Azospermi ve oligospermi saptanan infertil erkek popülasyonunda Y mikrolelesyonu analizi sonuçlarının değerlendirilmesi

Tülay Tos

Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları E.A.H. Etlik/Ankara

Amaç: İnfertil erkeklerde Y mikrodelsiyon analiz sonuçlarının değerlendirilmesi.

Olgu: Tüm erkeklerin %1’inde, infertilite sorunu yaşayan erkeklerin ise %10-15’inde azospermi görülmektedir. infertilite tanılı erkeklerde yapılan araştırmalarda Y kromozomu üzerinde submikroskopik delesyonlar saptanmış ve bu delesyonlar ile azospermi arasında ilişki saptanması nedeniyle bu delesyon bölgeleri Azospermi Faktörü (AZF) olarak tanımlanmıştır. Y mikrolelesyonu-AZF testi azospermi veya oligospermi etyolojisinin araştırılmasında, prognoz tahmin edilmesinde ve yardımcı üreme tekniklerinin belirlenmesinde son derece önemlidir. Y kromozomundaki parsiyel ve komplet delesyonlar sperm kalitesi bozukluğundan azospermiye kadar değişen fenotiplerde karşımıza çıkabilir. Azospermili veya şiddetli oligospermili hastalarda Y mikrolelesyonları anlamlı şekilde daha fazla görülürken, 1-5 milyon sperm sayısına sahip hastalarda delesyonlar nadirdir. Etik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi’ne infertilite nedeniyle başvuran, yaşları 25 ile 42 arasında değişen, 55 azospermi, 42 oligospermi saptanmış erkek hastada multiplex PCR yöntemi ile yapılan Y mikrolelesyonu analizi sonucu azospermi tanılı bir hastada delesyon saptanmıştır. Delesyon sıklığının beklenenden düşük olması hasta seçiminden kaynaklanmış olabilir. Erkeklerde infertilite ve azosperminin en sık görülen nedenleri varikosel, enfeksiyon, endokrin ve immünojik bozukluklar gibi genetik dışı nedenlerdir.

Sonuç: Y mikrolelesyonu testi için hasta seçimi yapılırken genetik dışı nedenlerin öncelikle araştırılması gereksiz genetik test çalışılmasının önüne geçecektir.

Evaluation of infertile males with azoospermia and oligospermia detected microdeletions in the Y populations of the analysis results

Tülay Tos

Etlik Zübeyde Hanım Woman Healty Hospital Etlik/Ankara

Objective: Evaluation Results of analysis Y microdeletions in infertile men.

Case: 1% of all men and of men who suffer from infertility is seen in 10-15% of azoospermia. Infertility diagnosed submicroscopic deletions on the Y chromosome identified in studies conducted in male and regions Azoospermia due to the correlation between this deletion with the deletions of azoospermia factor (AZF), respectively. Y-AZF microdeletion azoospermia or oligospermia test for investigation of etiology, are extremely important in determining and predicting the outcome of assisted reproductive techniques. partial and complete deletions in the Y chromosome may appear in the semen quality phenotypes ranging up to azoospermia disorder. Azoospermia or severe oligospermia Y microdeletions in patients seen more significantly, the number of deletions in patients with 1-5 million sperm are rare. Broiler Zübeyde admitted Ms. Obstetrics and Gynecology Hospital infertility, aged between 25 and 42, 55 azoospermia and 42 oligospermia found a male patient multiplex PCR method, made with Y microdeletion analysis result of azoospermia diagnosis revealed a deletion in one patient. Be lower than expected, the frequency of the deletion may be due to patient selection. The most common causes of infertility and azoospermia in men with varicocele, infectious, endocrine and immunological disorders such as non-genetic causes.

Conclusion: Y microdeletion selection of patients for genetic testing while the investigation is primarily the result of working out will help prevent unnecessary genetic testing.

PS - 127

Hipotonik bir olguda 1p36 delesyon sendromu

Zuhal Altıntaş¹, Esra Sarıgeçili², Burcu Sağlam Ada³

¹Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı,
Mersin Türkiye

²Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Nöroloji Bilim Dalı, Mersin, Türkiye

³Düzen Laboratuvarlar Grubu, Genetik Tanı Merkezi, Ankara, Türkiye

1p36 mikrolezyon sendromu (MIM# 607872) en sık görülen subtelomerik mikrolezyon sendromlarından biridir.

Ağır mental ve büyüme geriliği, mikrobrakisefali, geç kapanan büyük fontaneller, düşük yerleşimli kulaklar, düz kaşlar, derin yerleşimli gözler, geniş ve düz burun köprüsü, uzun filtrum, sivri çene yapısını içeren tipik yüz bulguları sendromun karakteristik bulgularıdır. Diğer konjenital anomaliler (konjenital kalp hastalığı, göz, böbrek ve iskelet anomalileri) ve nörolojik bulgularla (yapısal beyin anomalileri, hipotoni, epilepsi) birlikte seyredebilmektedir.

Bu sunum, 1p36 delesyon sendromunun teşhisinde klinik bulguların ve FISH tekniğinin önemini vurgulamak için sunulmuştur.

Olgu: Aralarında akrabalık olmayan anne ile babadan miadında 2950 gram olarak doğan 3 yaşında kız hastanın vücut ağırlığı 13 kg (25-50 p), boy 90 cm (25p), baş çevresi 45,5 cm (<3p) idi. Hastada gelişme geriliği, nöbet ve hipotoni şikayeti vardı. Hastanın fiziki bakısında mikrosefali, belirgin alın, derin yerleşimli gözler, düz kaşlar, uzun filtrum, geniş burun köprüsü, hafif düşük kulaklar, mikrognati, sivri çene küçük ayak, hipoplazik labialar, gelişme geriliği, mental gerilik ve hipotoni saptandı. İtirme testi, kardiyolojik muayene ve abdominal ultrasonografi normaldi. Göz muayenesinde nistagmus vardı. Kromozom analizi 46, XX idi. Subtelomerik FISH analizinde 1. kromozomun kısa kolunda terminal sinyal alınamadı ve bu bulgu 1p36 mikrodilesyonun klinik teşhisini teyit etti. Array comparative genomik hibridizasyon (aCGH) analizinde arr[hg19]1p36.33p36.32 (849,466-4132,018)x1 tespit edildi.

Hasta rehabilitasyon ve özel eğitim programlarına yönlendirildi. Uzun süreli klinik izlem planlandı. Aileye genetik danışma verildi.

1p36 deletion syndrome in a hypotonic case

Zuhal Altıntaş¹, Esra Sarıgeçili², Burcu Sağlam Ada³

¹Department of Medical Genetics, Mersin University School of Medicine, Mersin, Turkey

²Department of Pediatric Neurology, Mersin University School of Medicine, Mersin, Turkey

³Duzen Laboratories Group, Genetic Diagnosis Center, Ankara, Turkey

1p36 microdeletion syndrome (MIM#607872) is one of the most common subtelomeric microdeletion syndrome.

Characteristic features of the typical facial findings syndrome is including severe mental and growth retardation, microbrachycephaly, late closing large fontanel, low set ears, straight eyebrows, deeply set eyes, wide and depressed nasal bridge, long philtrum, pointed chin. Other congenital anomalies and neurological findings may be present together. This presentation is presented to emphasize the importance in clinical findings and FISH technique in diagnosis of 1p36 deletion syndrome.

Case: The 3 year-old female patient who was born subsequent to a term gestation from unrelated parents with a birth weight of 2950 gr and now weight 13 kg (25-50 p), height 90 cm (25 p), and head circumference 45,5 cm (below 3rd centile). The patient has complained of developmental delay, seizure and hypotonia. In the physical aspect of the patient were detected microcephaly, prominent forehead, deep set eyes, straight eyebrows, a long philtrum, a broad nasal bridge, slightly low-set ears, micrognathia, a pointed chin, short feet, hypoplasia labia, developmental delay, mental retardation and hypotonia. Auditory, cardiac examinations and abdominal ultrasound were normal. Ophthalmologic examinations were nistagmus. Chromosome analysis was 46,XX.

In the subtelomeric FISH analysis, there was no signal in short-term terminal of chromosome 1, confirming the clinical diagnosis of 1p36 microdeletions. arr[hg19]1p36.33p36.32 (849,466-4132,018)x1 were detected in array comparative genomic hybridization (aCGH) analysis.

The patient was directed to rehabilitation and special education programs. Long-term clinical follow-up was planned. Genetic counselling was provided to the family.

PS - 128

İdiyopatik erkek infertilitesi ve zenobiyotik metabolizmasında rol alan genlerin polimorfizmleri arasındaki ilişki

Gülgez Neslihan Taşkurt Hekim¹, Mohammed Ali Gore¹,
Aslı Metin Mahmutoglu¹, Sezgin Güneş¹, Ramazan Aşçı²

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

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

Amaç: Zenobiyotik metabolizmasında rol alan genlerin polimorfizmlerinin erkek infertilitesine bireysel yatkınlıkta rol alabilecekleri düşünülmektedir. Bu çalışmanın amacı zenobiyotik mekanizmasında rol oynayan sitokrom p450 1A2 (*CYP1A2*), sitokrom p450 2D6 (*CYP2D6*), glutatyon S-transferaz M1 (*GSTM1*), glutatyon S-transferaz T1 (*GSTT1*) ve glutatyon S-transferaz P1 (*GSTP1*) genleri polimorfizmleriyle idiyopatik erkek infertilitesi arasındaki olası ilişkinin araştırılmasıdır.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya 323 azospermik veya oligozospermik idiyopatik infertil erkek ve 117 fertil/normozospermik kontrol dahil edildi. Çalışmaya katılan tüm bireylerden periferik kan örneği toplandı ve genomik DNA tuzla çöktürme yöntemi kullanılarak izole edildi. Genotiplendirme çoklu polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) veya PCR-restriksiyon fragment uzunluk polimorfizm yöntemleri kullanılarak gerçekleştirildi.

Bulgular: İdiyopatik erkek infertilitesiyle *CYP2D6* G/G genotipi arasında anlamlı düzeyde bir ilişki bulundu ($P < 0,001$). *GSTT1* null polimorfizmi istatistiksel olarak anlamlı olmasa da infertil grupta kontrol grubuna kıyasla daha fazla gözlemlendi ($P=0,0051$). *CYP1A2* A/C ($P=0,056$), *GSTM1* null ($P=0,960$) ve *GSTP1* Ile105Val ($P=0,412$) gen polimorfizmleriyle idiyopatik erkek infertilitesi arasında bir bağlantı bulunmadı. *GSTM1* null gen polimorfizmi azospermik erkeklerde daha fazla gözlemlendi ($P=0.021$).

Sonuç: Elde ettiğimiz sonuçlar çalışma popülasyonumuzda *CYP2D6* gen polimorfizminin idiyopatik erkek infertilitesinde rol oynayabileceğini göstermiştir.

The Relationship between idiopathic male infertility and the polymorphisms of genes involved in xenobiotic metabolism

Gülgez Neslihan Taşkurt Hekim¹, Mohammed Ali Gore¹,
Aslı Metin Mahmutoglu¹, Sezgin Güneş¹, Ramazan Aşçı²

¹Ondokuz Mayıs University Medical Faculty, Department of Medical Biology, Samsun, Turkey

²Ondokuz Mayıs University Medical Faculty, Department of Urology, Samsun, Turkey

Objective: Antioxidant gene polymorphisms are thought to be effective in individual susceptibility to male infertility. This study aimed to investigate the relationship between polymorphisms of cytochrome P450 1A2 (*CYP1A2*), cytochrome P450 2D6 (*CYP2D6*), glutathione S-transferase M1 (*GSTM1*), glutathione S-transferase T1 (*GSTT1*) and glutathione S-transferase P1 (*GSTP1*) that play role in xenobiotic mechanism and idiopathic male infertility.

Materials-Methods: A total of 323 azoospermic or oligozoospermic idiopathic infertile men and 117 normozoospermic or fertile controls were included in the study. Peripheral blood samples from all participants were collected and genomic DNA was isolated by salting out method. Genotyping was performed using multiplex polymerase chain reaction (PCR) and PCR-restriction fragment length polymorphism methods.

Results: There was a statistically significant relationship between idiopathic male infertility and *CYP2D6* G/G genotype ($P < 0.001$). *GSTT1* null polymorphism was slightly higher in the infertile group ($P = 0.0051$). There was no association between idiopathic male infertility with *CYP1A2* A/C ($P = 0.056$), *GSTM1* null ($P = 0.960$) and *GSTP1* Ile105Val ($P = 0.412$) polymorphisms. *GSTM1* null polymorphism was higher in azoospermic men ($P = 0.021$).

Conclusion: Our results show that *CYP2D6* polymorphism may play a role in idiopathic male infertility in our sample population.

PS - 129

Türk popülasyonunda yeni nesil dizileme ile yapılan Hla-A,B,C doku tiplendirmesi

Yeliz Öğret¹, Şule Karataş¹, Aytül Uyar², Fatma Savran
Oguz¹, Mehmet Tevfik Dorak³

¹*İstanbul Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim dalı, İstanbul*

²*İstanbul Üniversitesi Biyofizik Anabilim dalı, İstanbul*

³Liverpool Hope Üniversitesi, İngiltere

Amaç: Akkraba olmayan 767 kişinin HLA doku tiplendirilmesi EFi akreditasyonuna sahip İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Alp Şen Doku Tiplendirme ve Genetik Araştırma laboratuvarında yapılmıştır.

Gereç-Yöntem: Örnekler kemik iliği bankasına kayıtlı gönüllü donörlerden alınmıştır. Periferik kandan DNA izolasyonu yapılan örnekler longrange PCR ile çoğaltılıp, yeni nesil dizileme (NGS) teknolojisi IlluminaMiseq Dizileme sistemi ile HLA doku tiplendirmesi (HLA-A,B,C) yapılmıştır. HLA-A,B,C doku tiplemesi için OmixonHolotype HLA™ kit kullanılmış, Omixon HLA Twin™ yazılım ile analizler gerçekleştirilmiştir. Populasyonun genetik analizleri için Arlequin v3.5.1.3 versiyonu kullanılmıştır.

Bulgular: HLA-A,B,C lokusları için saptanan alellerin sayıları sırası ile 55,104 ve 51 dir. Herbir lokus için en sık rastlanan üç alel (ve bunların frekansları) A*02:01:01 (0.201), A*24:02:01 (0.145), A*01:01:01 (0.111); B*51:01:01 (0.114), B*35:01:01 (0.081), B*18:01:01 (0.060); ve C*04:01:01 (0.175), C*12:03:01 (0.114), C*07:01:01 (0.100) olarak tesbit edildi.En sık görülen B-C haplotipleri (ve bunların frekansları) B*35:01:01-C*04:01:01 (f=0.072; D'=0.864), B*49:01:01-C*07:01:01 (f=0.043; D'=0.967), B*38:01:01-C*12:03:01 (f=0.040; D'=0.965) idi. Bu B-C haplotiplerinin beraber bulunduğu en sık HLA-A alelleri ise sırası ile A*11:01:01, A*23:01:01 ve A*26:01:01 ve bununla birlikte en sık görülen üç lokusluhaplotip; A*03:01:01-B*07:02:01-C*07:02:01(f=0.018) idi. Frekansı 0.01 den büyük olan üç lokuslu 11 haplotip olduğu gözlenmiş ve bunların en sık üçü HLA-A*11:01:01-A*24:02:01-A*03:01:01 ile B*35:01:01-C*04:01:01 haplotipleri ile birliktelik gösterdiği saptanmıştır.

Sonuç: Bu durum B-C haplotipleri üzerinde bulunan HLA-A ve C arasındaki rekombinasyonel hot-spot varlığını düşündürmektedir. Yüksek çözünürlüklü HLA Sınıf I doku tiplendirmelerinin ilavesi ile global veri tabanındaki boşluk doldurulabilecektir.

HLA-A, -B, -C typing by next-generation sequencing in a sample of Turkish population

Yeliz Öğret¹, Şule Karataş¹, Aytül Uyar², Fatma Savran
Oguz¹, Mehmet Tevfik Dorak³

¹*Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey*

²*Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Biophysics Istanbul, Turkey*

³Liverpool Hope University, Liverpool, United Kingdom (Great Britain)

Objective: HLA typing was performed on 767 unrelated subjects referred to the EFl-accredited Alp Şen Tissue Typing and Genetic Research Laboratory in Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine using Illumina MiSeq Sequencing System. The subjects were genotyped for the volunteer bone marrow donor registry.

Materials-Methods: HLA-A, -B, -C typing on next-generation sequencing data was achieved using Omixon Holotype HLA(TM) assay and Omixon HLA Twin(TM) software. Population genetics analyses were done on Arlequin v.3.5.1.3. Genotype frequencies at all three classical class I HLA loci were in Hardy-Weinberg equilibrium ($P \geq 0.25$).

Results: The numbers of alleles detected in each locus were 55, 104, 51 for HLA-A, -B, -C loci, respectively. The most common three alleles (and their frequencies) at each locus were A*02:01:01 (0.201), A*24:02:01 (0.145), A*01:01:01 (0.111); B*51:01:01 (0.114), B*35:01:01 (0.081), B*18:01:01 (0.060); and C*04:01:01 (0.175), C*12:03:01 (0.114), C*07:01:01 (0.100). The most common B-C haplotypes (and their frequency / D' as LD measure) were: B*35:01:01 - C*04:01:01 (f = 0.072; D' = 0.864), B*49:01:01 - *07:01:01 (f = 0.043; D' = 0.967), B*38:01:01 - C*12:03:01 (f = 0.040; D' = 0.965). These B-C haplotypes most frequently had the following HLA-A alleles as part of three-locus haplotypes: A*11:01:01, A*23:01:01, and A*26:01:01, respectively. However, the most common three-locus haplotype was none of these, but A*03:01:01 - B*07:02:01 - C*07:02:01 (f=0.018).

Conclusion: The addition of these high-resolution HLA class I types in a sample of Turkish population should fill a gap in global databases.

PS - 131

45,X/46,XY olan iki infertil erkeğin genetik değerlendirmesi

Ayça Çelikmakas, Güneş Çakmak Genç, Ahmet Dursun

*Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD,
Zonguldak*

Amaç: İnfertilite evli çiftlerin %15'inde gözlenir ve infertilitenin %30-50'si erkek kaynaklıdır. Erkek infertilitesinin nadir bir nedeni 45,X/46,XY mozaikliğidir. Klinikte Turner sendromu, miks gonadal disgenezis, psödohermafroditizm içeren fenotipler görülebilir. Bu, erken embriyonik mitoz sırasında anafaz gecikmesi ile iki veya üç farklı hücre serisine neden olan (45,X/46,XY veya 47,XXY) bir kromozom ayrışma anomalisine dayanır. Burada 45,X/46,XY karyotipine sahip iki erkek hasta sunulmuştur.

Olgu: Erkek infertilitesi, boy kısalığı ve opere inmemiş testis öyküsü ile başvuran 26 yaşındaki (olgu 1) hasta azospermikti. Hormon profili, FSH: 19.6(N), LH: 10.9(N), Total testosteron: 3.54(N) idi. Karyotip analizi sonucunun 45,X[8]/46,XY[30] olduğu belirlendi. SRY tespit edildi, ancak AZF-b/SY134 bölgesi delesyona uğramıştı. Azospermi ve primer infertilite nedeni ile 34 yaşındaki (olgu 2) erkek hasta kliniğimize refere edildi. Fizik muayenesi normal olan hastanın hormon profili FSH: 23.98(H), LH: 4.19(N), Total testosteron: 2.68(N) ve karyotipi 45,X[7]/46,XY[50] idi. SRY saptandı ancak AZF-b ve AZF-c bölgelerinin tamamında delesyon tespit edildi.

Sonuç: 45,X/46,XY mozaik karyotipe sahip hastalar genellikle infertildir. Azospermik olan infertil hastalarda kromozom analizi, hastalarımızda olduğu gibi infertilitenin sınıflandırılmasında ve yönetiminde önemli bir rol oynamaktadır.

Genetic evaluation of two infertile men with 45,X/46,XY

Ayça Çelikmakas, Güneş Çakmak Genç, Ahmet Dursun

*Bulent Ecevit University School of Medicine, Medical Genetics
Department, Zonguldak*

Objective: Infertility is observed 15% of married couples and 30-50% of the infertility is originating from male. A rare cause of male infertility is 45,X/46,XY mosaicism. Phenotypes that include Turner syndrome, mixed gonadal dysgenesis, pseudohermaphroditism can be seen. This relies on a chromosome missegregation on early embryonic mitosis with anaphase lag resulting two or three different cell lines: 45,X/46,XY or 47,XXY. Here, two men with 45,X/46,XY karyotype are reported.

Case: A 26-year-old (case 1) patient admitted with male infertility, short stature and history of undescended testicles to our department. He was azoospermic and hormone profile was as follows FSH: 19.6(N), LH: 10.9(N), Total testosterone: 3.54(N). The karyotype was determined to be 45,X[8]/46,XY[30]. SRY was detected but SY134 of AZF-b region was deleted.

A 34-year-old man (case 2) with normal physical characteristics and primary infertility were admitted to our department. Azoospermia determined in his semen analysis. His hormone profile was FSH: 23.98(H), LH: 4.19(N), Total testosterone: 2.68(N) and karyotype was 45,X[7]/46,XY[50]. SRY was observed but AZF-b and AZF-c regions were deleted.

Conclusion: 45,X/46,XY patients are often infertile. Chromosome analysis in infertile patients with azoospermia plays an important role in classification and management of infertility, similar to our patients.

PS - 132

Trizomi X sendromlu bir olgu

Nermin Akçalı, Muhsin Elmas, Cem Karaosmanoğlu,
Ayşen Yıldırım, Nuran Çoban
*Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim
Dalı, Afyonkarahisar*

Trizomi X sendromu (47, XXX), toplumda en sık görülen dişi kromozom anomalisidir. Hastalardaki ekstra X kromozomu maternal kaynaklıdır. Trizomi X'li hastalar motor becerilerinde (oturma ve yürüyüş gibi) gecikmiş gelişime, beşinci parmak klinodaktili olarak adlandırılan anormal derecede bükülmüş veya hafif kavisli parmak yapısına, düz tabanlılığa (pes planus) ve pectus excavatum'a sahip olabilir. Üç yaşındaki olguda bilateral azalmış ayak arkları, içe basma (pes valgus) ve eklem laksitesinin arttığı rapor edilmiştir. Periferik kan kültüründen yapılan kromozom analizi sonucu 47, XXX, t(21:X) tanısı konuldu. Aynı translokasyon annede de saptandı. Literatürde, Trizomi X olgularında genellikle hipergonadotropik hipogonadizm şeklindeki anomalilere bağlı infertilite problemleri bildirilmiştir. Bu çalışma, kızıyla aynı translokasyona sahip semptomsuz bir anne ve sadece nöromotor gelişme geriliğine sahip bir olgunun sunumudur. Bu çalışmada, trisomi X olgularında sıklıkla beklenen infertilite problemlerine ek olarak, çocukluk çağında motor geriliği araştırmak gereklidir.

A Case with Trisomy X Syndrome

Nermin Akçalı, Muhsin Elmas, Cem Karaosmanoğlu,
Ayşen Yıldırım, Nuran Çoban
*Afyon Kocatepe University Faculty of Medicine, Department of
Medical Genetic, Afyonkarahisar*

Trisomy X syndrome (47, XXX) is the most common female chromosomal anomaly in society. Extra X chromosome in patients is of maternal origin. Patients with Trisomy X may have delayed development in motor skills (such as sitting and walking), abnormally bent or slightly curved finger structure called fifth finger clinodactyly, flat feet (pes planus) and pectus excavatum. Bilateral decreased foot arches, pes valgus, and increased joint laxity has been reported in three-year old case. Chromosome analysis results from peripheral blood culture revealed the diagnosis of 47, XXX, t (21: X). The same translocation was detected in the mother. In the literature, Infertility problems due to anomalies in the form of hypergonadotropic hypogonadism have been reported in Trisomy X cases. This is a case report of an asymptomatic mother with the same translocation as her daughter and a case with only a complaint of neuromotor developmental failure. In this study, in addition to the frequently expected infertility problems in trisomy X cases, it was necessary to look for motor retardation in childhood.

PS - 133

Down sendromlu bir olguda ağır fallot tetralojisi

Ayşen Yıldırım, Muhsin Elmas, Saliha Handan Yıldız, Zafer
Söylemez, Mustafa Solak

*Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim
Dalı, Afyonkarahisar*

Down Sendromu 21. kromozomun 3 kopya olması ile karakterize edilir. Down Sendromlu bireylerin %56'sında doğuştan kalp hastalıkları görülmektedir. Fallot Tetralojisi (FT) Down sendromu ile ilişkili en sık (%7.3) gözlenen konjenital kalp hastalıklarından biridir. Down sendromu ön tanısı konmuş dört yaşındaki erkek olguda, ekokardiyografik değerlendirmeye göre Komplet AVSD, Primum ASD, İnlet VSD, Fallot Tipi DORV, Pulmoner Stenozis gözlenmiştir. Periferik kan kültüründen elde edilen kromozom analizi Down Sendromu (47, XY, +21) teşhisini doğruladı. Down sendromunda en sık görülen konjenital kalp anomali endokardiyal yastık defektidir. FT ise DiGeorge sendromunun majör bir bulgusudur. Beklenen alginın aksine klinikte sık görülen kalp hastalıkları değerlendirilirken geniş yelpazede sendrom taraması yapmak fayda sağlayacaktır.

Severe fallot tetralogy in a case with down syndrome

Ayşen Yıldırım, Muhsin Elmas, Saliha Handan Yıldız, Zafer
Söylemez, Mustafa Solak

Afyon Kocatepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetic, Afyonkarahisar

Down syndrome is characterized by the presence of three copies of chromosome 21. Congenital heart disease is seen in 56% of individuals with Down syndrome. Fallot tetralogy (FT) is one of the most common (7.3%) congenital heart diseases associated with Down syndrome. According to echocardiographic evaluation, Complete AVSD, Primum ASD, Inlet VSD, Fallot Type DORV and Pulmonary Stenosis were observed in a case of a 4-year-old male with pre-diagnosis of Down syndrome. Chromosome analysis from the peripheral blood culture confirmed the diagnosis of Down Syndrome (47, XY, +21). The most common congenital heart anomaly in Down Syndrome is the endocardial cushion defect. FT is a major symptom of DiGeorge syndrome. Contrary to expectations, it will be useful to perform a wide spectrum of syndrome screening when clinically common heart diseases are evaluated. Contrary to expectations, it will be useful to perform a wide spectrum syndrome screening when evaluating the common clinical heart diseases.

PS - 134

Nadir görülen 48,XXYY sendromlu olgu

Diclehan Oral, Selda Şimşek, İlyas Yücel, Hilmi İssi

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik
AD, Diyarbakır

Amaç: Klinefelter sendromu ilk tanımlanan kromozom bozukluğu olup temel olarak hipergonadotropik hipogonadizm ve önkoid vücut yapısı ile karakterizedir. Sıklığı 500-1000 canlı doğumda birdir. Klinefelter sendromunun genel özelliklerini uzun boy, önkoid vücut yapısı, jinekomasti, azalmış testis volumü, yetersiz yüz ve pubik kıllanma, kişilik ve davranış problemleri olarak sıralayabiliriz. 47, XXY karyotipi olguların % 80'inde, 47, XXY dışı sayısal kromozom bozuklukları ise tüm olguların %20'sinde gözlenmektedir. Klasik olarak X anöplidisi arttıkça bulgular daha da ağırlaşır. 48, XYYY sendromu nadir görülen bir seks kromozom bozukluğudur.

Bazı bulguları ile Klinefelter sendromuna (47,XXY) benzetmekle birlikte, nöropsikiyatrik belirtiler ve bir takım fenotipik bulgular farklılık göstermektedir. Bugüne kadar yaklaşık 100 olgu bildirilmiştir.

Olgu: Burada klinik değerlendirme ve sitogenetik analizle 48,XXYY sendromu tanısı konan bir olgu sunulmuştur. Bu olgu sunumunda hipergonadotropik hipogonadizm ve uzun boy nedeniyle kliniğimize başvuran ve konvansiyonel sitogenetik analiz sonucunda karyotipi 48, XXYY olarak saptanan Klinefelter sendromlu bir hastanın klinik ve laboratuvar bulguları tarif edilmektedir.

A patient with rare 48,XXYY syndrome

Diclehan Oral, Selda Şimşek, İlyas Yücel, Hilmi İssi

Medical Biology and Genetic Department, Medical Faculty, Dicle University, Diyarbakır

Objective: Klinefelter syndrome, the first described chromosomal abnormality, is characterized with hypergonadotrophic hypogonadism and eunuchoid body habitus. Its prevalence is one in 500-1000 live births. The general abnormalities of Klinefelter syndrome are tall stature, eunuchoid body habitus, gynecomastia, decreased testis volume, sparse facial and pubic hair, personality and behavioural problems. 47, XXY karyotype is detected in 80% of the patients, 20% of the patients have another numerical chromosomal abnormality among all patients. 48,XXYY syndrome is a rare sex chromosome abnormality. Although some physical features are similar to Klinefelter syndrome (47,XXY), 48,XXYY is typically associated with different neuropsychiatric symptoms and phenotypic findings. Approximately 100 cases with 48,XXYY have been reported to date.

Case: In this case report we present clinical and laboratory findings of a Klinefelter syndrome patient, who came to our clinic because of hypergonadotropic hypogonadism and tall stature, and was found to have 48, XXY karyotype on conventional cytogenetic analyse.

PS - 135

Ring kromozom 13 olgu sunumu

Selda Şimşek¹, Diclehan Oral¹, İlyas Yücel¹, Selahaddin Tekeş¹, Edip Unal², Hilmi İsi¹

²Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Diyarbakır

Amaç: Bir kromozomun herhangi bir parçasının kaybına delesyon denir. Bazı delesyonlar ring kromozomuna sebep olur. Ring kromozom 13, canlı doğumlarda 1 / 58.000 görülme sıklığı ile nispeten seyrek görülür. Bu çalışmada 46,XX,r(13) tespit edilen 11 aylık bebeğin değerlendirmesini yapmayı amaçladık.

Olgu: 11 aylık kız bebek kısa boy, gelişme geriliği ve Turner Sendromu ön tanısı ile Dicle Üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi biyoloji Laboratuvarına karyotip analizi için yönlendirildi. Hastanın detaylı klinik araştırması Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Departmanında yapıldı. Sitogenetik analizi standart periferik kan kültürü yöntemi ile yapıldı ve GTG bant tekniği kullanılarak boyandı. Olgunun kromozom kuruluşu 46, XX, r (13) olarak tespit edildi.

Sonuç: Olgu nadir görülmesi nedeni ile ilginç bulunarak klinik bulguları ve sitogenetik sonuçları açısından literatür ışığında tartışıldı.

Ring chromosome 13 case report

Selda Şimşek¹, Diclehan Oral¹, İlyas Yücel¹, Selahaddin Tekeş¹, Edip Unal², Hilmi İsi¹

¹Dicle University, Medical Faculty, Department of Medical Biology, Diyarbakır

²Dicle University, Medical Faculty, Department of Pediatrics,
Diyarbakır

Objective: Deletions of chromosome regions are generally the result of double-stranded chromosome breaks with loss of produced acentric fragments during the next cell division. Such deletions can lead to ring chromosomes. Ring chromosome 13 is relatively uncommon, with an estimated incidence of 1 / 58,000 in live births. The aim of this study is to evaluate a 11 month old female baby with 46, XX, r(13).

Case: A 11 month old female baby with short stature, growth reterdation and pre-diagnosed with Turner Syndrome was referred to Dicle University, Medical Faculty, Department of Medical Biology for karyotype analysis. On detailed clinical examination of the case was performed in the department of pediatriy. Cytogenetic analysis was performed by standart peripheral blood culture and GTG method by using phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte. The chromosomal constitution of the case was found to be 46, XX, r(13)

Conclusion: The case was interesting with the reason of its rare occurrence. Clinical findings and cytogenetic results were discussed in the light of the literature.

PS - 136

Sıçanlarda oluşturulan kas yaralanmasında vitamin E, N-asetil sistein ve terapötik ultrason uygulamasının biyokimyasal ve histopatolojik etkilerinin araştırılması

Ayşe Merve Tat¹, Halil Özko², Yasin Tülüce²

¹*Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Van*

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Van

Amaç: Terapötik ultrason (TU) uygulaması kas yaralanmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada, deneysel olarak oluşturulan kas yaralanmasında TU uygulaması ile farklı antioksidan maddelerin tedavi etkinliği karşılaştırıldı.

Gereç-Yöntem: Herbiri altı adet Wistar türü albino erkek sıçandan oluşan 6 grup oluşturuldu. Bu gruplar kontrol (K), yalnız kesi (YK), TU, vitamin E (Vit E), N-asetil sistein (N) ve miks (M) olarak isimlendirildi. Hayvanlarda gastroknemius kasının kesilmesi yoluyla kas yaralanması oluşturuldu (K hariç). Yaralanma oluşturulduktan 24 saat sonra gruplarda 2 günde bir toplam 3 uygulamaya gerçekleştirildi. M grubundaki sıçanlara diğer gruplardan farklı olarak terapötik ultrason, vitamin E ve N-asetil sistein beraberce uygulandı.

Bulgular: YK grubu AST, ALT ve CK aktivitesi K grubuna göre anlamlı olarak artarken, LDH hafif arttı. Neredeyse bütün tedavi gruplarında bu enzimlerin aktiviteleri K grubundakine yaklaşıırken, ALT sadece VİT E grubunda anlamlı olarak azaldı. Gruplardaki total antioksidan seviyenin (TAS) birbirine çok yakın olduğu görülürken, total oksidan seviye (TOS) ve oksidatif stres indeksinin (OSI) YK grubunda arttığı, M grubunda ise azaldığı hem kan hem de kas dokusunda görülmüştür.

Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi YK grubunda artmış, tedavi gruplarında ise azalmıştır. Serum enflamasyon belirteçlerinin (İL-6 ve TNF- α) değişimi ile histopatolojik bulgular incelendiğinde ise gruplar arasında önemli bir fark olmadığı görülmüştür.

Sonuç: Bu çalışma, ultrasound tedavisinin dışında vitamin E ve N-asetil sistein tedavilerinin de kas yaralanmasının tedavisinde faydalı olabildiğini ortaya çıkarmıştır.

Investigation of biochemical and histopathological effects of vitamin E, N-acetyl cysteine and therapeutical ultrasound application on muscular injury formed in rats

Ayşe Merve Tat¹, Halil Özkol², Yasin Tülüce²

¹Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Physiology, Van

²Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department Medical Biology, Van

Objective: Therapeutic ultrasound (TU) is frequently used in muscular injuries. In this study, the efficiency of TU and various antioxidant substances were compared in experimentally formed muscular injury. **Materials-Methods:** Six groups each including 6 Wistar albino male rats were constituted. These groups were named as control (C), only injury (OI), TU, vitamin E (Vit E), N-acetyl cysteine (N) and mix (M). The muscle injury was formed in rats through laceration of gastrocnemius muscle (except C). After 24 hours of injury, treatments were applied every other day in groups (totally three times). Unlike other groups, combined treatment of therapeutic ultrasound, vitamin E and n-acetyl cysteine were applied to rats of M group.

Results: AST, ALT and CK activities of YK group increased significantly and LDH increased slightly compared to C group. While almost in all treatment groups the activities of these enzymes are closer to C group, ALT decreased markedly only in VIT E group. Total antioxidant status (TAS) of the groups were found to be very close to each other whereas total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI) increased in YK group and decreased in M group both in blood and muscle tissues. Myeloperoxidase activity increased in YK group and decreased in treatment groups. When alterations of serum inflammation markers (IL-6 and TNF- α) and histopathological findings are evaluated, no significant difference was seen between groups.

Conclusion: This study revealed that apart from therapeutic ultrasound treatment, supplementation of vitamin E and N-acetyl cysteine may also be useful in the treatment of muscular injury.

PS - 138

Trizomi 18'li bir olguda neonatal kolestaz

Evrin Suna Arıkan Terzi¹, Muhsin Elmas², Nuray Varol²,
Mustafa Solak², Kamuran Avcı²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik
Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

Edwards sendromu olarak da bilinen Trizomi 18, vücudun birçok yerinde görülen anomalilerle ilişkili bir kromozomal durumdur. Trizomi 18'li bebekler genellikle intrauterin büyüme geriliğine ve düşük bir doğum ağırlığına sahiptir. Etkilenen kişiler kalp kusurlarına ve doğumdan önce gelişen diğer organların anormalliklerine sahip olabilirler. Neonatal kolestaz, konjüge bilirübinin total bilirübinin %15-20'sinden fazla olduğu (total bil.>5 mg) ya da 1 mg/dl'yi geçtiği (total bil <5 mg/dl) durumdur. Olgumuz, 33. haftada 4-8 APGAR ile 1240 gr dünyaya gelmiştir. Trombositopeni, direkt hiperbilirubinemi ve rocker bottom feet majör bulgularıdır. Yapılan USG incelemesinde neonatal kolestaz saptanmıştır. Yapılan sitogenetik analizinde klasik Edward Sendromu (47, XX +18) olarak rapor edilmiştir. Neonatal dönemde görülen ikter vakaları indirek hiperbilirubinemi şeklinde olmakta olup kolestaza bağlı sarılık çok nadir gözlenmektedir. Bizim olgumuzda Trizomi 18'in majör bulguları olmakla birlikte Neonatal Kolestaz dikkat çekmekteydi. Literatürde Edward Sendromu ve neonatal kolestaz birlikteliği nadir olduğu için olgumuz sunulmuştur.

Neonatal cholestasis in a case of trizomy 18

Evrin Suna Arıkan Terzi¹, Muhsin Elmas², Nuray Varol²,
Mustafa Solak², Kamuran Avcı²

¹Afyon Kocatepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Afyonkarahisar

²*Afyon Kocatepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Afyonkarahisar*

Trisomy 18, also called Edwards syndrome, is a chromosomal condition associated with abnormalities in many parts of the body. Babies with trisomy 18 often have intrauterine growth retardation and a low birth weight. Affected individuals may have heart defects and abnormalities of other organs that develop before birth. Neonatal cholestasis is a condition in which conjugated bilirubin is greater than 15-20% of total bilirubin (total bilirubin >5 mg) or passes 1 mg/dl (total bilirubin <5 mg/dl). The case was born at 33. week with 4-8 APGAR as 12540 g. Thrombocytopenia, direct hyperbilirubinemia and rocker bottom feet were major findings. Neonatal cholestasis was detected in the USG investigation. In the cytogenetic analysis performed, classic Edward syndrome (47, XX + 18) was reported. Intermittent cases seen in the neonatal period are indirect hyperbilirubinemia and cholestasis-related jaundice is very rare. In our case, major findings of Trisomy 18 were present and also neonatal cholestasis was noteworthy. Our case was presented as Edward syndrome and neonatal cholestasis association is rarely reported in literature.

PS - 139

Down sendromlu bir olguda hemihipertrofi

Zafer Söylemez¹, Nermin Akçalı¹, Kamuran Avcı¹, Nuray Varol¹, Müjgan Özdemir Erdoğan²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik
Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

Down sendromu, zeka geriliği ve karakteristik fasyesleri içeren belirli fenotipik özelliklerle tanımlıdır ve canlı doğan çocuklarda görülen en yaygın kromozom anormalliklerinden biri olan trizomi 21'in neden olduğu bir durumdur. Hemihifertrofi, vücudunun bir tarafının diğerininkile karşılaştırıldığında aşırı büyümesi ile karakterize genetik bir hastalıktır. Olgumuz Ekim 2010 doğumlu olup, hipoksik doğum öyküsü, burun kökü basıklığı, kısa boyun, bilateral epikantus, sağ elde simian çizgisi, solunum sıkıntısı ve akut fazlarında yükseklik mevcuttur. Beş yaşında yürümüştür. Yapılan sitogenetik analizinde klasik Down Sendromu (47, XX +21) olarak rapor edilmiştir. Yapılan fizik muayenesinde olgunun vücudunda asimetri mevcut olup sağ tarafında büyüme dikkat çekmektedir. Literatürde Down Sendromu ve Hemihipertrofi birlikteliği nadir olduğu için olgumuz sunulmuştur.

A case of down syndrome with hemihypertrophy

Zafer Söylemez¹, Nermin Akçalı¹, Kamuran Avcı¹, Nuray Varol¹, Müjgan Özdemir Erdoğan²

¹Afyon Kocatepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Afyonkarahisar

Down syndrome, a particular combination of phenotypic features that includes mental retardation and characteristic facies, is caused by trisomy 21, one of the most common chromosomal abnormalities in liveborn children. Hemihypertrophy is a genetic disorder characterized by overgrowth of one side of his or her body in comparison with the other. Our case was born in October 2010 and has hypoxic birth story, nasal pouch, short neck, bilateral epicanthus, right hand simian line, respiratory distress and height acute phases. She walked at five years old. In the cytogenetic analysis performed, classic Down syndrome (47, XX + 21) was reported. Asymmetry was observed in the body and growth on the right side is noteworthy in the physical examination. Our case was presented as Down syndrome and hemihypertrophy association are rarely reported in the literature.

PS - 140

Ağır osteoporoz şikayeti olan bir turner sendromu olgusu

Saliha Handan Yıldız¹, Müjgan Özdemir Erdoğan²,
Tevhide Fıstık¹, Evrim Suna Arıkan Terzi², Cem
Karaosmanoğlu¹

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

Turner sendromlu ve yapısal boy kısalığı olan olgularda ergenlik gecikmesine bağlı cinsiyet steroidlerindeki yetersizlik kemik mineralizasyonunu olumsuz etkileyerek osteoporoza neden olmaktadır. Ağır osteoporoz şikayeti ile başvuran 20 yaşındaki kız olguda, osteo-dansitometrik analiz sonuçları aşırı düşük BMD (0.867 g/cm^2) ve kendi yaş grubuna göre (Z-skor: -3.2) kemik kaybını göstermiştir. Pelvik tomografide uterus ve overleri izlenmedi. Periferik kan kültüründen yapılan kromozom analizi sonucu 45, X[81] / 46,X,iso(Xq)[19] olarak saptandı ve Turner sendromu tanısı konuldu. Turner sendromlu yetişkin kadınların %95'inden fazlası kısa boy ve infertilite gösterir; fakat bu hasta tarafımıza ağır osteoporoz şikayeti ile başvurmuştur. Klinik bulgular hastalarda genellikle farklı şekillerde meydana gelmektedir. Bu durumda, majör olmayan klinik bir bulgu, klinikte ilk başvuru nedeni olabilmektedir.

A case of turner syndrome with a severe osteoporosis complaint

Saliha Handan Yıldız¹, Müjgan Özdemir Erdoğan²,
Tevhide Fıstık¹, Evrim Suna Arıkan Terzi², Cem
Karaosmanoğlu¹

¹Afyon Kocatepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Afyonkarahisar

In cases with Turner syndrome and structural shortening, inadequacy of sex steroids due to puberty delay causes osteoporosis by adversely affecting bone mineralization. In a 20-year-old girl with a severe osteoporosis complaint, the results of osteodensitometric analysis showed that the excessively low BMD (0.867 g/cm²) and bone loss according to their age group (Z-score: -3.2). Uterus and ovaries were not observed on pelvic tomography. Chromosome analysis results from peripheral blood cultures revealed 45, X[81] / 46,X,iso(Xq)[19] and Turner syndrome was diagnosed. More than 95% of adult women with Turner syndrome exhibit short stature and infertility, but this patient presented with complaints of severe osteoporosis. Clinical findings in patients usually occur in different ways. In this case, a non-major clinical symptom may be the first reason for clinic application.

PS - 141

Turner sendomu tanısıyla başvuran hastalarda gözlenen sitogenetik bulgular

Ayşegül Türkyılmaz¹, Diclehan Oral², Selda Şimşek², Selahaddin Tekeş², Mahmut Balkan², Halit Akbaş³, Hilmi İsi²

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi,
Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Muğla

²Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

³*Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı*

Amaç: Dünya genelinde 7 bini aşkın nadir hastalık türü bulunuyor. Genetik araştırmalar bunların en az %80'inin genetik geçişli olduğunu ve nadir hastalıkların toplam sayısının sürekli arttığına işaret ediyor. Turner sendromu da bu grup içerisinde. Halen teşhiste gecikmelerin yaşandığı günümüzde pek çok vaka mağdur olmaktadır. Bizim amacımız bu konuya dikkat çekmektir.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada 1995-2015 yılları arasında değişik sağlık kuruluşları ve özel hekimler tarafından Anabilim dalı laboratuvarımıza refere edilen klinik olarak Turner sendromu ön tanısı konulmuş 1103 vakadan sitogenetik çalışma yapılmıştır. Bunun için kromozom analizi, pedigrisi analizi yöntemleri kullanılmıştır. Kromozom analizi için periferik kan kültürü yöntemi ve floresan insitu hibridizasyon yöntemleri kullanılmıştır.

Bulgular: Anabilim dalı laboratuvarımıza refere edilen 1103 vakadan 167 vakada Turner sendromu monozomi X ve türevleri teşhisi konulmuştur.

Sonuç: Yapısal düzensizliğin durumuna göre fenotipte büyük varyasyon gösterir. Klasik Turner sendromunda östrojen salgısı gittikçe düşer. Turner sendromlu kadınlar özellikle östrojen tedavisi uygulanmıyorsa ciddi şekilde boy kısalığı gelişme geriliği ve osteoporoz riski taşımaktadırlar.

Turner sendromu hastası çocukların tanısının geç olduğunu ve dolayısıyla tedavi açısından başarı şansının azaldığını göstermektedir. Ancak son çalışmalarda tanı ve tedavi yaşının daha erkene kaydığı görülmektedir. Bu nedenle büyümenin izlenmesi alta yatan herhangi bir hastalığın erken yakalanması için son derece önemlidir. İyi bir boya ulaşma, gelişme geriliğinin bertaraf edilmesi, osteoporoz ve risklerin ortadan kaldırılması ancak erken tedavile, erken tedavi ise ancak erken tanı ile mümkündür.

The Turner syndrome cytogenetic findings observed in patients presenting with diagnosis

Ayşegül Türkyılmaz¹, Diclehan Oral², Selda Şimşek², Selahaddin Tekeş², Mahmut Balkan², Halit Akbaş³, Hilmi İsi²

¹Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Health Sciences,
Department of Nutrition and Dietetics, Muğla

²Dicle University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology

³*Harran University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology*

Objective: There are over 7 kinds of rare diseases worldwide. Genetic research indicates that at least 80% of them are genetically transitional and that the total number of rare diseases is constantly increasing. Turner syndrome is also in this group. Many cases are still victims in the present days when delinquency is experienced. Our aim is to draw attention to this issue.

Materials-Methods: In this study, cytogenetic studies were carried out from 1103 cases where Turner syndrome was preliminary diagnosed between 1995-2015 by different health institutions and private physicians. For this, chromosome analysis and pedigree analysis methods are used. Peripheral blood culture method and fluorescence in situ hybridization methods were used for chromosome analysis.

Results: The department referred to our laboratory from 1103 cases in 167 cases of Turner syndrome monosomy X and derivatives were diagnosed.

Conclusion: It exhibits large variation in the phenotype according to the state of structural irregularity. In classical Turner syndrome, the estrogen secretion decreases gradually. Women with Turner's syndrome, especially if estrogen therapy is not administered, are seriously associated with the development of short stature and the risk of osteoporosis.

Turner's syndrome shows that the diagnosis of children is delayed and therefore the chances of success in terms of treatment are reduced. For this reason, monitoring of the growth is extremely important for early detection of any underlying disease. Achieving a good dye, eliminating developmental stress, osteoporosis and risks are removed, but with early treatment, early treatment is only possible with early diagnosis.

PS - 142

Mozaik çoklu trizomik olgu sunumu

İlyas Yücel, Mahir Binici, Diclehan Oral, Selda Şimşek,
Selahattin Tekeş, Hilmi İsi

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD. Diyarbakır, Türkiye

Amaç: Trizomik hastalıklar içerisinde yaşamla bağdaşan ve klinik bulguları tam olarak belirlenmiş tüm bir trizomi olgusu ile seyreden tanımlanmış üç kromozom hastalığı mevcuttur (trizomi 21, trizomi 18, trizomi 13). Bunların dışında kalan sayısal kromozom trizomileri genellikle düşük ile sonlanmaktadır. Otozomal trizomik olgulara genellikle gelişim geriliği, mental retardasyon ve multipl konjenital anomaliler eşlik etmektedir. Bu gelişim bozuklukları genellikle trizomisi bulunan kromozom üzerindeki genlerin dozaj etkisi ile doğrudan ilgilidir.

Olgu: Bölümümüze çocuk sağlığı kliniğinden gelişim geriliği, kalp defekti ve tipik bulgular ışığında Down sendromu ön tanısı ile refere edilen hastanın ilk klinik bulguları değerlendirilmiştir. 6 aylık hastanın pedigrisi ve diğer bilgileri alındıktan sonra, hastaya in vitro lenfosit kültürü yöntemi ile sitogenetik inceleme yapılmıştır.

Sonuç: Yapılan sitogenetik incelemeler sonucunda hastanın mozaik çoklu trizomik sendromlu (47,XY,+21[%87], 48,XY,+3,+21[%4], 48,XY,+8,+21[%9]) olduğu tespit edilmiştir. Mozaik çoklu trizomik sendrom öyküsüne sahip bir hastadaki defektlerin klasik Down olgularından daha ağır bir şekilde seyredeceği ve ileriki hayatında hastanın takip gerektireceği konusunda aileye gereken genetik danışma verilerek hastanın düzenli takibi için çocuk sağlığı kliniği ile irtibata geçilmiştir.

A case report of multiple mosaic trisomy

İlyas Yücel, Mahir Binici, Diclehan Oral, Selda Şimşek,
Selahattin Tekeş, Hilmi İşi

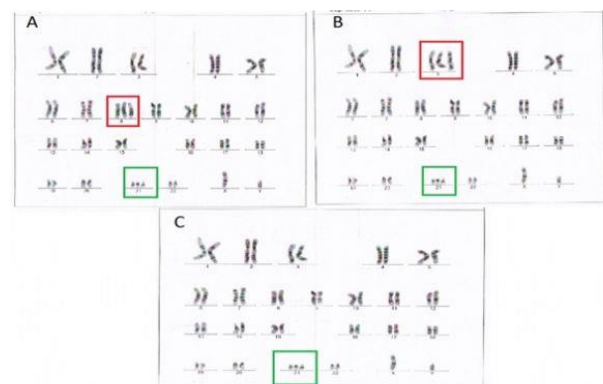
*Dicle University Medical Faculty Medical Biology
Diyarbakır/Turkey*

Objective: There are three chromosomal disorders (trisomy 21, trisomy 18, trisomy 13) in the trisomic diseases, all of which are associated with life and have a full clinical manifestation. Besides these other numerical anomalies are usually ending with abortion. Autosomal trisomic events are usually accompanied by developmental retardation, mental retardation and multiple congenital anomalies. These developmental disorders are usually directly related to the dosage effect of the genes on the chromosome with trisomy.

Case: The patient who has growth retardation, heart defects and typical symptom was referred with a diagnosis of Down syndrome by the department of child health clinic to our department. The initial clinical evidences of the patient were evaluated. After taking information and pedigree of six months old patient it was examined in vitro lymphocyte culture with cytogenetic method.

Conclusion: As a result of cytogenetic views patients have been determined multiple mosaic trisomy syndrome (47,XY,+21[%87], 48,XY,+3,+21[%4], 48,XY,+8,+21[%9]). Defects in a patient with a history of multiple mosaic trisomy syndrome are more severe than a classic Down patient. The symptoms of syndrome and genetics consultation were explained to parents. It was contacted with the child health clinic because of the necessary arrangements for regular monitoring of the patient.

Karyotip
Karyotype



hastaya ait karyotip
Patient's karyotype

PS - 143

İnsan primer meniskal fibrokondrosit kültüründe COL1A1 ve COMP1 mRNA ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi

Merve Alaylıoğlu¹, Bedri Karaismailoğlu², Büşra Şengül¹,
Ebru Keskin¹, Esin Candaş¹, Duygu Gezen Ak¹, Erdinç
Dursun¹, Selma Yılmaz¹, Nuri Aydın²

¹*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Ünitesi, İstanbul*

²*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Menisküsler,diz ekleminin çalışmasında kritik rol üstlenen yapılardan biridir.Eklem boşluğundaki yükün %50-90'ını ileten menisküsler medial ve lateral olmak üzere iki parça halinde bulunmaktadır.Menisküs yaralanmalarının yüksek insidansı ve menisküslerin sınırlı iyileşme potansiyeli,menisküs yaralanmalarını günümüzün önemli sağlık problemlerinden biri yapmaktadır.Biyolojik yollardan elde edilmiş dokuların tasarımı;menisküs tamiri,fonksiyonların geri kazanılması ve osteoartrit başlangıcının durdurulması için ümit verici bir yol olarak görülmektedir.Menisküslerin yapısal devamlılığından sorumlu hücreler olan fibrokondrositlerin hücre fizyolojisi ve doku mühendisliğinde kullanılan hücre kültürü mikroçevresine verdikleri yanıt halen bilgi eksikliği bulunan ve özellikle insan meniskal hücrelerinde araştırılması gereken bir konudur.Yapılan çok az sayıda meniskal fibrokondrosit kültürü çalışması fibrokondrositlerin tek tabakalı kültür ortamında kondrositik karakter özelliklerinin azalarak fibroblastik karakter özelliği göstermeye başladığını bildirmiştir.Biz de bu çalışmada insan meniskal fibrokondrositlerinin fibroblastik ve kondrositik özelliklerinin kültür ortamında nasıl etkilendiğini ve pasajlamaların gen ekspresyon profili üzerinde nasıl bir etkisinin olduğunu araştırmak üzere fibroblastik ve kondrositik karakter belirteçleri olan COL1A1 ve COMP1 genlerinin mRNA ekspresyon seviyelerini incelemeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem: Çalışmada parsiyel menisektomi uygulanan ve total diz artroplastisi yapılan bireylerden alınan menisküsler kullanılarak primer meniskal fibrokondrosit kültürü gerçekleştirildi. COL1A1 ve COMP1 mRNA ekspresyon seviyeleri qRT-PCR yöntemiyle incelendi. Elde edilen ham veriler, hastaların 50 yaş altı ve 50 ve üzeri şeklinde gruplandırılmasından sonra yaş grupları, pasaj sayıları ve örneğin alındığı menisküs bölgesi bakımından karşılaştırıldı.

Bulgular: Sonuçlarımız, insan meniskal fibrokondrositlerinin tek tabakalı kültür ortamında gen ekspresyon profilinin yaş, pasaj sayısı ve menisküs bölgesine bağlı olarak farklılaştığını göstermektedir.

Sonuç: Bu çalışma gelecekte menisküslere yönelik yapılacak doku mühendisliği çalışmalarına ve kişiye yönelik tedavilerin geliştirilmesine ışık tutacaktır.

Bu çalışma İÜ BAP Projeler Birimi Proje No: 47186 tarafından desteklenmiştir.

Detection of mRNA expression levels of COL1A1 and COMP1 in human primary meniscal fibrochondrocyte culture

Merve Alaylıoğlu¹, Bedri Karaismailoğlu², Büşra Şengül¹,
Ebru Keskin¹, Esin Candaş¹, Duygu Gezen Ak¹, Erdinç
Dursun¹, Selma Yilmazer¹, Nuri Aydın²

¹Brain and Neurodegenerative Disorders Research Unit, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul

²Department of Orthopedics and Traumatology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul

Objective: Menisci are one of the structures that have a critical role in the movement of knee joint. Menisci which bears 50-90% of the load in joint space have two pieces named medial and lateral. High incidence of meniscus injuries and limited recovery potential of menisci make meniscus injuries an important present-day health problem. Biologically obtained tissue designment is counted as a promising way to repair meniscus, restore meniscus function and prevent osteoarthritis onset. The cell physiology of fibrochondrocytes which are responsible for structural maintenance of menisci and their response to microenvironment of cell cultures used in tissue-engineering are subjects that still have lack of information and are needed to be investigated. Very few studies on meniscal fibrochondrocyte culture reported that fibrochondrocytes began losing their chondrocytic characteristics and showing fibroblastic characteristics in monolayer cell culture. In the study, we aimed to investigate mRNA expression levels of COL1A1 and COMP1, markers for fibroblastic and chondrocytic characteristics, in order to investigate the effects of cell culture environment on fibroblastic and chondrocytic characteristics and the effects of subculturing on gene expression profile of human meniscal fibrochondrocytes.

Materials-Methods: Primary meniscal fibrochondrocyte culture prepared from menisci obtained from patients undergone partial meniscectomy or total knee arthroplasty.mRNA expression levels were detected by qRT-PCR.Patients were grouped according to their ages (age<50 and age>=50).Raw data were compared in point of age groups,subculture numbers and side of meniscus.

Results: Our results indicates that gene expression profile of human meniscal fibrochondrocytes differentiate in monolayer cell culture environment depending on age,subculture number and side of meniscus.

Conclusion: This study will shed light on studies for meniscus tissue engineering and developments for personalised treatments.

Present work was supported by IUBAP, Project Number:47186.

PS - 144

Preeklampsik gebelerde trombosit fonksiyonları ile adipositokinler ve antianjiyogenik faktörler arasındaki ilişkinin araştırılması

Gülser Ayaz¹, Turgut Ulutin¹, Çiğdem Gürel¹, Zeynep Güngör², Hakan Ekmekçi², Abdullah Tüten³, Sait Toprak², Oktay Çalışkan², Hüseyin Sönmez², Rıza Madazlı³, Orkide Donma², Mine Kucur², Özlem Ekmekçi²

¹*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, İstanbul*

²*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul*

³*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Preeklampsi klinik olarak artmış kan basıncı, ödem ve proteinüri ile karakterize ve fetal morbidite ve mortaliteye sebep olabilen gebeliğe özgü bir sendromdur. Preeklampsik gebelik sendromunun nedenleri çok faktörlüdür ve etyolojisi tam olarak anlaşılamamıştır. Biz çalışmamızda, preeklampsik gebelerde adipositokinler ve antianjiojenik faktörler ile trombosit fonksiyonları arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Bu vaka-kontrol çalışması 52 preeklampşik gebe ve komplikasyonsuz gebeliğe sahip 27 sağlıklı gebe olmak üzere toplam 79 bireyde gerçekleştirildi. Preeklampşik ve sağlıklı gebelerin serum ve plazma örneklerinden ghrelin, leptin, adiponektin, TGF β 1, vWF, sFlt-1, VEGF, endoglin, PlGF, HIF-1 ve P-selektin düzeyleri ELISA ile saptanırken, ADP ve kollajen ile uyarılmış trombosit agregasyon düzeyleri ise agregometre kullanılarak belirlendi.

Bulgular: Çalışmamızın sonuçları artmış vWF ve endoglin düzeylerinin endotelial fonksiyon bozukluğunun bir sonucu olabileceğini ortaya koymaktadır. Preeklampatik gebelerde elde ettiğimiz yüksek leptin düzeyleri trombosit agregasyonu ile anlamlı bir korelasyon göstermemiştir. Ayrıca bulgularımız preeklampsi için bozulmuş anjiyogenezin endotelial fonksiyon bozukluğuna yol açabileceğini, fakat trombosit agregasyonunda etkili olmadığını göstermektedir. Bu sonuçların daha büyük sayıdaki vaka-kontrol çalışmaları ile doğrulanması gerekmektedir.

Sonuç: Endoglin, leptin ve vWF düzeylerinin preeklampitik gebelerde sağlıklı gebelere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığını gözlemledik ($P<0,001$). Ancak, PIGF, P-selektin ($P<0,001$) ve kollajen ($P<0,05$) düzeylerinin ise sağlıklı gebeler ile karşılaştırdığımızda preeklampitik gebelerde anlamlı derecede azaldığını saptadık. Ayrıca, preeklampitik gebelerde endoglin düzeylerinin sFlt-1 (anti-angiojenik protein) düzeyleri ile ilişkili olduğunu belirledik.

Investigation of the relationship between adipocytokines and antianagenogenic factors in preeclamptic pregnancy platelet functions

Gülser Ayaz¹, Turgut Ulutin¹, Çiğdem Gürel¹, Zeynep Güngör², Hakan Ekmekçi², Abdullah Tüten³, Sait Toprak², Oktay Çalışkan², Hüseyin Sönmez², Rıza Madazlı³, Orkide Donma², Mine Kucur², Özlem Ekmekçi²

¹Department of Medical Biology, Cerrapasa Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul

²Department of Biochemistry, Cerrapasa Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul

³Department of Gynecology and Obstetrics, Cerrapasa Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul

Objective: Preeclampsia is a pregnancy-specific syndrome characterized by clinically elevated blood pressure, edema and proteinuria and can cause fetal morbidity and mortality. The causes of preeclamptic pregnancy syndrome are multifactorial and the etiology is not fully understood. In our study, we aimed to investigate the relationship between adipocytokines and antiangiogenic factors and platelet function in preeclamptic pregnancies.

Materials-Methods: This case-control study consisted of 52 preeclamptic pregnancies and 27 healthy pregnant women with uncomplicated pregnancies in a total of 79 individuals. The levels of ghrelin, leptin, adiponectin, TGF β 1, vWF, sFlt-1, VEGF, endoglin, PIGF, HIF-1 and P-selectin in serum and plasma samples of preeclamptic and healthy pregnancies were determined by ELISA and ADP and collagen-.

Results: The results of our study suggest that increased levels of vWF and endoglin may be a consequence of endothelial dysfunction. High leptin levels in preeclamptic pregnancies did not correlate significantly with platelet aggregation. Our findings also show that impaired angiogenesis for preeclampsia may lead to endothelial dysfunction, but not to platelet aggregation. These results need to be confirmed by a larger number of case-control studies.

Conclusion: We observed that endoglin, leptin and vWF levels increased significantly in preeclamptic pregnancies compared to healthy pregnancies ($P < 0.001$). However, we found that PlGF, P-selectin ($P < 0.001$) and collagen ($P < 0.05$) levels decreased significantly in preeclamptic pregnancies when compared to healthy pregnancies. We also found that endoglin levels in preeclampsia were associated with sFlt-1 (anti-angiogenic protein) levels.

TCCAGG COTGAA TCCAGG COTGAA
AACGGG AAGGGA AACGGG AAGGGA
AGGTTT CAGGGA AGGTTT CAGGGA
GAGTAA ATTGAG GAGTAA ATTGAG
TAAATTA TTTTAA TAAATTA TTTTAA
CAGTTTATTC CAGTTTATTC
ACACATATTC ACACATATTC
GAGTTT GAGTTT
ATAGAGTTG ATAGAGTTG
AAGGTAAGGA AAGGTAAGGA
AGGTTT CAGGGA AGGTTT CAGGGA
CTGTTA CTGTTA
GAGTAA ATTGAG GAGTAA ATTGAG
GAGTAA ATTGAG GAGTAA ATTGAG

ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



EPIGENETİK *EPIGENETIC*

PS - 001

Deneysel epilepsi modelinde böbrekte bulunan aquaporin kanallarının gen ekspresyonlarının incelenmesi

**Efşan Babazade¹, Çilem Ercan², Çağla Yıldız³, Enes Akyüz⁴,
Fahri Akbaş²**

¹Biruni Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik AD, İstanbul, Türkiye

²Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD,
İstanbul, Türkiye

³Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi

⁴Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Biyofizik AD, İstanbul, Türkiye

Amaç: Epilepsinin temel oluşum mekanizmasında, beyinde bulunan çeşitli iyon kanallarının genlerindeki değişikliğin yer aldığı bilinmektedir. Potasyum kanallarındaki fonksiyonel değişikliklerin yanı sıra, bir su kanalı olan ve hücre içi/hücre dışı suyun hareketine yön veren aquaporin-4 (AQP4) kanalındaki fonksiyon kaybının epilepsiye neden olabileceği gösterilmiştir. Böbrekte de eksprese olan ve toplayıcı kanalların basolateral hücre membranında bulunan AQP4 kanalları bu dokuda suyun hücre dışına çıkışını sağlamaktadır. AQP2'nin böbrekte en çok eksprese olan su kanalı olması ve suyun tübüllerden hücre içine geri emilimini sağlamasından dolayı epilepside araştırmaya dâhil edilmiştir.

Gereç-Yöntem: Pentilentetrazol (PTZ) kimyasal maddesi, sıçanlara bir aylık sürede iki günde bir 40 mg/kg intraperitoneal olarak verilerek kronik epilepsi modeli oluşturuldu. Çalışmada; dişi/erkek kontrol ve epilepsi grupları olmak üzere dört grupta Wistar albino (250-350 gr, 28 adet (n=7)) sıçan kullanıldı. Böbrek dokularından izole edilen mRNA, cDNA'ya çevirilerek AQP2 ve AQP4 genlerinin RT-PCR yöntemiyle gen düzeyleri araştırıldı.

Bulgular: Erkek epileptik sıçanlarda sol böbrekte hem AQP2 hem de AQP4 kanalı mRNA seviyesinde anlamlı artış görülürken ($p<0.05$). Sağ böbrekte her iki kanalın mRNA seviyesinde herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Dişi epileptik sıçanlarda sol böbrekte AQP2 ve AQP4 kanalı mRNA seviyelerinde sırasıyla 26.1 kat ($p<0.05$) ve 30.9 kat ($p<0.01$) azalma görüldü; sağ böbrekte ise yalnızca AQP4 kanalı mRNA seviyesinde 3.8 kat azalma görüldü ($p<0.05$).

Sonuç: Bu sonuçlar, epilepside beyinde merkezi rol üstlenen AQP4 ve AQP2 kanallarının böbrekteki fonksiyonun dışı ve erkeklerde farklılık gösterebileceğini ve bu kanalların daha detaylı olarak araştırılmasını öne çıkardı. Bu kanalların detaylı çalışılması, epilepsiye eşlik edebilecek böbrek hastalıklarında hedef olarak belirlenememesine ve mekanizmanın aydınlatılmasına yardımcı olacaktır.

Examination of gene expression of aquaporin channels in the kidney in an experimental epilepsy model

Efşan Babazade¹, Çilem Ercan², Çağla Yıldız³, Enes Akyüz⁴,
Fahri Akbaş²

¹Biruni University, Institute of Health Sciences, Dept. Of Molecular Biology and Genetics, Istanbul, Turkey

²Bezmialem Vakif University, Dept. Of Medical Biology, Istanbul, Turkey

³Bezmialem Vakıf University, Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey

⁴Bezmialem Vakif University, Dept. Of Biophysics, Istanbul, Turkey

Objective: Basic mechanism of epilepsy involves the changes in genetic of ion channels. In addition to functional changes in potassium channels, it has been shown that loss of function in aquaporin-4 (AQP4) channel directs intracellular/extracellular water movement, may cause epilepsy. AQP4 channels are expressed in kidney and located in basolateral cell membrane of collecting channels, provide extracellular release of water. AQP2 is also the mostly expressed water channel in kidney, and provides reabsorption of water from tubules.

Materials-Methods: Every two days for one month, pentylenetetrazole (PTZ) was induced on rats intraperitoneally at 40 mg/kg. Four groups of Wistar albino (n=28) rats were used as female/male control and epilepsy groups. The level of AQP2 and AQP4 genes were investigated via real-time PCR method by converting isolated mRNA from kidney tissues into cDNA.

Results: It has been observed significant increase ($p<0.05$) in mRNA level of both AQP2 and AQP4 channels in left kidney of male rats. There was not any changes in mRNA level of both channels in right kidney. In female epileptic rats, AQP2 and AQP4 channels mRNA levels decreased significantly in left kidney additionally only in the right kidney, significant decrease in AQP4 channel mRNA level was observed ($p<0.05$).

Conclusion: AQP4 and AQP2 channels play a central role in epileptic brain may show differences in female and male functions of kidney and these channels should be investigated in more detail to help identifying epilepsy-associated kidney diseases and clarify the mechanism.

PS - 002

İdiyopatik infertilitede BRCA1/2 promotor metilasyonu ile sperm DNA fragmentasyonu arasındaki ilişki

Emel Kabartan^{1,2}, Sezgin Güneş², Mehmet Alper Arslan²,
Ramazan Aşçı³, Yurdanur Süllü⁴

¹Ordu Üniversitesi, BAP Birimi

²Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Samsun

³*Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji ABD, Samsun*

⁴ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji ABD, Samsun

Amaç: Erkek infertilitesinin moleküler temelini anlamaya yönelik son zamanlardaki yoğun çabaya rağmen vakaların %50'sinin nedeni hala belirsizdir. Epigenetik faktörler ve kromozom bütünlüğü, erkek infertilitesinin etiyojisi için son yıllarda gittikçe belirgin bir araştırma alanı haline gelmiştir. DNA tamirinden sorumlu *BRCA1* ve *BRCA2* genlerindeki epigenetik değişikliklerin sperm DNA fragmentasyonunda (SDF) rol alabileceği ilk kez tarafımızdan öne sürülmüştür. Bu çalışmadaki amacımız da bu genlerlerdeki epigenetik modifikasyonların idiyopatik infertilitede sperm DNA fragmentasyonuna olan etkilerini araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmaya, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Üroloji kliniğine başvuran 70 infertil erkek ve beş sağlıklı normozoospermik gönüllü birey dahil edilmiştir. Sperm DNA fragmentasyon seviyeleri floresan mikroskop aracılı TUNEL testi ile yapılmıştır. DNA metilasyon analizi için metilasyona-spesifik PCR (MSP) yöntemi kullanılmıştır. PCR ürünleri, agaroz jel elektroforeziyle incelenmiştir. İstatistiksel analiz IBM SPSS Statistics 22 paket programıyla yapılmıştır.

Bulgular: SDF ile sperm morfolojisi ve sperm motilitesi arasında negatif korelasyon vardır. MSP sonuçları alınan 60 bireyde *BRCA1* ve *BRCA2* metilasyon profilleri arasında farklılık olsa da metilasyon seviyesi ve SDF arasında belirgin bir ilişki gözlenmemiştir.

Sonuç: *BRCA1* ve *BRCA2* genleri metilasyonu ile SDF arasındaki ilişki ilk kez bu çalışmayla incelenmiştir. Bulgularımız genlerlerdeki metilasyon ile SDF arasında ilişki olmadığını gösterse de, metilasyon SDF için tetikleyici faktör olabilir. Sperm kromatin bütünlüğünün sağlanmasında *BRCA1* ve *BRCA2* metilasyonlarının potansiyel etkilerini ortaya çıkarmak için daha detaylı ileri düzey çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Relationship between BRCA1/2 promoter methylation and sperm DNA fragmentation in idiopathic infertility

Emel Kabartan^{1,2}, Sezgin Güneş², Mehmet Alper Arslan²,
Ramazan Aşçı³, Yurdanur Süllü⁴

¹Ordu University, SRP Office

²Ondokuz Mayıs University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology

³Ondokuz Mayıs University Faculty of Medicine, Department of Urology

⁴Ondokuz Mayıs University Faculty of Medicine, Department of Pathology

Objective: Despite recent extensive efforts in understanding the molecular basis of male infertility, the underlying causes of 50% of all cases are still unknown. Epigenetic factors and chromosome integrity have recently become prominent areas of research for the etiology of male infertility. We hypothesized that epigenetic alterations in DNA repair genes *BRCA1* and *BRAC2* have a role in sperm DNA fragmentation. In this study, we aim to investigate the effect of the methylation status of these genes on sperm DNA fragmentation (SDF) in idiopathic infertility.

Materials-Methods: 70 infertile males who were admitted to the Department of Urology at Ondokuz Mayıs University Hospital and five healthy normozoospermic volunteers were enrolled. Sperm DNA fragmentation ratios were analyzed by TUNEL assay under fluorescent microscope. Methylation-specific PCR (MSP) was used for DNA methylation analysis. PCR products were analyzed by agarose gel electrophoresis. Statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics 22.

Results: There was a negative correlation between SDF and both sperm morphology and motility. MSP analyses were performed on 60 individuals. Although there were differences between BRCA1 and BRCA2 methylation profiles, there was no significant relationship between methylation status and SDF.

Conclusion: Relationship between SDF and methylation status of *BRCA1* and *BRCA2* genes was investigated for the first time by this study. Although our results have indicated no relationship between SDF and methylation status of *BRCA1* and *BRCA2* genes, they may act as trigger factors for SDF. Further studies are required to confirm the potential role of *BRCA1/2* genes in SDF.

PS - 004

Gestasyonel diyabette mikroRNA-223'ün plasentadaki ekspresyonunun değerlendirilmesi

Segün Doğru¹, Mehmet Sakıncı², Dijle Kipmen Korgun¹

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

Amaç: Plasenta, besin maddelerinin ve gazların, anne-fetüs dolaşım sisteminin düzenleyicisidir. Plasental transport fonksiyonlarındaki değişiklikler, gelişmekte olan fetüs üzerindeki gestasyonel diyabet (GDM) metabolik anormalliklerinin etkisini değiştirebilmektedir. Gebeliğin üçüncü trimesterindeki epigenetik değişiklikler, plasenta aracılı GDM komplikasyonlarıyla ilişkilendirilmektedir. Plasental ekspresyonlarıyla karakterize olan mikroRNA (miRNA)'ların, GDM tanısında, yeni ve etkili biyomarkerler olarak önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda, üçüncü trimesterdeki, GDM'li plasentada miR-223 ekspresyonunu değerlendirmeyi hedeflemekteyiz.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada, plasenta dokusu, üçüncü trimester gebelerden elde edildi. miR-223'ün, plasenta dokusundaki ekspresyonu ölçüldü. miRNA-223 ekspresyonu, plasenta dokularında Real-time PCR yöntemi ile değerlendirildi.

Bulgular: Real-time PCR bulgularına göre, GDM grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, plasentadaki miR-223 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma belirlendi.

Sonuç: Sonuç olarak, miR-223'ün, GDM'nin tanı ve tedavisiyle ilişkili olarak yeni bir biyomarker olabileceği düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarında da, maternal, fetal ve plasental süreçleri regüle ettiği belirtilen epigenetik değişiklikler, GDM'li plasentalardaki miR-223 ekspresyonuna olan katkısını anlamak için daha çok kanıtı ihtiyaç duyulmaktadır.

Assessment of mirRNA-223 expression on placenta in gestational diabetes

Segün Doğru¹, Mehmet Sakıncı², Dijle Kipmen Korgun¹

¹Akdeniz University Faculty of Medicine Department of Medical Biochemistry

²Akdeniz University Faculty of Medicine Medical Department of Gynecology and Obstetrics

Objective: The placenta is regulator of materno-fetal transport of nutrients and gases. Alterations in placental transport functions can modify the impact of metabolic abnormalities of (gestational diabetes) GDM on the developing fetus. Epigenetic alterations in the third trimester of pregnancy has been associated with risks of placenta-mediated complications of GDM. Placental expressions of characterized (microRNA) miRNAs is thought to play an important role in the diagnosis of GDM as novel and effective biomarkers. We aimed to estimated miR-223 expressions of GDM with placenta in third-trimester.

Materials-Methods: This study included placental tissue was obtained from third trimester pregnancies. Placental sample expressions of miR-223 were measured. Expressions of miR-223 in the placenta were evaluated Real-time PCR.

Results: According to the findings of Real-time PCR, expression of miR-223 decreased in the statistically significant range in GDM group compared to control group in placenta.

Conclusion: To conclude, miR-223 is considered to be a novel biomarker related to diagnosis and treatment of GDM. Given the abundant, recent studies, it is now increasingly clear that epigenetic alterations of maternal, fetal and placental process may potentially contribute to better expression of miR-223 on placenta, with further evidence needed to clarify its true in this with GDM.

PS - 005

Mesane kanserinde *HIST1H4F* gen hipermetilasyonunun Histone 4 ifadenmesi ve Histone 4 Lizin 20 metilasyonu üzerine etkisi

Nuray Varol¹, İbrahim Keleş², Cem Karaosmanoğlu¹,
Kürşad Zengin², Haşmet Sarıcı², Mustafa Karalar²,
Handan Yıldız¹, Çiğdem Tokyol³

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Ana Bilim Dalı, Afyonkarahisar

³Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Ana Bilim Dalı, Afyonkarahisar

Amaç: DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ile birlikte gen ifadenmesinin düzenlenmesinde birbiri içerine geçmiş karşılıklı etkileşim içerisinde. Son zamanlarda, *HIST1H4F* (Histon 4 proteinini kodlar) geninin hipermetilasyonu mesane kanserinin de içerisinde olduğu çok çeşitli kanser türlerinde sıklıkla görülmektedir. Fakat, onun Histon 4 (H4) protein ifalenmesinde ve ilişkili Histon-4 modifikasyonları, H4 lizin 20 monometilasyon (H4K20me1) ve H4 Lizin 20 trimetilasyon (H4K20me3)'undaki rolü açık değildir. Bu nedenle, bu çalışmamızın amacı mesane kanserinde *HIST1H4F* geninin DNA metilasyonunun, Histon 4, H4K20me1 ve H4K20me3 protein ifadenmeleri üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: 20 mesane tümör ve 5 normal mesane kontrol örneklerinde, *HIST1H4F* gen metilasyon paterni piroseksanlama ile analiz edilmiştir. Histone 4, H4K20me1, H4K20me3 ve bu modifikasyonlardan sorumlu enzimlerin, SUV420H1 ve SET8 protein düzeyleri western blot ile belirlenmiştir.

Bulgular: Sekans analizi, normal örneklerle nazaran mesane tümör örneklerinde önemli derecede yüksek metilasyon sıklığının arttığını göstermektedir. Bununla birlikte, *HIST1H4F* geninin hipermetilasyonu yalnızca Histone 4 protein ifadenmesini değil ayrıca H4K20me1 ve H4K20me3 protein ifadenme düzeylerini de etkilememektedir. Histone-4 modifikasyon aberasyonları, Histone 4 protein düzeyinden ziyade H4K20 metiltransferas enzimleri, SUV420H1 ve SET8 ifadenme düzeyine bağlıdır.

Sonuç: *HIST1H4F* genin hipermetilasyonunun Histon4 protein ifadenmesi üzerine etkisini ilk kez bu çalışma ile gösterilmiştir. DNA metilasyon aracılı *HIST1H4F* gen baskılanması, mesane kanser örneklerinde Histon 4 protein ifadenme düzeyini etkilememektedir. Ayrıca, H4K20 metilasyon düzeyi, H4K20 metiltransferaz enzim SUV420H1 ve SET8, düzeyleri ile ilişkilidir. Bu enzimler, kanser hastaları için yeni aday prognostik belirteç olarak kullanılabilir.

The effect of hypermethylation of HIST1H4F gene on Histone 4 expression and Histone 4 Lysine 20 methylation in bladder cancer

Nuray Varol¹, İbrahim Keleş², Cem Karaosmanoğlu¹,
Kürşad Zengin², Haşmet Sarıcı², Mustafa Karalar²,
Handan Yıldız¹, Çiğdem Tokyol³

¹Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Department of Urology, Afyonkarahisar

³Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, Afyonkarahisar

Objective: DNA methylation intertwined interplay with histone modifications in regulation of gene expression. Recently, DNA methylation of *HIST1H4F* gene (encode Histone 4 protein) is often observed in a wide variety of cancer including bladder cancer. But its role in Histone-4 (H4) protein expression and associated histone 4 modifications, H4 Lysine 20 monomethylation (H4K20me1) and H4 lysine 20 trimethylation (H4K20me3) is unclear in bladder cancer. Therefore, aim of this study was to elucidate the effect of DNA methylation of *HIST1H4F* gene on Histone 4, H4K20me1 and H4K20me3 protein expressions in bladder cancer.

Materials-Methods: Methylation pattern of *HIST1H4F* gene was analyzed by pyrosequencing. Protein levels of Histone 4, H4K20me1, H4K20me3 and enzymes responsible for this modifications, SUV420H1 and SET8, were determined by western blot on 20 bladder tumors relative to 5 normal bladder controls.

Results: Sequencing analysis revealed significantly higher methylation frequencies in bladder tumor samples relative to normal samples. However, hypermethylation of *HIST1H4F* gene did not affect not only Histone 4 protein expression but also H4K20me1 and H4K20me3 protein expression levels. Histone 4 modifications aberration depended on expression levels of H4K20 methyltransferase enzyme, SUV420H1 and SET8, rather than total histone 4 protein level.

Conclusion: We unveiled to the effect of hypermethylation of *HIST1H4F* gene on Histone 4 protein expressions. *HIST1H4F* gene repression via DNA methylation did not affect Histone 4 protein expression levels in bladder cancer. Also, H4K20 methylation levels are associated with H4K20 methyltransferase enzyme levels, SUV420H1 and SET8. This enzymes can be used as novel candidate prognostic markers for cancer patients.

PS - 003

Hepatoselüler karsinomada c-Met reseptör tirozin kinaz ve lncRNA HOTAIR ilişkisi

Hande Topel¹, Dehan Comez², Yeliz Yılmaz¹, Nese Atabey¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İzmir

²*İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü (İBG-İzmir), İzmir*

Hepatösölüler karsinoma (HCC) gelişiminde önemli rol bulunan c-Met ekspresyonu metastatik, kötü prognozlu tümörlerde ve ilaç direncinde artış gösterir. HCC tedavisinde c-Met önemli bir hedef haline gelmiştir. HOTAIR, ekspresyonu birçok kanser türünde artış gösterdiği bilinen ve agresif kanser fenotipiyle uyumluluk gösteren bir uzun kodlanmayan RNA'dır. Çalışmamızda birçok kanser türünde agresif fenotiple ilişkili olduğu bilinen bu iki molekülün HCC'deki olası karşılıklı ilişkisini incelemeyi amaçladık. İlk kez bizim çalışmamızda HOTAIR ekspresyonu ve c-Met aktivasyonunun HCC'de ters korelasyon gösterdiği gösterilmiştir. c-Met'in ligand bağımlı/bağımsız aktivasyonu HOTAIR down-regulasyonuna neden olurken c-Met aktivasyonunun önlenmesi HOTAIR ekspresyonunun geri kazanılmasına neden olmaktadır. Biyoinformatik analizler sonucunda HOTAIR tarafından epigenetik regülasyonu gerçekleştirilen bazı genlerin c-Met aktivasyonuna katkı sağlayarak c-Met-HOTAIR ters ilişkisine neden olabileceği anlaşılmış ve bu genlerin söz konusu ilişkiye katışı protein ve RNA ekspresyonları WB ve RT-qPCR yöntemleriyle incelenerek analiz edilmiştir. Söz konusu moleküller ve ilişki c-Met aktivasyon/inhibisyon ve HOTAIR susturma/overekspresyon koşullarında da analiz edilmiştir. c-Met-HOTAIR ilişkisinin metastaz sürecindeki etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için normal fizyolojik ve metabolik koşullarda teğetsel akış stresi altında sirküle olan HCC hücrelerinde c-Met, HOTAIR ve hipotetik ara moleküllerin analizi gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızın sonuçları HCC'de rolleri tanımlanmış lncRNA HOTAIR ve c-Met reseptör tirozin kinaz arasındaki ilişkiyi açıklamak ve yeni ilaç hedeflerinin belirlenmesine katkı sağlamak açısından önemlidir.

Reciprocal interaction of c-Met receptor tyrosine kinase and lncRNA HOTAIR in hepatocellular carcinoma

Hande Topel¹, Dehan Comez², Yeliz Yılmaz¹, Nese Atabey¹

¹Dokuz Eylul University Medical Biology and Genetics Department, Izmir

²*International Biomedicine and Genome Institute-Izmir, Izmir*

c-Met pathway is particularly important in the development of hepatocellular carcinoma (HCC) and elevated c-Met expression is correlated with metastasis, poor prognosis, and drug resistance. c-Met activation in HCC is a critical phenomenon that became an important molecular target of hepatocellular carcinoma therapies. HOTAIR expression is defined to be up-regulated in various cancer types and, linked to poor prognosis and aggressive cancer phenotype. Lower survival rates and increased metastasis were reported for HCC patients with upregulated lncRNA HOTAIR expression as well. Elevated expression of HOTAIR in HCC tissues, its relation with cancer stem cell phenotype, poor prognosis and metastasis lead us to investigate its possible link between HOTAIR and c-Met. In our studies, HOTAIR expression is found to be reversely correlated with c-Met expression and activation in HCC cell lines, for the first time. c-Met activation leads to down regulation of lncRNA HOTAIR expression and also, inhibition of c-Met activation recovers HOTAIR expression. c-Met pathway is defined to be activated in ligand dependent and independent manner. Reciprocal interaction of c-Met and HOTAIR was conserved in ligand-independent c-Met activation, too. Bioinformatics analysis of the genes that are epigenetically regulated by lncRNA HOTAIR revealed that some of the genes that are targeted by HOTAIR are known to contribute to c-Met pathway via enabling its activation. The possible molecules that are hypothesized to take part in reciprocal interaction of c-Met and lncRNA HOTAIR are analysed by RT-qPCR and western blot. To further understand the role of HOTAIR and c-Met interaction in metastasis; expression of HOTAIR, c-Met and related molecules were analysed in circulating HCC cells under shear stress in normal physiological and metabolic conditions. Our findings contribute to literature by mapping the interaction of lncRNA HOTAIR and c-Met in which is particularly important for planning targeted cancer therapies.

PS - 007

Antidiyabetik gen nakil çalışmalarında kullanılmak üzere çoklu düşük doz Streptozotosin uygulamasıyla otoimmünitenin indüklendiği Wistar sıçan modelinin geliştirilmesi

Elif Özgecan Şahin¹, Fulya Erendor¹, Mustafa Kemal Balcı², Salih Şanlıoğlu¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Gen ve Hücre Tedavi Merkezi, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD, Antalya, Türkiye

Tip 1 diyabet(T1DM), T-hücre infiltrasyonu sonucu beta(β)-hücrelerinin yıkımıyla gelişen insülin yetmezliğiyle karakterize otoimmün bir hastalıktır. Bu hastalığın tedavisine yönelik yapılan çalışmalarda deney hayvan modeli olarak; spontan diyabet geliştiren NOD fare ve diyabete yatkın Bio-Breeding(BB) sıçan modelleri kullanılmaktadır. Ancak bu modellerin özel gereksinimleri dolayısıyla istenilen sürede hiperglisemi indüklenememektedir. Spontan diyabet geliştirmesi gereken NOD farelerde bile diyabet gelişimini hızlandırmak için streptozotosin(STZ) enjeksiyonuna gerek duyulmaktadır. Farklı sıçan türleriyle yapılan çalışmalarda genellikle tek doz STZ uygulamalarıyla diyabet indüklense de T1DM'de gözlenen en önemli bulgulardan biri olan insülitis gelişimi sağlanamamaktadır. Bu doğrultuda çalışmamızda bakım ve tedarigi nispeten daha kolay olan Wistar sıçanlarda T1DM modelinin oluşturulması hedeflendi. Bu amaçla; ad-libitum beslenen 4 haftalık erkek Wistar sıçanlarda otoimmünite aktivasyonu ve β -hücre hasarı için ardışık beş gün, intraperitoneal(i.p.) 30mg/kg STZ enjeksiyonları yapıldı. Sıçanların kan glukoz değerleri periyodik olarak takip edildi. İnsülitis gelişimini takip edebilmek adına; 10., 15. ve 20. günlerde sakrifiye edilen sıçanların pankreatik doku kesitlerinde hematoksilin/eosin(H/E) boyaması ile histolojik analizler gerçekleştirildi. Yapılan ardışık düşük doz STZ enjeksiyonlarıyla; enjeksiyonu takip eden 3. günden itibaren hipergliseminin başarıyla indüklendiği ve bu durumun ($>350\text{mg/dl}$) 1 ay süreyle korunduğu gözlemlendi. Farklı zamanlarda sakrifiye edilen hiperglisemik sıçanların pankreas kesitlerinde yapılan histolojik analizler sonucunda T hücre infiltrasyonu indüklenerek insülitis oluşumu saptandı. Elde edilen bulgular doğrultusunda; otoimmünitenin indüklenerek hiperglisemi oluşturan protokol belirlenerek çoklu düşük doz STZ enjeksiyonları ile Wistar sıçanların T1DM'i başarıyla taklit edebildikleri gösterildi. Sonuç olarak, bu çalışmayla diyabet tedavisine yönelik gen nakil çalışmalarında kullanıma uygun yeni bir T1DM Wistar sıçan modeli geliştirilmiştir.

TUBITAK-215S820

Multiple low-dose streptozotocin injections induced diabetes in wistar rats characterized by insulinitis and hyperglycemia useful for gene transfer studies

Elif Özgecan Şahin¹, Fulya Erendor¹, Mustafa Kemal
Balcı², Salih Şanlıoğlu¹

¹Gene and Cell Therapy Center of Akdeniz University Hospitals, Antalya, Turkey

²Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, 07058, Turkey

Type 1 diabetes (T1DM) is an autoimmune disease characterized with insulin deficiency as a result of beta-cell destruction involving T-cell infiltration. Previously, different animal models such as NODmice, and Bio-Breeding(BB) rats which spontaneously develop diabetes were utilized in diabetes treatment studies. Even these in studies, Streptozotocin(STZ) injection was required to accelerate the development of diabetes. Although diabetes could be induced by a single-dose STZ injection in different rat species, a single-dose does not generate insulinitis, which is one of the most important findings observed in T1DM. In this respect, we aimed to establish a practical T1DM model using STZ in Wistar rats. For this purpose, intraperitoneal(ip) multiple STZ injections(30mg/kg) were performed in 4-week-old male Wistar rats fed ad-libitum for five consecutive days in order to activate autoimmunity and damage beta-cells. Blood glucose values were monitored periodically. In order to follow the development of insulinitis, Haematoxylin/Eosin(H/E) staining and histological analyses were conducted on pancreatic tissue sections of the rats sacrificed on days 10, 15 and 20. Hyperglycemia was successfully induced with multiple low-dose STZ injections, starting on day 3 following the last injection and this condition(>350mg/dl) was preserved for 1 month. T-cell infiltration(insulinitis) was shown as a result of histological analysis of pancreatic sections in hyperglycemic rats. In the light of the obtained findings, we concluded that multiple low-dose STZ injections successfully induced T1DM in Wistar rats. As a result, here we report a new practical T1DM Wistar rat model suitable for use in gene transfer studies for the treatment of diabetes.

TUBITAK-215S820

PS - 008

Diyabet hastalığına karşı kullanılmak üzere beta hücre spesifik gen tedavi vektörünün oluşturulması

Fulya Erendor¹, Elif Özgecan Şahin¹, Mustafa Kemal Balcı², Salih Şanlıoğlu¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Gen ve Hücre Tedavi Merkezi, Antalya, 07058

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD, Antalya, 07058

Tip 1 diyabet hastalarında insülin eksikliğini gidermeyi amaçlayan gen tedavi çalışmalarının çoğu; pankreatik beta hücrelerine karşı gelişen oto-reaktif T hücreleri nedeniyle pankreas dışı dokuları hedeflemektedir. Ancak bu dokulara yönelik gen tedavi çalışmalarının başarısı; glukozu duyarlı insülin sentez ve sekresyonunun gerçekleşmemesi ve proinsülini işleyecek enzimlerin yokluğu dolayısıyla gölgelenmiştir. Çalışmamızda bu problemi gidermek üzere, pankreatik beta hücrelerine spesifik insülin gen sentezi sağlayan, glukoz indüklük insülin salınımı yapan, insülin promotörli proinsülin sekanslı yeni bir lentiviral vektör (LentiİNS) oluşturmayı amaçladık. Bu doğrultuda, minimal insülin promotör bölgesi ve proinsülin geni içeren iki farklı giriş vektörü ile lentiviral iskelet taşıyan bir destinasyon vektörü Multisite Gateway teknolojisiyle klonlanarak transfer vektörü oluşturdu. Restriksiyon enzim kesimleri ve DNA dizi analizi ile transfer plazmidinin doğrulanmasını takiben, paketleme plazmidleri ile birlikte 293T hücrelerine CaPO4 metodu ile 4 plazmidli kotransfeksiyon gerçekleştirilerek 10^9 TU/ml konsantrasyonunda yüksek titrede LentiİNS başarıyla üretildi. LentiİNS ile transdükte edilen 293T hücre hatlarında ELISA testi ile yapılan analiz sonucu insülin sekresyonu gözlenmezken, NIT1 fare pankreatik beta hücre hatlarında kontrollerin 3 katı oranında insülin olduğu belirlendi. Bu sonuçlar, beta hücre spesifik insülin sekresyonu gerçekleştirebilen HIV tabanlı lentiviral gen tedavi vektörünün başarıyla oluşturulduğunu göstermektedir.

TÜBİTAK-215S820

Generation of a beta cell specific insulin gene therapy vector for diabetes

Fulya Erendor¹, Elif Özgecan Şahin¹, Mustafa Kemal Balcı², Salih Şanlıoğlu¹

¹Gene and Cell Therapy Center of Akdeniz University Hospitals, Antalya, 07058, Turkey

²Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, 07058, Turkey

The most of the gene therapy trials dealing with recovering of insulin gene expression in type 1 diabetes patients targeted non-pancreatic tissues to overcome the destruction of beta cells due to T cell mediated autoimmune response. However, the absence of proinsulin processing enzymes and glucose-dependent insulin secretion in these tissues restricted the success of gene therapy studies. To solve this problem, we aimed to produce a new lentiviral vector (LentiINS) with insulin promoter hooked up to proinsulin gene sequence to provide pancreatic beta cell specific insulin gene expression and secretion. For this purpose, Multisite Gateway Technology involving two different entry vector one with minimal insulin promoter and the other with proinsulin gene sequence and a destination vector carrying lentiviral backbone was employed to generate the transfer vector. Following confirmation of the transfer plasmid by restriction enzyme digestion and DNA sequence analysis, high-titer LentiINS vectors at a concentration of 10^9 TU/ml were successfully produced by CaPO₄ cotransfection of 293T cells with packaging and transfer plasmids. While transduction of NIT1 mouse pancreatic beta cell lines produced 3 fold increase in insulin gene expression compared to controls, no insulin expression was detected in 293T kidney cell lines as expected. These results indicate that we successfully constructed a HIV based lentiviral gene therapy vector being capable of beta cell specific insulin gene expression and secretion.

TÜBİTAK-215S820

PS - 010

3. jenerasyon HIV tabanlı lentiviral vektörlerin in vivo uygulamalar için üretimi ve pürifikasyon yöntemlerinin optimizasyonu

Hazal Banu Olgun^{1,2}, Mustafa Kemal Balcı³, Salih Şanlıoğlu¹

¹*Akdeniz Üniversitesi Gen ve Hücre Tedavi Merkezi, Antalya*

²Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Antalya

³Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, Antalya

Lentiviral vektörler (LVV); güvenlik, etkinlik ve uzun süreli ekspresyon açısından tercih edilen gen nakil araçlarıdır. Bu vektörlerin terapötik etkinlikleri, üzerlerinde taşıdıkları genlere bağlı olsa da, in vivo uygulamalarda kullanılmak üzere, yüksek kalite ve saflıkta üretilmeleri için yeni üretim ve saflaştırma metodları geliştirilmelidir. Uygun titre ve kalitede; yüksek saflıkta, biyogüvenilir 3. nesil LVV eldesi için, vektör konsantrasyon ve pürifikasyon tekniklerinin geliştirilmesinin hedeflendiği bu çalışmada, döner hücre kültürü şişelerindeki 293T hücrelerinin, paketlenme ve transfer plazmidleriyle, Chloroquine varlığında geçici CaPO₄ transfeksiyonu ardından düşük hızda santrifüjasyon ve filtrasyon ile hücresel debris giderimi yapıp, sükröz yataklı, yüksek hızlı ultrasantrifüj işlemi ile virus konsantrasyonu gerçekleştirildi. Konsantre edilen viral örneklerin; benzonaz ile hücresel nükleik asit yıkımı gerçekleştikten sonra, iyon değişim kromatografisi ile saflaştırma işlemleri yapıldı. Elde edilen vektörlerin genoma entegre kopya sayıları kantitatif Real-Time PCR ile hesaplanırken, protein giderim oranları SDS-PAGE ile belirlendi. Yapılan optimizasyon işlemleri ardından %10 FBS ve 25 uM Chloroquine içeren IMDM besiyerindeki transfeksiyonu takiben %10 FBS içeren OPTIMEM besiyerinde yapılan viral üretim metoduyla transdüksiyon etkin LVV'ler başarıyla elde edildi. Viral titre, fonksiyon ve saflık analizleri doğrultusunda, ultrasantrifüj ile 200 kat konsantre edilen örneklerin kromatografik pürifikasyonu ile safsızlıklarından %90 oranında arındırıldığı belirlenirken, viral titre 6,2x10¹⁰ TU/mL olarak hesaplandı. LVV üretiminin başlangıcından son ürüne dek yapılan tüm alt akım işlemlerinin ardından HIV p24 ELISA testi ile toplam vektör geri kazanımı %53 olarak belirlendi. Gerçekleştirilen bu çalışma ile, genel laboratuvar koşullarına uyarlanabilir özellikte ve oldukça pratik, optimize ve ölçeklendirilebilir bir üretim ve saflaştırma metodu geliştirilmiştir.

Finansal destek: TÜBİTAK(112S114)

Optimization of production and purification methods of 3rd generation HIV based lentiviral vectors for in vivo applications

Hazal Banu Olgun^{1,2}, Mustafa Kemal Balcı³, Salih Şanlıoğlu¹

¹Gene and Cell Therapy Center of Akdeniz University Hospitals, Antalya, Turkey

²Department of Genetics and Bioengineering, Alaaddin Keykubat University Faculty of Engineering, Antalya, Turkey

³Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

Lentiviral vectors (LVV) are gene transfer tools due to their safety, efficacy and long-term gene expression. Despite the therapeutic effectiveness of these vectors is mostly dependent on the genes they carry, they must be produced in high quantity and purity for successful in vivo applications. Thus there is a need for a practical scalable and a robust vector production method applicable to any basic laboratory settings. The aim of this study is to design a production and purification technique to obtain high titered, bio-safe, 3rd generation LV vectors for in vivo gene transfer applications. LVV was produced in roller bottles, by temporarily transfecting 293T cells with packaging and transfer plasmids in the presence of Chloroquine and CaPO₄. Following clearance of cellular debris by low-speed centrifuge and filtration, virus was concentrated by high-speed ultracentrifugation with sucrose-cushion. Concentrated viral samples were then purified by anion-exchange chromatography after benzonase treatment to remove cellular DNA. Viral titers were quantified by RT-PCR, purity was determined by SDS-PAGE. Transfections performed in IMDM containing 10% FBS and 25μM Chloroquine resulted in successful production of LVVs in OPTIMEM with 10% FBS. Ultracentrifugation resulted in 200-fold concentration of viral vectors allowing samples to be loaded onto anion exchange columns. Following anion exchange chromatography, 90% purification was achieved resulting in a titer of 6.2x10¹⁰ TU/ml. p24 ELISA assays suggested a vector recovery rate of 53% after chromatography. Based on our results, here we report a practical, optimized, scalable production of LVV suitable for laboratory scale lentiviral production.

Grant support: TUBITAK-112S114

PS - 012

İnsulin gen replasman tedavisinde kullanılmak üzere CRISPR-Cas9 yöntemiyle MODY10 diyabetik deney hayvan modeli oluşturma

Yunus Emre Ekşi¹, Hasan Ali Altunbaş², Salih Şanlıoğlu¹

¹Gen ve Hücre Tedavi Merkezi, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, Türkiye, 07058

²İç Hastalıkları AD, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları
BD, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, Türkiye, 07058

Gençlerde Gözlenen Erişkin Tipi Diyabet (MODY) monogenik, otozomal dominant kalıtım gösteren, pankreatik beta hücrelerinin gelişiminde ve fonksiyonelliğinde rol oynayan çeşitli transkripsiyon faktörlerinde meydana gelen mutasyonlar sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır. İnsülin geninde ortaya çıkan mutasyonlara bağlı olarak gözlenen insülin sentez yetmezliği ile karakterize alt tipi MODY10'dur. MODY10 sahibi bireyler hastalığın ilerleyen dönemlerinde insülin yetmezliği sebebiyle insülin kullanımına ihtiyaç duydıklarından lentiviral vektörler aracılığıyla yapılacak insülin gen nakli, bu tür hastalarda eksojen insülin gereksiniminin ortadan kaldırılmasını sağlayabilir. Bu sebeple projemizde, insülin gen replasman tedavisinin uygulanabilirliğinin belirlenebilmesi için CRISPR/Cas9 tekniğini kullanarak pankreatik beta hücrelerinde sürekli insülin sentez yetmezliğine sahip (MODY10) beta hücrelerinin elde edilmesi amaçlanmıştır. Sonrasında insülin gen defektine sahip beta hücreleri, diyabetik deneklerin böbrek kapsülü altına nakledilerek MODY10 tipi deney hayvan modellerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla, CMV ve insulin promotorlu iki farklı insulin gen tedavi vektörü oluşturuldu. Bu vektörlerin gen nakil etkinlikleri önce 293T hücrelerinde sonra da NIT1 fare pankreatik beta hücre hatlarında belirlendi. Diyabetik deney hayvanı modelinin oluşturulması için, 8 haftalık C57BL/6J erkek farelere tek doz 150mg/kg streptozotolin intraperitoneal yolla enjekte edildi. Bir aylık takip neticesinde endojen insulin sentezleyen pankreatik beta hücrelerinin tahrip olduğunun göstergesi olarak deneklerde sürekli hipeglisemi gözlemlendi. Sonrasında, CRISPR/Cas9 tekniği kullanarak insulin gen yetmezliği oluşturulmuş pankreatik beta hücrelerinin elde edilmesi amaçlanmaktadır.

Proje desteği: TÜBİTAK (215S820)

Development of MODY10 diabetic experimental animal model by CRISPR-Cas9 technology to use in insulin gene transfer studies

Yunus Emre Ekşi¹, Hasan Ali Altunbaş², Salih Şanlıoğlu¹

¹Human Gene and Cell Therapy Center of Akdeniz University Hospitals, Antalya, Turkey,07058

²Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey, 07058

Maturity-onset diabetes of the young (MODY) is an autosomal dominant inherited type of diabetes that results from heterozygous mutations in various transcription factors during the development and maturation of pancreatic beta cells. MODY10 is a subtype of MODY characterized by deficiency in insulin synthesis observed due to mutations in the insulin gene. Since MODY10 carriers eventually need insulin injections, insulin gene transfer through lentiviral vectors can help to eliminate the need for exogenous insulin in such patients. Therefore, in order to determine the feasibility of insulin gene replacement therapy, we aimed to generate pancreatic beta cells insulin knockout mice (MODY10) using CRISPR / Cas9. Subsequently, beta cells with an insulin gene defect will be transplanted into the kidney capsule of diabetic subjects to develop MODY10 experimental animal model of diabetes.

For this purpose, two different insulin gene therapy vectors with CMV and insulin promoters were constructed. The gene expression profiles of these vectors were first tested in 293T cells and then in NIT1 mouse pancreatic beta cell lines. For the generation of the diabetic experimental animal model, 8 weeks old male C57BL / 6J mice were intraperitoneally injected with a single dose of 150 mg / kg Streptozotocin. After a month of follow-up, continuous hyperglycemia was observed in the subjects as a sign of destruction of pancreatic beta cells that normally would express endogenous insulin. In the next step, pancreatic beta cells with insulin gene deficiency will be generated using CRISPR / Cas9 technique. TUBITAK (215S820)

PS - 014

Tip 1 diyabet için vazoaktif intestinal peptidi kodlayan lentiviral vektörün geliştirilmesi

Fulya Erendor¹, Elif Özgecan Şahin¹, Mustafa Kemal Balcı², Salih Şanlıoğlu¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Gen ve Hücre Tedavi Merkezi, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD, Antalya

İmmün sistem aracılı pankreatik beta hücrelerinin yıkımı Tip 1 Diyabet (T1DM) hastalarını insülin üretebilen hücrelerden yoksun bırakır. T1DM hastalarının pankreatik beta hücrelerindeki azalmadan yeni adacık oluşumları ya da beta hücre replikasyonu sırasında meydana gelen bozulmalar değil; mevcut adacıklarda gözlemlenen ölümler sorumlu tutulmaktadır. Bu sebeple tip 1 diyabetik semptomların iyileştirilmesi için terapötik yaklaşımlar adacık hücrelerini apoptozisten korumaya yönelik tasarlanmıştır. İdeal bir beta hücre koruyucu ajanından; beta hücrelerini apoptozisten koruması, beta hücre replikasyonu ve/veya adacık neogenezi ile birlikte postprandiyal insülin sekresyonunu uyarması beklenir. T1DM tedavisinde umut veren bir ajan olarak karşımıza çıkan Vazoaktif İntestinal Peptid (VIP), regülatör T hücreleri aracılığıyla Th1 bağışıklık tepkisinin baskılanarak bağışıklık toleransının oluşturulması ile güçlü bir antienflamatuvar faktör olarak davranabilmesi ve postprandiyal insülin salınımını güçlü bir şekilde uyarması gibi geniş spektrumlu etkileriyle dikkat çekmektedir. İnsülinotropik ve antienflamatuvar fonksiyonlara sahip bir nöropeptid olan VIP'in T1DM hastalığına yönelik terapötik etkilerinin araştırılması için, Gateway klonlama stratejisi kullanılarak insan VIP'ini kodlayan 3. nesil lentiviral vektörler (LentihVIP) oluşturulmuştur. Klonlamayı doğrulamak için restiksiyon enzimi analizi ve DNA dizilemesi yapıldı. Lentiviral partikül titreleri QuickTiter HIV Lentivirus Quantitation kiti (Cell Biolabs) kullanılarak hesaplandı. Vektörün gen ekspresyonu ELISA ile teyit edilirken fonksiyonelliği glukoz indüklü insülin salınım testi ile ortaya çıkarıldı.

TUBITAK-215S820

Generation of a lentiviral vector encoding vasoactive intestinal peptide for type 1 diabetes

Fulya Erendor¹, Elif Özgecan Şahin¹, Mustafa Kemal Balcı², Salih Şanlıoğlu¹

¹Human Gene and Cell Therapy Center, Akdeniz University
Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

²Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

For patients with type-1 diabetes (T1DM), immune system-mediated destruction of the pancreatic beta cells removes the body of the only cells capable of making insulin. Pancreatic islet cell death, but not the defect in new islet formation or beta-cell replication, has been blamed for the decrease in beta-cell mass observed in T1DM patients. Thus, therapeutic approaches designed to protect islet cells from apoptosis could significantly improve the management of T1DM. Therefore, an ideal beta-cell-preserving agent is expected to protect beta cells from apoptosis and stimulate postprandial insulin secretion along with increasing beta-cell replication and/or islet neogenesis. One such potential agent, vasoactive intestinal peptide (VIP) strongly stimulates postprandial insulin secretion. Because of its broad spectrum of actions such as acting as a potent anti-inflammatory factor through suppression of Th1 immune response, and generation of immune tolerance by way of regulatory T cells, VIP has surfaced as a promising agent for the treatment of T1DM. Since VIP is a neuropeptide with insulinotropic and anti-inflammatory functions, 3rd generation lentiviral vectors encoding human VIP (LentihVIP) were constructed using Gateway cloning strategy. Restriction enzyme analysis and DNA sequencing were utilized to confirm the cloning. The lentiviral particle titers were quantified using QuickTiter HIV Lentivirus Quantitation kit (Cell Biolabs). The expression was confirmed by ELISA while functional status was revealed by glucose induced insulin secretion test.

Financial support: TUBITAK-215S820

TCCACG COTGAA TCCACG COTGAA
AACGGG AACGGG AACGGG AACGGG
AGGTTT AGGTTT AGGTTT AGGTTT
GGAAGA GGAAGA GGAAGA GGAAGA
TAAATG TAAATG TAAATG TAAATG
CAGTATG CAGTATG CAGTATG CAGTATG
ACACATG ACACATG ACACATG ACACATG
GAGTTT GAGTTT GAGTTT GAGTTT
ATAGAGT ATAGAGT ATAGAGT ATAGAGT
AAGGTA AAGGTA AAGGTA AAGGTA
AGGTTT AGGTTT AGGTTT AGGTTT
CTTGA CTTGA CTTGA CTTGA
AGGTTT AGGTTT AGGTTT AGGTTT
GCTAG GCTAG GCTAG GCTAG

ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



HASTALIKLARIN MOLEKÜLER TEMELİ *MOLECULAR BASIS ON DISEASES*

PS - 016

Fibromiyalji sendromlu Türk kadınlarında Östrojen Reseptör Alfa Geninin PvuII ve XbaI polimorfizmleri

Habibe Sema Arslan¹, Serbürent Yiğit²

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Antalya

²Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Tokat

Amaç: Fibromiyalji sendromu (FMS), yaygın kronik ağrı, yorgunluk ve uyku bozukluğu gibi semptomlarla karakterize çok faktörlü bir hastalıktır. Genellikle kadınları etkiler. FMS'nin etiyolojisi açık bir şekilde bilinmemekle birlikte, hem genetik hem de çevresel faktörlerin rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmanın temel amacı, Türk kadınlarında Östrojen- α (ESR1) polimorfizmi ile FMS riski arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: FMS'li 100 kadında, ve kontrol grubunu oluşturan 119 sağlıklı kadında ESR1 intronik polimorfizmi (PvuII, rs2234693; XbaI, rs9340799) incelendi. FMS'nin bileşen özellikleri belirlendi ve PvuII ve XbaI genotipleri Polimeraz zincir reaksiyonu tabanlı restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) analizi ile değerlendirildi.

Bulgular: Hastaların yaş ortalaması $42,83 \pm 11,50$ yıl idi. Hastaların sırasıyla %22, %54 ve %24'ünde, ESR1 Pvull polimorfizmine ait T/T, T/C ve C/C genotipleri gözlemlendi. Bulgularımız Türk kadınlarında ESR1 Pvull polimorfizmi ve FMS riski arasında anlamlı bir ilişki olduğunu gösterdi. CC genotipi ve C alel frekansları, FMS hastalarında kontrol grubundaki katılımcılara göre anlamlı derecede yükseldi (sırasıyla, $p = 0.021$, $p = 0.007$). TT + TC genotipleri ile karşılaştırıldığında, CC genotipinin FMS riskini iki kat artırdığı bulunmuştur [$p = 0.028$, OR = 2.18, % 95 GA (1.07-4.52)]. Bununla birlikte, XbaI polimorfizmi ile FMS riski arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Sonuç: Sonuçlarımız, ESR1 varyantlarının FMS gelişiminde muhtemelen rol oynadığını göstermektedir. Bulgularımızı destekleyen daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

The PvuII and XbaI polymorphisms of the Estrogen Receptor Alpha Gene in Turkish women with Fibromyalgia syndrome

Habibe Sema Arslan¹, Serbülent Yiğit²

¹Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Antalya

²Gaziosmanpaşa University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Antalya

Objective: Fibromyalgia syndrome (FMS) is a multifactorial disorder characterized by symptoms such as widespread chronic pain, fatigue and sleep disorder. It generally affects women. Although the etiology of FMS is not known clearly, it is considered that both genetic and environmental factors may play a role. The primary objective of this study was to investigate if there is an association between the Estrogen- α (ESR1) polymorphism and FMS risk in Turkish women.

Materials-Methods: Two ESR1 intronic polymorphisms (PvuII, rs2234693; XbaI, rs9340799) were examined in 100 women with FMS and 119 healthy women in the control group. The component traits of FMS were determined, and the PvuII and XbaI genotypes were assessed with Polymerase chain reaction-based restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis.

Results: Mean age was 42,83±11,50 years in the patient group. The T/T, T/C and C/C genotypes of the ESR1 PvuII polymorphism were observed in 22%,54% and 24% of the patients,respectively. Our results indicated that there was a significant association between the ESR1 PvuII and FMS risk in Turkish women.Frequencies of the CC genotype and the C allele were significantly higher in the FMS patients than the participants in the control group (p=0.021,p=0.007,respectively). Compared to the TT+TC genotypes, the CC genotype was found to increase the risk for FMS two fold [p=0.028,OR=2.18, 95% CI (1.07–4.52)]. However, no significant association between the XbaI polymorphism and the risk of FMS was found.

Conclusion: Our results indicate that ESR1 variants possibly play a role in the development of FMS. There is a need to carry out further studies that support our findings.

Hasta ve kontrollerde ESR1 PvuII ve XbaI polimorfizmlerinin genotipi ve alel frekansları

Polimorfizm	Hasta n=100 n (%)	Kontrol n=119 n (%)	P	OR (CI %95)
ESR1 PvuII 397T>C				
Genotipler				
TT	22 (22,0)	43 (36,1)	0,021	
TC	54 (54,0)	61 (51,3)		
CC	24 (24,0)	15 (12,6)		
TT: TC+CC	22 (22,0): 78 (78,0)	43 (36,1): 76 (63,9)	0,022	2,00 (1,09- 3,70)
TT+TC: CC	76 (76,0): 24 (24,0)	104 (87,4): 15 (12,6)	0,028	2,18 (1,07- 4,52)
Aleller				
T	98 (49,0)	147 (61,7)	0,007	1,67 (1,14- 2,46)
C	102 (51,0)	91 (38,2)		
ESR1 XbaI 351A>G				
Genotipler				
AA	45 (45,0)	48 (40,3)	0,298	
AG	48 (48,0)	67 (56,3)		
GG	7 (7,0)	4 (3,4)		
AA: AG+GG	45 (45,0): 55 (55,0)	48 (40,3): 115 (96,6)	0,486	0,82 (0,48- 1,41)
AA+AG: GG	93 (93,0): 7 (7,0)	115 (96,6): 4 (3,4)	0,219	2,15 (0,60- 8,63)
Aleller				
A	138 (69,0)	163 (68,4)	0.908	0.97(0.64- 1.46)
G	62 (31,0)	75 (31,51)		
OR, odds ratio;	CI, confidence interval			

Tablo 1'de FMS'li hasta ve kontrol grubunda ESR1 geni PvuII ve XbaI polimorfizmlerinin genotip ve allel sıklıkları verilmiştir. ESR1 PvuII TT, TC ve CC genotipleri, kontrol grubunda sırasıyla % 36,1, % 51,3 ve % 12,6 ve FMS hastalarında sırasıyla % 22,0, % 54,0 ve % 24,0 olarak gözlenmiştir. PvuII C allelinin (OR = 1,67; % 95 GA 1.14-2.46; p = 0.007) FMS ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. ESR1 XbaI AA, AG ve GG genotipleri, kontrol grubunda sırasıyla %40,3, % 56,3 ve % 3,4'ünde ve FMS hastalarının sırasıyla % 45,0, % 48,0 ve % 7,0'ında gözlenmiştir. Lojistik regresyon analizi, XbaI genotip dağılımı ve alel frekansları bakımından hastalar ile kontrol grubu arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını göstermiştir (p = 0,298) (p = 0.908).

Genotype and allele frequencies of ESR1 PvuII and XbaI polymorphisms in patients and controls

Polymorphism	Patients (n=100) n (%)	Control (n=119) n (%)	P	OR (CI 95%)
ESR1 PvuII 397T>C				
Genotypes				
TT	22 (22.0)	43 (36.1)	0.021	
TC	54 (54.0)	61 (51.3)		
CC	24 (24.0)	15 (12.6)		
TT: TC+CC	22 (22.0): 78 (78.0)	43 (36.1): 76 (63.9)	0.022	2.00 (1.09- 3.70)
TT+TC: CC	76 (76.0): 24 (24.0)	104 (87.4): 15 (12.6)	0.028	2.18 (1.07- 4.52)
Alleles				
T	98 (49.0)	147 (61.7)	0.007	1.67 (1.14- 2.46)
C	102 (51.0)	91 (38.2)		
ESR1 XbaI 351A>G				
Genotypes				
AA	45 (45.0)	48 (40.3)	0.298	
AG	48 (48.0)	67 (56.3)		
GG	7 (7.0)	4 (3.4)		
AA: AG+GG	45 (45.0): 55 (55.0)	48 (40.3): 115 (96.6)	0.486	0.82 (0.48- 1.41)
AA+AG: GG	93 (93.0): 7 (7.0)	115 (96.6): 4 (3.4)	0.219	2.15 (0.60- 8.63)
Alleles				
A	138 (69.0)	163 (68.4)	0.908	0.97(0.64- 1.46)
G	62 (31.0)	75 (31.51)		
OR, odds ratio;	CI, confidence interval			

The genotype and allele frequencies of the PvuII and XbaI ESR1 polymorphisms in the two groups are shown in Table 1. The ESR1 PvuII genotypes TT, TC, and CC were observed in respectively 36.1, 51.3, and 12.6% of the control subjects and in respectively 22.0, 54.0, and 24.0% of FMS patients. There was statistically significant association of the PvuII C allele (OR = 1.67; 95 % CI 1.14–2.46; $p = 0.007$) with FMS. The AA, AG, and GG genotypes of the ESR1 XbaI polymorphism were observed in 40.3, 56.3, and 3.4% of control subjects and in 45.0, 48.0 and 7.0% of patients, respectively. Logistic regression analysis showed that there was no significant association between patients and control group with regard to genotype distribution and allele frequencies of XbaI ($p=0.298$) ($p=0.908$).

Comparing Demographical, Clinical, Radiological and Systemical Findings Between HLA-B27 Positive and Negative Patients with Ankylosing Spondilit

	HLA-B27 Pozitif n=50	HLA B27 Negatif n=50	TOPLAM n=100
AS Başlangıç Yaşı	50(ort:28.22)	50(ort:31.06)	100(ort:29.64)
AS Tanı Yaşı	50(ort:32.82)	50(ort:36.04)	100(ort:34.43)
AS Başlangıç ve Tanı Yaşı Arasındaki Süre(Yıl)	50(ort:3.92)	50(ort:4.96)	100(ort:4.44)
Cinsiyet (Erkek/Kadın)	50(35/15)	50(27/23)	100(62/38)
İnflamatuvar Bel Ağrısı	44(%88)	46(%92)	90(%90)
Sabah Tutukluğu	43(%86 - ort:54.44 dk)	41(%82 - ort:56.41 dk)	84(%84 - ort:55.40 dk)
Periferik Artrit	14(%28)	5(%10)	19(%19)
Omuz Ağrısı	13(%26)	7(%14)	20(%20)
Kalça Ağrısı	32(%64)	36(%72)	68(%68)
Topuk Ağrısı	22(%44)	20(%40)	42(%42)
Alt-Üst Ekstremitte Ağrısı	25(%50)	21(%42)	46(%46)
Sırt Ağrısı	21(%42)	12(%24)	33(%33)
Boyun Ağrısı	25(%50)	16(%32)	41(%41)
Göğüs Ağrısı	2(%4)	3(%6)	6(%6)
Topuk Dikeni	4(%8)	5(%10)	9(%9)
Entezit	3(%6)	4(%8)	7(%7)
Lomber Lordoz	14(%28)	18(%36)	32(%32)
Servikal Lordoz	6(%12)	8(%16)	14(%14)
Torakal Kifoz	2(%4)	1(%2)	3(%3)
Osteoporoz	3(%6)	2(%4)	5(%5)
Aşıl Tendinit	3(%6)	3(%6)	6(%6)
Üveit	13(%26)	6(%12)	19(%19)
Böbrek Tutulumu	3(%6)	4(%8)	7(%7)
Akciğer Tutulumu	8(%16)	8(%16)	16(%16)
Kardiyovasküler Tutulum	4(%8)	5(%10)	9(%9)
Gastrointestinal Tutulum	12(%24)	9(%18)	21(%21)
Nörolojik Tutulum	1(%2)	1(%2)	2(%2)

AS: Ankilozan Spondilit

	HLA-B27 Positive n=50	HLA-B27 Negative n=50	TOTAL n=100
Age of Onset of AS	50(ort:28.22)	50(ort:31.06)	100(ort:29.64)
Age of Diagnosis of AS	50(ort:32.82)	50(ort:36.04)	100(ort:34.43)
Duration(Year) Between Onset and Diagnosis Age	50(ort:3.92)	50(ort:4.96)	100(ort:4.44)
Gender (Male/Female)	50(35/15)	50(27/23)	100(62/38)
Inflammatory Low Back Pain	44(%88)	46(%92)	90(%90)
Morning Stiffness	43(%86 - ort:54.44 dk)	41(%82 - ort:56.41 dk)	84(%84 - ort:55.40 dk)
Peripheral Arthritis	14(%28)	5(%10)	19(%19)
Shoulder Pain	13(%26)	7(%14)	20(%20)
Gluteal Pain	32(%64)	36(%72)	68(%68)
Heel pain	22(%44)	20(%40)	42(%42)
Lower-Upper Extremity Pain	25(%50)	21(%42)	46(%46)
Back Pain	21(%42)	12(%24)	33(%66)
Neck Pain	25(%50)	16(%32)	41(%41)
Chest Pain	2(%4)	3(%6)	6(%6)
Plantar Fasciitis	4(%8)	5(%10)	9(%9)
Enthesitis	3(%6)	4(%8)	7(%7)
Lumbar Lordosis	14(%28)	18(%36)	32(%32)
Cervical Lordosis	6(%12)	8(%16)	14(%28)
Thoracic Kyphosis	2(%4)	1(%2)	3(%3)
Osteoporosis	3(%6)	2(%4)	5(%5)
Achilles Tendinitis	3(%6)	3(%6)	6(%6)
Uveitis	13(%26)	6(%12)	19(%19)
Renal Involvement	3(%6)	4(%8)	7(%7)
Pulmonary Involvement	8(%16)	8(%16)	16(%16)
Cardiovascular Involvement	4(%8)	5(%10)	9(%9)
Gastrointestinal Involvement	12(%24)	9(%18)	21(%21)
Neurological Involvement	1(%2)	1(%2)	2(%2)

AS: Ankylosing Spondilit

PS - 018

Bir köpek ırkında vücut ağırlığı ve fruktosamin seviyeleri için genom tabanlı pleiotropik inceleme

Burak Karacaören

Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Antalya, Türkiye

Amaç: Genom tabanlı ilişki analizleri (GTİÇ) kantitatif verimler ile ilgili genleri bulmak için sıklıkla kullanılmaktadır. Farklı karakterler arasındaki ilişki: pleiotropik genlerce açıklanabilir.

Gereç-Yöntem: Forsberg ve ark (2015) 501 adet farklı köpek ırklarından vücut ağırlığı ve fruktosamin seviyelerini toplamıştır. Bu verisetinden 118 adet Belçika çoban köpeği pleiotropik GTİÇ için örnekledi. Bireyler 170.000 adet Tekil Nükleotid Polimorfizm (TNP) genotiplenmiştir. Çağırmı oranı 0.90'dan ve minor alel sıklığı 0.01'den düşük TNP'ler veri setinden uzaklaştırıldı. Bu uzaklaştırmalardan sonra GTİÇ için 126.027 TNP kaldı.

Bulgular: Pleiotropik model bu iki fenotip için 45 ve 68 adet TNP'yi birinci ve ikinci temel bileşenler üzerinden tespit etti (Tablo 1). Forsberg ve ark (2015) her iki fenotip için 3. kromozom (bazıftı: 65209415) ve 5. kromozom (bazıftı: 66620365)'dan lokuslar bulmuşlardır. Bizim sonuçlarımız da genom'da farklı bölgelerden genomik sinyaller belirledi (Tablo 1).

Pleiotropik model: pleiotropik varyantları birinci ve ikinci temel bileşenler ile hesapladı. Bu temel bileşenlerini açıklama oranları sırası ile 0.570 ve 0.430 olarak bulundu. İlginç bir sonuç olarak: etki büyüklüklerinin bu temel bileşen numaraları ile ilişkili olduğu gözlemlendi (Tablo 1). Dolayısı ile yüksek açıklama gücü olan temel bileşen büyük etkili TNP'leri tespit etti.

Sonuç: Literatürde en çok varyasyon içeren temel bileşenin pleiotropik genleri bulma olasılığının daha yüksek olduğunu bildirmektedir. Bizim pleiotropik modelimiz farklı genetik mimariler için farklı etki büyüklüklü pleiotropik TNP'leri tesbit edebilmektedir.

A genome wide pleiotropic investigation on body weight and fructosamine levels using a dog breed

Burak Karacaören

*Akdeniz University, Faculty of Agriculture, Department of
Animal Science, Antalya, Turkey*

Objective: Genome wide association studies (GWASs) commonly used to search for genetic variants associated with quantitative traits. Pleiotropic effect of genes may lead to the observed relations among different characters.

Materials-Methods: Forsberg et al., (2015) collected body weight and fructosamine levels of 501 dogs from various breeds. We selected 118 Belgian Sheppard samples for the pleiotropic GWAS. Individuals genotyped using 170.000 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs). SNPs were removed from the data if the call rate are < 90%, minor allele frequency are < 1 %. Finally a total of 126027 SNPs were collected for the GWAS.

Results: For the two traits pleiotropic model (PM) detected 45 and 68 SNPs Table 1). Forsberg et al (2015) provided the identified loci for the both traits from the chromosome 3 (basepair: 65209415) and chromosome 5 (base pair: 66620365).

PM estimate the number of pleiotropic variants using first and second principal components. Explanatory proportions were 0.570 and 0.430 for first and second principal components respectively. Interestingly, the effect sizes are biased related with the principal component number (Table 1). That is the principal component with highest explanatory proportion lead to stronger SNP effects sizes.

Conclusion: The literature also noted that the most variable principal component had higher change to detect pleiotropic genes. Our PM might be useful to investigate pleiotropic GWAS regarding various SNP effects and genetic architectures.

Table 1: Summary of identified pleiotropic loci from chromosomes 3 and 5.

PRINCIPAL COMPONENT	SNP ID	CHR	POSITION	EFFECT SIZE
1	BICF2P727196	5	43103765	0.000285
1	BICF2G630706494	3	33689223	0.000147
1	BICF2P636424	3	79306893	0.000134
1	BICF2S244469	5	82879867	8.89E-05
1	BICF2G630359134	3	91678586	8.72E-05
1	BICF2G630106463	3	36150674	8.56E-05
1	BICF2G630107107	3	37228125	3.53E-05
1	BICF2P878980	5	18524144	2.56E-05
2	BICF2P525577	3	82812087	2.47E-05
2	BICF2P444717	5	13552002	1.93E-05

PS - 019

Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) tanısı alan olgularda C9orf72, SOD1, TARDBP, FUS ve UBQLN 2 gen mutasyonlarının araştırılması

Vildan Çiftçi¹, Türker Bilgen², Şule Darbaş¹, Yunus Arıkan¹, Hilmi Uysal³, Sibel Berker Karaüzüm¹

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Antalya

²Namık Kemal Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Tekirdağ

³*Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Ana Bilim Dalı, Antalya*

Amaç: Ailesel (fALS) ve sporadik (sALS) ALS tanısı alan olgularda literatürde en sık gözlenen C9orf72, SOD1, TARDBP, FUS ve UBQLN2 genlerinde mutasyon olup olmadığının ve belirlenen mutasyonun sıklığının saptanması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: 14 ailesel ve 18 sporadik olmak üzere toplam 32 ALS olgusunun periferik kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. C9orf72 geni triplet-primer PZR yöntemiyle çoğaltılarak fragman analizi yöntemi ile hekzanükleotid tekrar sayısı artışına bakılmıştır. SOD1, TARDBP, FUS ve UBQLN2 genlerinin kodlayan tüm dizileri DNA dizi analizi yöntemiyle taranmıştır.

Bulgar: C9orf72 geninin birinci intronunda 2 sALS'de heterozigot formda c.-45+162_-45+163insGGGGCC değişimi; SOD1 geninin birinci intronunda 2 fALS ve 5 sALS'de heterozigot, 1 sALS'de homozigot c.72+133C>T değişimi; SOD1 geninin ikinci intronunda ilk kez bu çalışmada saptanan c.169+41C>A değişimi 1 fALS'de heterozigot; SOD1 geninin üçüncü intronunda 3 fALS'de heterozigot c.239+34A>C değişimi; TARDBP geninin beşinci intronunda 6 sALS'de homozigot formda c.714+67_714+68insG değişimi tespit edilmiştir. FUS genine ait mutasyon taramasında üçüncü ekzonda 3 sALS'de heterozigot formda c.147C>A; dördüncü ekzonda ise 5 fALS ve 8 sALS'de heterozigot, 4 fALS ve 8 sALS'de homozigot c.288C>T; on birinci intronunda 3 sALS ve 1 fALS'de heterozigot formda yeni c.1067-61T>C değişimleri belirlenmiştir. UBQLN2 geninde 1 sALS'de yeni c.1371G>C değişimi heterozigot formda saptanmıştır.

Sonuç: 32 olguda bilinen patojenik mutasyon olarak %6 oranında C9orf72 hekzanükleotid tekrar sayısında artış gözlenmiştir. İlk kez bu çalışmada üç yeni genomik değişim saptanmıştır. Bu değişimlerin klinik önemi henüz bilinmemektedir. FUS geninde belirlenen varyasyonun tüm olgularda gözlenmesi bu genin oldukça polimorfik olduğunu desteklemektedir.

C9orf72, SOD1, TARDBP, FUS and UBQLN2 gene mutations screening in patients who diagnosed with Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)

Vildan Çiftçi¹, Türker Bilgen², Şule Darbaş¹, Yunus Arıkan¹, Hilmi Uysal³, Sibel Berker Karaüzüm¹

¹Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Antalya

²Namık Kemal University, Health High School, Department of Nutrition and Dietetic, Tekirdağ

³Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Neurology, Antalya

Objective: The aim of this study is to determine existence and frequency of the mutation in C9orf72, SOD1, TARDBP, FUS and UBQLN2 genes which are frequently observed in familial(fALS) and sporadic(sALS) ALS diagnosed cases.

Materials-Methods: Genomic DNA was isolated from peripheral blood in 14 fALS and 18 sALS. C9orf72 gene expansion was checked by triplet-primer PCR amplification and fragment analysis. All sequences encoding the SOD1, TARDBP, FUS and UBQLN2 genes were screened by DNA sequencing.

Results: In Intron1 of C9orf72 gene in 2 sALS cases c.45+162_-45+163insGGGGCC heterozygote change was detected. In SOD1 gene in 2 fALS and 5 sALS heterozygote and in 1 sALS homozygote c.72+133C>T change in Intron1; in 1 fALS novel c.169+41C>A heterozygote change in Intron2; in 3 fALS c.239+34A>C heterozygote change in Intron3 was detected. In Intron5 of TARDBP gene in 6 cases c.714+67_714+68insG homozygote change was detected. In FUS gene mutation screening revealed c.147C>A change in Exon3 with heterozygosity in 3 sALS, in Exon4 c.288C>T change with heterozygosity in 5 fALS and 8 sALS and with homozygosity in 4 fALS and 8 sALS; also in Intron11 novel c.1067-61T>C heterozygote in 3 sALS and 1 fALS. In UBQLN2 gene 1 sALS novel c.1371G>C heterozygote change was detected.

Conclusion: C9orf72 hexanucleotide repeat expansion was observed 6% in 32 cases as known pathogenic mutation. In this study, three novel changes have been identified. Clinical significance of these changes is not yet known. The existence of variation in FUS gene in all cases supports that this gene is highly polymorphic.

PS - 020

**Bilateral frontoparietal polimikrogriride fenotipik
değişkenlik ile ilişkili GPR56 homozigot nonsense
mutasyonu p.R271***

Tülay Öncü Öner¹, Aycan Ünalp², İlknur Porsuk Doru¹,
Sinem Ağılkaya¹, Handan Gülerüz³, Aydan Saraç⁴, Bekir
Ergüner⁵, Semra Hız Kurul⁶, Sultan Cingöz¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

²Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi, Çocuk Nörolojisi Bölümü, İzmir

³Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Radyolojisi Bilim Dalı, İzmir

⁴TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Genetik Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Kocaeli

⁵TÜBİTAK, İleri Genom ve Biyoenformatik Araştırma Merkezi (İGBAM), BİLGEM, Kocaeli

⁶Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Nörolojisi Bilim Dalı, İzmir

Nöral precursor hücrelerin migrasyonunu düzenleyen GPR56 genindeki homozigot mutasyonlar; beyaz cevher değişiklikleri, beyin sapı ve serebellar tutulumu içeren bilateral frontoparietal polimikrogiri sendromuyla ilişkilidir. Bu çalışmanın amacı, sunulan ailede hastalık fenotipleri ile ilişkili genetik varyasyonu saptamaktır. Çalışma, 3 Türk kardeşi, onların ebeveynlerini ve 100 kontrolü içermektedir. Genomik DNA izolasyonundan sonra, tüm ekzom dizileme yöntemi (indeks hasta için) uygulanmıştır. Ekzom dizilime ile tespit edilen GPR56 genindeki ilgililenen değişiklik (c.811C>T; p.R271*), Sanger dizileme ve amplifiye ürünün spesifik restriksiyon enzim kesimiyle doğrulanmıştır. Ardından Türk kontroller PCR-RFLP tekniğiyle taranmıştır. p.R271* varyantının patojenik etkisini tahmin etmek için biyoinformatik araçlar kullanılmış ve korunmuşluk analizi yapılmıştır. Karaba anne ve babanın, GPR56'da homozigot germline mutasyonu olan (p.R271*) üç çocuğundan indeks hasta detaylı olarak tanımlanmıştır. 100 kontrolde ve 1000 Genom, EVS, dbSNP veritabanlarında ilgili nükleotid değişikliği bulunamamıştır. 271 pozisyonundaki argininin, yüksek oranda korunduğu görülmektedir. "Mutation Taster" programı, mutasyonun protein özelliklerini etkileyebileceğini göstermiştir. Bu değişiklik daha önce sadece bir Portekizli hastada bildirilmiştir, ancak bu hasta ile bizim rapor ettiğimiz hastalar arasında önemli klinik/radyolojik farklılıklar mevcuttur. Daha önce rapor edilen Portekizli hasta sıcak su epilepsisi, makrosefali, serebellar/beyin sapı hipoplazisi, korpus kallozum anomalisi gösterirken; bizim sunduğumuz index hasta ek özellikler olarak sadece beyin sapı hipoplazisi ve sekonder jeneralize nöbete dönüşen parsiyel nöbetler saptanmıştır. Etkilenen iki aile arasındaki p.R271* varyantının ekspresyonundaki farklılığın potansiyel nedeni GPR56'nın ötesinde genetik/epigenetik faktörler olabilir. Mevcut bulgular fenotipik spektrumun GPR56 gen mutasyonlarına göre değişebileceğini; ve GPR56'nın farklı veya aynı mutasyonları ile ilişkili fenotipik spektrumun, polimikrogiri hastalarının ek mutasyon analizlerine dayanarak tanımlanması gerektiğini göstermiştir.

**GPR56 homozygous nonsense mutation
p.R271* associated with phenotypic variability in
bilateral frontoparietal polymicrogyria**

Tülay Öncü Öner¹, Aycan Ünalp², İlknur Porsuk Doru¹,
Sinem Ağıkaya¹, Handan Güleriyüz³, Aydan Saraç⁴, Bekir
Ergüner⁵, Semra Hız Kurul⁶, Sultan Cingöz¹

¹Dokuz Eylul University, School of Medicine, Department of Medical Biology, Izmir

²Dr. Behcet Uz Children's Hospital, Department of Pediatric Neurology, Izmir

³Dokuz Eylul University Medical Faculty, Department of Pediatric Radiology, Izmir

⁴TUBITAK Marmara Research Center, Genetic Engineering and Biotechnology Institute, Kocaeli

⁵TUBITAK, Advanced Genomics and Bioinformatics Research Center (İGBAM), BİLGEM, Kocaeli

⁶Dokuz Eylul University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Neurology, Izmir

Homozygous mutations in GPR56 gene, which regulates migration of neural precursor cells, are associated with bilateral frontoparietal polymicrogyria syndrome including white matter changes, brainstem and cerebellar involvement. Aim of this study was to identify genetic variation associated with disease phenotypes in the family. This study includes 3 Turkish siblings, their parents and 100 controls. After isolation of genomic DNA, whole exome sequencing (for index patient) was performed. The variation of interest in GPR56 (c.811C>T; p.R271*) identified via exome sequencing was confirmed via Sanger sequencing and specific restriction enzyme digestion of amplified PCR product. Then Turkish-controls were screened by PCR-RFLP techniques. Bioinformatic tools and conservation analysis were used to predict pathogenic effect of p.R271* variant. We describe in detail the index patient of three siblings of consanguineous parents with a homozygous germline mutation located in GPR56. The nucleotide change wasn't found in 100 controls and the 1000 Genomes, EVS, dbSNP databases. The arginine at position 271 was highly conserved. "Mutation Taster" showed that protein features might be affected. This nucleotide change was previously reported in only 1 Portuguese patient, but there were important clinical/radiological differences. While earlier reported patient was exhibiting hot water epilepsy, macrocephaly, cerebellar/brainstem hypoplasia, corpus callosum abnormalities, as additional features in index patient presented herein was detected only hypoplasia of brainstem, partial seizures with secondarily generalized. The potential causes of variation in expression of p.R271* variant between two affected families might be genetic/epigenetic factors beyond GPR56. The present findings show that phenotypic spectrum can vary according to GPR56 gene mutations, and the phenotypic spectrum associated with different or same mutations of GPR56 must be defined based on additional mutation analysis of polymicrogyria patients.

Çalışmamız DEU-BAP 2012.KB.SAG.026 numaralı proje ile desteklenmiştir.

PS - 022

Beta talasemi majör hastalarında modifiye Edici *SALL2* geni bağlanma motifinde mutasyon taranması

Tuğba Karaman¹, Yunus Arıkan¹, Türker Bilgen², Erdal Kurtoğlu³, İbrahim Keser¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Ana Bilim Dalı, Antalya

²Namık Kemal Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Beslenme Ve Diyetetik Bölümü, Tekirdağ

³Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Antalya Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Hematoloji Ana Bilim Dalı, Antalya

Amaç: Projemizin amacı; beta talasemi majör (β -TM) hastalarında kromatin yeniden düzenlenmesi ve HbF düzeyini etkileyen, modifiye edici *SALL2* geni bağlanma motiflerindeki mutasyonları taramaktır.

Gereç-Yöntem: Projeimiz, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Adem Tolunay Talasemi ve Kan Hastalıkları Merkezi'ne başvuran, β -TM tanısı konulan, beta-globin gen mutasyonları tanımlanmış HbF'i yüksek 66 ve HbF'i düşük 10 kontrol grubu, toplam 76 hastada gerçekleştirildi. Kandan gDNA izolasyonunu takiben, *SALL2* geni bağlanma motifi bölgeleri özgün primer çiftleri kullanılarak, 3 amplicon olarak PZR ile çoğaltıldı. Sanger DNA dizileme yöntemi ile mutasyonlar tarandı. Elde edilen sonuçlar NCBI (National Center for Biotechnology Information) veritabanına göre analiz edildi.

Bulgular: Çalışılan β -TM 76 hastanın 32'si erkek, 44'ü kadındı. HbF'i yüksek olan hastaların ortalama HbF düzeyleri 10.1 gr/dL idi. Sekiz farklı beta globin gen mutasyonundan en sık gözlenen mutasyon ve genotip sırasıyla; IVS 1.110 (G>A) mutasyonu ve homozigot IVS 1.110 (G>A)/IVS 1.110 (G>A) genotipiydi. Üç PZR ampikonu olarak çalışılan ve HbF'i modifiye eden *SALL2* geninde, D1 ve D3 domainlerde mutasyon bulunmazken, ikinci domainde (D2) rs61746515 (C>T) (g.18721G>A) (Gly744=) değişimi; 63(%95.46) hastada GG, 3(%4.54) hastada GA ve rs1263810 (C>G) (g.18725C>G) (p.Gly 746Arg), tespit edildi. g.18725C>G varyasyonlu toplam 66 hastada; CC, CG, GG genotipleri sırasıyla %9,09, %51,51 ve %39,39 sıklıkta bulundu.

Sonuç: Çalışmamızda, Türk toplumunda ve dünyada HbF'i yüksek olan β -TM hastalarında, *SALL2* geni bağlanma motifinde rs1263810 (C>G) varyasyonu ilk defa gösterildi. Bu varyasyonun, HbF'in düzenlenmesinde ve *SALL2*'in kromatin yeniden düzenlenmesinde önemli olabileceğini, HbF indüksiyonunda diğer transkripsiyon faktörleri *KLF1* ve *BCL11A* ile birlikte incelenmesi gerekmektedir.

Mutation screening in binding motif of *SALL2* gene in the beta thalassemia major patients

Tuğba Karaman¹, Yunus Arıkan¹, Türker Bilgen², Erdal Kurtoğlu³, İbrahim Keser¹

¹Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Antalya, Turkey

²Namik Kemal University, School of Health, Department of Nutrition and Dietetics, Tekirdağ, Turkey

³Health Sciences University, Antalya Education and Research Hospital, Department of Hematology, Antalya, Turkey

Objective: The aim of our project was to screen mutations in the binding motifs of *SALL2* gene that effects on chromatin remodeling and HbF levels in beta thalassemia major (β -TM).

Materials-Methods: Our project was carried out in total of 76 patients with β -TM (high HbF of 66 and low HbF of 10 as controls) who have beta-globin gene mutations. Following isolation of gDNA from blood, binding motifs of *SALL2* gene were amplified as 3 amplicons by PCR using specific primer pairs. Mutations were screened by Sanger Sequencing. Results were analyzed according to NCBI database.

Results: Of 76 β -TM patients (32M and 44F), ranged 18-45 years-old. The mean HbF level of patients with high HbF is 10,1g/dl. Eight different mutations of β -globin gene were found. Most frequent observed mutation and genotype were IVS 1.110(G>A) and homozygous IVS 1.110(G>A), respectively. While there were no mutations in D1 and D3 domains of *SALL2* gene, rs61746515(C>T)(p.Gly=744) was found as GG in 63(95.46%) and GA 3(4.54%) and rs1263810(C>G) variations was found that as CC, CG and GG genotypes were found in 6(9,09%), 34(51,51%) and 26(39,39%) in D2 domain of the 66 patients.

Conclusion: We concluded that rs1263810(C>G)(p.Gly746Arg) variant was detected for the first time in β -TM patients with high HbF in Turkish population and world in binding motifs of *SALL2* gene that may be important in regulation of HbF and chromatin remodeling of *SALL2*. This finding in *SALL2* gene should be examined together with other transcription factors such as *KLF1* and *BCL11A* in HbF induction.

PS - 023

NGS'nin steroid dirençli nefrotik sendromun moleküler sınıflandırılmasındaki yeri

Afig Berdeli, Nihan Bağdatlı, Merve Atan, Demet Tıǧlı
Özkan

*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı, Moleküler Tıp Laboratuvarı, İzmir*

Amaç: NGS, hem temel hem de deneysel araştırmalarda ve aynı zamanda doğuştan gelen genetik hastalıkların tanısı ile klinik alanda rol oynar. NGS böbrek ve idrar yollarının sık görülen hastalıklarının kesin teşhisini ve sınıflandırılmasını da sağlar. İyon yarı iletken sıralama temelli bu sıralama yöntemi, DNA'nın polimerizasyonu sırasında açığa çıkan hidrojen iyonlarının saptanmasına dayanmaktadır.

Bu çalışmada nedefimiz, yirmi genin tüm gen kodlama bölgeleri ve splice mutasyonlarının saptanmasına izin veren tüm intron bölgelerini aynı anda sıralamak suretiyle SRNS genetik teşhisini geliştirmektedir.

Gereç-Yöntem: Otuz iki hasta (15 erkek ve 17 kadın) çalışmaya dahil edildi. Bu hastalar, steroid dirençli nefrotik sendromlu hastalardan seçildi. NGS panelimizde analiz edilen genler NPHS1, NPHS2, NPHS3, NPHS6, WT1, LAMB2, DGKE, ARHGDI, ADCK4, EMP2, COQ2, COQ6, C22AP, ACTN4, CRB2, INF2, PAX2, MYO1E, APOL1 ve TRPC6'dır.

Bulgular: 32 hastada toplam 771 varyant tespit edildi. Bunların 495 varyantı intronik, UTR ve up-down stream olarak; 122 varyantı ekzonik ile splice ve 154 varyant ise düşük kalitede kabul edildi. Saptanan 122 varyant arasından toplam 64 varyanttan 5 tanesi HGMD veritabanında daha önceden bildirilmiş; 59 varyant ise yeni olarak değerlendirildi. Bu 64 varyant içerisinde 8 varyant patojen, 32 varyant olası patojen olarak değerlendirildi. Kalan 24 varyant ise benign olarak kabul edildi.

Sonuç: Genetik olarak çok heterojen bir hastalık grubu olan NS moleküler tanısında hedef NGS başarıyla uygulanabilmektedir.

The Role of NGS in the molecular classification of steroid resistant nephrotic syndrome

Afig Berdeli, Nihan Bağdatlı, Merve Atan, Demet Tıgılı
Özkan

*Ege University Medical Faculty, Department of Pediatrics,
Molecular Medicine Laboratory, İzmir*

Objective: NGS plays a role in both basic and experimental research, but also in the clinical setting, whereby the diagnosis of innate genetic diseases. NGS enables precise diagnosis and classification of common diseases of the kidneys and urinary tract. This sequencing method based on ionic semiconductor sequencing is based on the detection of hydrogen ions that are released during the polymerization of DNA. In this study our target is to improve the genetic diagnosis of SRNS by simultaneously sequencing 20 genes with all gene coding regions and all intron regions that allow splice mutations to be detected.

Materials-Methods: Thirty-two patients (15 males and 17 females) were included in the study. These patients were selected from patients with steroid resistant nephrotic syndrome.

Genes analyzed in our NGS panel are NPHS1, NPHS2, NPHS3, NPHS6, WT1, LAMB2, DGKE, ARHGDI, ADCK4, EMP2, COQ2, COQ6, CD2AP, ACTN4, CRB2, INF2, PAX2, MYO1E, APOL1 and TRPC6

Results: A total of 771 variants were detected in 32 patients. 495 variants of these are as intronic, UTR and down-stream; 122 variants as exonic and splice, 154 variants were considered poor quality. Of the 122 variants, a total of 64 variants were identified, of which 5 were reported in the HGMD database and 59 variants were evaluated as new. Within these 64 variants, 8 variant pathogens were also evaluated, 32 variants were possible pathogens and 24 variants were regarded as benign.

Conclusion: In SRNS molecular diagnosis, which is a genetically heterogeneous disease group, target NGS can be applied successfully.

PS - 024

Gaucher hastalığı: N370S homozigot mutasyon taşıyan bir olgu

Sultan Elkatmış, Nihal Eren, Yeliz Özmay, Can Boğa,
Özgür Kütük

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi

Amaç: Gaucher hastalığı glukoserebrosidaz enzim eksikliği sonucu retiküloendotelial sistem hücrelerinde, özellikle de hepatositler ve makrofajlarda gllukoserebrozid birikimi ile karakterize herediter bir metabolik hastalıktır. Glukoserebrosidaz geni 1q21-31 kromozom lokalizasyonunda yer alır. Klinik olarak hepatosplenomegali, anemi, trombositopeni ve subakut nöropatik tipinde, ataksi, nöbet, periferall nöropati gibi nörolojik bulgulara yol açar.

Olgu: İzole trombositopeni ile başvuran hastanın periferik kan yayma analizi normal sınırlarda bulunmuştur. Hastanın DNA'sı periferik kandan Roche MagnaPure Compact sisteminde izole edilmiş, kantifikasyonu nanodrop ile yapılmıştır. Devamında Gaucher hastalığı açısından Viennalab Gaucher Disease StripAssay kullanılarak moleküler genetik analizi gerçekleştirilmiştir.

Sonuç: Yapılan moleküler Genetik test sonucunda hastada N370S homozigot mutasyon tespit edilmiştir. Enzim replasmanı ve CRISPR-temelli gen tedavisi ile etkin trombotositopeni bulgusu ile karakterize Gaucher hastalığı olgusu sunulmaktadır.

Gaucher disease: A case with a homozygote N370S mutation

Sultan Elkatmış, Nihal Eren, Yeliz Özmay, Can Boğa,
Özgür Kütük

Baskent University School of Medicine

Objective: Gaucher's disease is a hereditary metabolic disease characterized by the accumulation of glucocerebroside in the reticuloendothelial system cells, in particular hepatocytes and macrophages as a result of glucocerebrosidase enzyme deficiency.

Glucocerebrosidase (GBA) gene is localized at chromosome location 1q21-31. Clinically, Gaucher's disease led to hepatosplenomegaly, anemia, thrombocytopenia and ataxia, seizure, peripheral neuropathy in subacute neuropathic type.

Case: The patient admitted to the hospital with isolated thrombocytopenia and her peripheral blood smear analyses was found to be normal. The patient's DNA was isolated from the peripheral blood using Roche MagNA Pure Compact System and the quantification was made by using Nanodrop. Molecular genetic analysis was performed by using the ViennaLab Gaucher's Disease StripAssay.

Conclusion: Homozygous N370S mutation was found as the result of the molecular genetic test. Here we present a case with isolated thrombocytopenia diagnoses as Gaucher's disease, which can be treated with enzyme replacement and CRISPR-based gene therapy.

PS - 025

Lucilia sericata'nın proteom düzeyinde atılım/salgılama ürünlerinin analizi

**Fatma Kübra Tombultürk^{1,2}, Murat Kasap³, Erdal Polat⁴,
Serhat Sirekbasan⁴, Serhat Sirekbasan⁵, Gönül Kanıgür¹**

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

²Tıbbi Laboratuvar Teknikleri, Sağlık Hizmetleri Meslek
Yüksekokulu, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

³Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı/Proteomiks Laboratuvarı, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kocaeli, Türkiye

⁴Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

⁵Biyoterapi Araştırma ve Geliştirme Laboratuvarı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Amaç: *Lucilia sericata* larvaları günümüzde yaraların iyileşme sürecinde tıbbi kurtçuklar olarak başarılı bir şekilde kullanılmaktadır ve yaraları etkin bir şekilde parçalamaya çalıştığı gösterilmiştir. Ancak ES ürünlerinin altında yatan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu analiz, moleküler seviyede ES katkısını anlamak için *L.sericata* proteom içeriğini gözlemlemek amacıyla araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: Protein konsantrasyonu Bradford protein testi kullanılarak ölçüldü ve 2DE jel elektroforezi uygulandı. Görüntü, PD Quest Advanced yazılımı ile analiz edildi. Noktalar otomatik Nokta Kesme Aleti, ExQuest spot kesici kullanılarak kesildi. Protein tanımlama deneyleri, ABSCIEX MALDI-TOF / TOF5800 sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. En yoğun veriler, MASCOT ile bir acıklık yazılımı olan Protein Pilot (ABSCIEX) kullanılarak analiz edilmiştir. Yalnızca MASCOT olasılık analizi ($p < 0.05$) tarafından tanımlanan anlamlı vuruşlar kabul edildi.

Bulgular: 3 ila 10 pH aralığında büyük boy jöleler kullanan ES analizimiz, en az 400 protein lekesinin varlığını ortaya koymuştur. Burada, iyon skorlu peptit üreten protein isabetlerini rapor ediyyoruz. MASCOT aramasından sonra isimlendirilen beş protein vardı.

Sonuç: Maggot atılım ürünleri, dezenfeksiyon, debridman ve yara iyileşmesinin hızlandırılmasını destekleyen birçok farklı proteaz içermektedir. Koagülasyonun konakçı temas faz / iç yolunu aktive ederek *L. sericata* kymotripsin benzeri serin proteaz, yara iyileştirme uygulamaları için topikal ilaçların geliştirilmesi için ideal bir aday gibi görünmektedir. Burada, MASCOT aramasından sonra beş protein rapor ediyoruz; yağ açıl-CoA, 60s ribozomal protein büyük altbirimi (RPL22), Peritrofin (38kDa larval protein), Golgi kompleks subunit-2 (COG-2), Nipped-B. Bu bulgular, ES protein içeriğinin aydınlatılmasının yara iyileşmesini tetikleyen moleküler mekanizmaları anlamak için önemli olabileceğini göstermektedir.

Analysis of excretion/secretion products of *Lucilia sericata* at the proteome level

Fatma Kübra Tombultürk^{1,2}, Murat Kasap³, Erdal Polat⁴,
Serhat Sirekbasan⁴, Serhat Sirekbasan⁵, Gönül Kanıgür¹

¹Department of Medical Biology, Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul, Turkey

²Medical Laboratory Techniques, Vocational School of Health Services, Istinye University, Turkey

³Department of Medical Biology/Proteomics Laboratory, Kocaeli University Medical Faculty, Kocaeli, Turkey

⁴Department of Medical Microbiology, Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul, Turkey

⁵Department of Biotherapy Research and Development Laboratory, Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul, Turkey

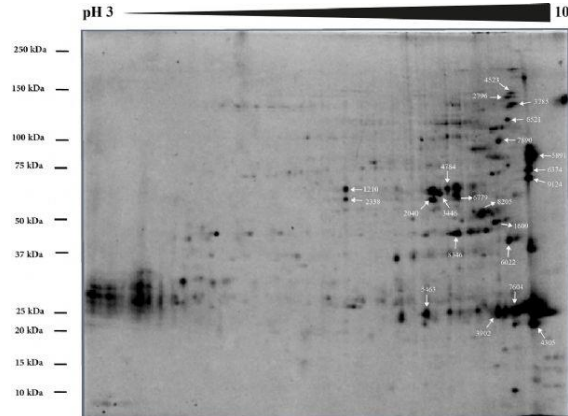
Objective: *Lucilia sericata* larvae have been successfully used as medical maggots in the healing process of wounds nowadays and shown to efficiently debride wounds is reported. But the molecular mechanisms underlying excretion/secretion(ES) products are not yet completely unknown. These analysis was investigated to observe the proteome content of *L.sericata* secretome to understand ES contribution at the molecular level.

Materials-Methods: Protein concentration was measured using Bradford protein assay and 2DE gel electrophoresis was performed. The image was analyzed with PD Quest Advanced software. The spots were cut using automated spot cutting tool, ExQuest spot cutter. Protein identification experiments were performed by using ABSCIEX MALDI-TOF/TOF5800 system. Peak data were analyzed with MASCOT by using a streamline software, Protein Pilot(ABSCIEX). Only significant hits, as defined by the MASCOT probability analysis ($p < 0.05$) were accepted.

Results: Our analysis of the ES using large size gels within a pH range of 3 to 10 revealed the presence of at least 400 protein spots. Here we report the protein hits, which produced peptides with ion scores. There were five proteins that were named after the MASCOT search.

Conclusion: Maggot excretion products contain many different proteases that promote disinfection, debridement and the acceleration of wound healing, e.g. by activating the host contact phase/intrinsic pathway of coagulation. *L. sericata* chymotrypsin-like serine protease appears to be an ideal candidate for the development of topical drugs for wound healing applications. Here we report five proteins; fatty acyl-CoA, 60s ribosomal protein large subunit (RPL22), Peritrophin (38kDa larval protein), Golgi complex subunit-2 (COG-2), Nipped-B after the MASCOT search. These findings indicate that elucidation of the protein content of ES, may be important to understand the molecular mechanisms that trigger the wound healing.

ES ürününün 2DE jel elektroforezi. 2DE gel electrophoresis of ES.



PS - 026

Monogenik Otoinflamatuvar hastalıkların moleküler tanısında NGS'nin yeri

Afig Berdeli, Nihan Bağdatlı, Merve Atan, Demet Tıgla
Özkan

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı, Moleküler Tıp Laboratuvarı, İzmir

Amacı: Son yıllarda geliştirilen yeni nesil DNA dizileme sistemleriyle yüksek doğrulukla, hızlı olarak, dizileme yapılabilmektedir. DNA fragmanlarının klonlanması ihtiyacını ortadan kaldırarak, amplifiye edilmiş tek DNA fragmanlarından gelen dizi verisinin belirlenmesini sağlamaktadır. Bu çalışmada amacımız NGS yöntemleriyle otoinflamatuvar hastalıkların moleküler tanısını geliştirmektir.

Gereç-Yöntem: Bu çalışma yarı-iletken ion geçirgenliği temeline dayalı masif paralel dizileme yapan ion torent PGM sisteminde yapılmıştır. Hedef genomik zenginleştirme (genomic enrichment) yaklaşımı uygulanmıştır. 16 genin tüm gen kodlayan bölgeleri ve splice mutasyonları tespit etmeye imkan veren tüm intron bölgeleri dizilemeye dahil edilmiştir. Yeni Nesil Dizileme panelinde analiz edilen genler NLRP3, PSMB8, IL1RN, NLRP12, NLRCA, TNFRSF1A, MEFV, MVK, PSTPIP1, PLCG2, CARD8, NOD2, CASP1, CASP10, CASP3, SLC29A3 dır.Çalışmaya 50 hasta (22 erkek-28 kadın) alınmıştır. Bu hastalar çeşitli otoinflamatuvar semptomları bulunan hastalardan seçilmiştir.

Bulgular: Tüm verilerin değerlendirilmesi sonucunda benzersiz varyant 438 olarak saptandı. Bu varyantların 29 tanesi düşük kalitede olduğu için değerlendirmeye alınmadı. 409 varyantın 169 tanesi exonic, 2 tanesi splice, 238 tanesi intronik, utr, downstream, upstream bölgelerinde saptandı. Örneklerden elde edilen verilerin

analizi sonucunda ortalama 3,063,474 total okuma, 705 total baz, 251 bp, %73 chip yükleme, %99 Enrichment, %75 clonal, %90 Final library elde edilmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak otoinflamatuar hastalıkların moleküler tanısında hedef NGS başarıyla uygulanabilmektedir.

The Role of NGS in the molecular diagnosis of Monogenic Autoinflammatory diseases

Afig Berdeli, Nihan Bağdatlı, Merve Atan, Demet Tıgılı
Özkan

*Ege University Medical Faculty, Department of Pediatrics,
Molecular Medicine Laboratory, İzmir*

Objective: With the new generation DNA sequencing systems developed in recent years, it is possible to carry out sequencing with high accuracy and speed. This allows the identification of sequence data coming from single amplified DNA fragments, eliminating the need for cloning of DNA fragments. Our aim in this study is to improve the molecular diagnosis of autoinflammatory diseases by NGS method.

Materials-Methods: This work was carried out in a massively parallel sequential ion torrent PGM system based on semi-conductor ion permeability. The target genomic enrichment approach has been applied. All genome-coding regions and all intron regions allowing splice mutations to be detected of 16 genes are included in the sequence. Genes analyzed in the next generation scanning panel: NLRP3, PSMB8, IL1RN, NLRP12, NLRC4, TNFRSF1A, MEFV, MVK, PSTPIP1, PLCG2, CARD8, NOD2, CASP1, CASP10, CASP3, SLC29A3. Fifty patients (22 males-28 females) were recruited to study. These patients were selected from patients with various autoinflammatory symptoms.

Results: As a result of evaluation of all the data, the unique variant was identified as 438. 29 of these variants were not evaluated because they were of low quality. Of the 409 variants, 169 were exonic, 2 were splice and 238 were intronic, utr, downstream, and upstream. As a result of the analysis of the samples obtained from the samples, a total of 3,063,474 total readings, 705 total bases, 251 bp, 73% chip loading, 99% enrichment, 75% clonal, 90% final library were obtained.

Conclusion: In the molecular diagnosis of autoinflammatory diseases, the target NGS can be successfully applied.

PS - 028

**Herediter Hemakromatozis hastalığı: H63D
homozigot mutasyon taşıyan bir olgu**

Nihal Eren, Sultan Elkatmış, Yeliz Özmay, Can Boğa,
Özgür Kütük

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi

Amaç: Hereditör Hemokromatozis (HH) başlıca karaciğer, endokrin sistemi organları, eklem ve kalp tutulumu görülen, organlarda ilerleyici demir birikimine bağlı otozomal resesif geçişli bir demir metabolizma hastalığıdır. HFE geni moleküler genetik düzeyinde 6p21.3 pozisyonunda, HLA-A lokusunda lokalizedir. Dolaşımdaki demir transferrin'e bağlanır ve diferrik transferrin'i ortaya çıkarır. Diferrik transferring hepatositlerin basolateral yüzeyinde transferrin reseptörüne bağlanarak içeri alınır. HFE Transferrin reseptörü ile protein-protein ilişkisine girer ve transferrin reseptörünün diferrik transferrin'e bağlanmasını baskılar. HFE geninde 845. nükleotid G/A değişimi neticesinde C282Y, 197. nükleotid G/C değişimi neticesinde H63D ve 197. nükleotid G/C değişimi neticesinde S65C mutasyonları sıklıkla görülen mutasyonlardır. Penetransı en yüksek olan mutasyon C282Y'dir, H63D ve S65C mutasyonları hafif şiddette hastalık ya da tamamen asemptomatik olarak görülebilir.

Olgu: Üşüme ve terleme şikayeti ile kliniğimize başvuran hastanın demir, serbest demir bağlama kapasitesi, total demir bağlama kapasitesi ve transferin saturasyon değerleri normal sınırlarda bulunmuş, ancak ferritin konsantrasyonu 713.60 ng/mL olarak eşik değerlerin üzerinde tespit edilmiştir. Hastanın DNA'sı periferik kandan Roche MagNA Pure Compact sisteminde izole edilmiş, kantifikasyonu nanodrop ile yapılmıştır. Devamında HH hastalığı açısından ViennaLab Hereditary Hemochromatosis StripAssay kullanılarak moleküler genetik analizi gerçekleştirilmiştir.

Sonuç: Yapılan moleküler genetik test sonucunda hastada H63D homozigot mutasyon tespit edilmiştir. Karaciğerde fibrotik değişiklikler öncesinde profilaktik flebotomi ile normal sağkalım sağlanabilen HH hastalığı teşhisi alan hastaya genetik danışma önerilmiş ve diğer aile bireylerinin taranması planlanmıştır.

Hereditary Hemachromatosis: A case with H63D homozygous mutation

Nihal Eren, Sultan Elkatmış, Yeliz Özmay, Can Boğa,
Özgür Kütük

Baskent University School of Medicine

Objective: Hereditary hemochromatosis (HH) is an autosomal recessive iron metabolism disorder that primarily affects liver, endocrine system, joints and heart along with progressive accumulation of iron. HFE gene is localized at 6p21.3 chromosomal position within HLA-A locus. Iron binds to transferrin in circulation, forming diferric transferrin, released from transferrin following binding with the transferrin receptor. HFE binds to the transferrin receptor and the iron is carried into the cell. Mutations of HFE gene involve G/A mutation at nucleotide 845, C282Y, G/C substitution at nucleotide 197, H63D and A/T mutation at nucleotide 193, S65C. The most penetrant of these mutations is C282Y defect although H63D and S65C mutations result in mild disease or no clinical consequences.

Case: The patient admitted to our clinic with symptoms of shivering and sweating. His iron levels, free iron BC total iron BC and transferrin saturation results were found to be normal. Notably, ferritin concentration was found to be 713.60 ng/mL above normal threshold. The patient's DNA was isolated from the peripheral blood using Roche MagNA Pure Compact System and the quantification was made by using Nanodrop. Molecular genetic analysis was performed by using the ViennaLab Hereditary Hemachromatosis Disease StripAssay.

Conclusion: Homozygous N370S mutation was found as the result of the molecular genetic test. Prophylactic phlebotomy is an effective therapeutic approach for the treatment of HH in patients without fibrotic alterations in the liver. Thus, patient was advised to obtain genetic counseling and screening for close family members was planned.

PS - 029

Oral antidiyabetik metforminin hepatosellüler kanser hücreleri üzerine etkisi

Ayla Solmaz Avcıkurt, Nevin Erensoy

Balikesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Balikesir

Amaç: Oral antidiyabetik Metforminin insan karaciğer kanseri hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi incelenmesi.
Gereç-Yöntem: Oral antidiyabetikler Diabetes mellitus tedavisinde oldukça sık tercih edilirler. Metformin oral antidiyabetikler içinde en çok tercih edilen ilaçlardan biridir. Çalışmada Hepatosellüler kanser hücre hattı(Hep3B) kullanıldı. Metforminin sitotoksik etkisi karaciğer kanseri hücre hattına(Hep3B) 6, 24 ve 48 saatlerde, 0.5-10 mM arasında değişen 4 farklı dozda uygulanarak gerçekleştirildi. Hücre proliferasyonu zerinde etkinin gözlenmesi için MTT testi uygulandı. Sonuçlar istatistiksel olarak analiz edilerek yorumlandı.
Bulgular: Metforminin doza ve zamana spesifik hücre proliferasyonu üzerine etkisi belirlendi. Hep3B hücre hattında 6 ve 48 saatlerde kontrol grubuna göre herhangi bir etki görülmezken, 24 saatte 5 mM ve 10Mm dozlarda proliferasyonda azalış görüldü. Diğer saat ve dozlarda metforminin karaciğer kanseri hücre hattı üzerine istatistiksel olarak etkisi olmadığı gösterildi.
Sonuç: Metforminin 24 saatte, 5 mM ve 10 mM dozlarda karaciğer kanseri hücre hattı(Hep3B) üzerinde hücre proliferasyonunu istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığı gözlemlendi.

The Effect of oral antidiabetic metformin on hepatocellular carcinoma cells

Ayla Solmaz Avcıkurt, Nevin Erensoy

Balikesir University Medical Faculty, Medical Biology Department, Balikesir

Objective: To investigate the cytotoxic effect of oral antidiabetic metformin on human liver cancer cells.
Materials-Methods: Oral antidiabetics are preferred frequently in the treatment of diabetes mellitus. Metformin is one of the most preferred drugs in oral antidiabetics. Hepatocellular carcinoma cell line (Hep3B) was used in the study. The cytotoxic effect of metformin was achieved in 4 different doses ranging from 0.5 to 10 mM at 6, 24 and 48 hours on hepatocellular carcinoma cell line (Hep3B). MTT test was performed to observe the effect on cell proliferation. The results were interpreted statistically.
Results: The effect of metformin on dosing and time-specific cell proliferation was determined. While no effect was observed in the Hep3B cell line at 6 and 48 hours compared to the control group, there was a proliferation decrease at 5 mM and 10 mM doses at 24 hours. At other hours and doses, metformin was shown to have no statistical effect on liver cancer cell line.
Conclusion: Metformin decreased cell proliferation on hepatocellular carcinoma cell line (Hep3B) at 24 h, 5 mM and 10 mM doses.

PS - 030

SLCO2A1 mutasyonuna bağlı gelişen ve yüksek inflamasyon yanıtı ile juvenil idiyopatik artriti taklit eden pakidermoperiostoz vakaları

Sema Sırma Ekmekci¹, Neslihan Abacı¹, Melda Sarıman¹,
Zeliha Emrence¹, Burcu Salman¹, Ferda Paçal¹, Aris
Çakiris¹, Ahmet Gül²

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

²*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

Amaç: Otoinflatuar hastalıklar görünür bir neden olmadan otoreaktif T hücreleri ve otoantikorlar olmaksızın doğal immün sistemin patolojik aktivasyonu sonucu ortaya çıkan hastalık grubudur. Bu çalışmada tanımlanamayan kalıtsal otoinflatuar hastalığı olan iki hasta çocuk ve ebeynlerinde patogeneizde rolü olabilecek aday genlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Tüm ekzom dizileme yöntemi kullanılmıştır. İncelenen ve akraba evliliği olmayan ailelerden birisinde, iki kardeşte otoinflatuar bulgularla birlikte pakidermoperiostoz (çomak parmak, pakiderma, cutis verticis gyrate periost reaksiyonları, artrit) bulguları mevcuttur.

Bulgular: Eksom dizilemesi sonrasında, verilerin otozomal resesif paterne göre yapılan incelemesi ile 3. kromozomda bulunan prostoglandin transporter kodlayan *SLCO2A1* geninin 11. eksonunda CT delesyonu (c.1302_1303delCT) saptandı. Bu delesyon ailede resesif kalıtım modeline uygun olarak iki etkilenmiş bireyde homozigot, ebeveynlerde ise heterozigot olarak bulundu.

Sonuç: Pakidermoperiostozlu (PDP) hastalarda hastalıklı ilişkili iki genden biri olan SLCO2A1 geninde homozigot mutasyonların olduğu gösterilmiştir. SLCO2A1 genindeki saptamış olduğumuz delesyon proteinin 436. kodonunda çerçeve kayması oluşturmakta, protein sentezi 65 amino asid sonrasında sonlanmakta ve bunun sonucunda 12 tane transmembran bölgesinden son üçünün kaybına neden olmaktadır. Daha önce yayınlanmamış ve mutasyon veri bankalarında (ExAc, 1000 Genomes, ClinVar, VarSome, HGMD, CentoMD) bildirilmemiş olan yeni c.1302_1303delCT mutasyonu ailede hasta bireylerdeki PDP bulgularını açıklamaktadır. Ülkemizde PDpli hastalarda bu mutasyonun araştırılması, taşıyıcılık tanısı, prenatal tanı ve preimplantasyon genetik tanıda kullanılabilirliği açısından önem taşımaktadır. Ayrıca bu vakalar tosilizumab tedavisine yanıt veren ilk pakidermoperiostoz hastaları olarak da önem taşımaktadır.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 55150.

Cases with pachydermoperiostosis, mimicking juvenile idiopathic arthritis with severe inflammatory response caused by SLCO2A1 mutation

Sema Sırma Ekmekci¹, Neslihan Abacı¹, Melda Sarıman¹,
Zeliha Emrence¹, Burcu Salman¹, Ferda Paçal¹, Aris
Çakiris¹, Ahmet Gül²

¹*Istanbul University, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics, Istanbul, Turkey*

²*Istanbul University, Istanbul Medical Faculty, Department of Internal Medicine, Istanbul, Turkey*

Objective: Autoinflammatory diseases are a group of disorders that are characterized by pathological activation of innate immune system without pathogenic contribution of auto-reactive T cells or autoantibodies. The aim of this study was to identify the candidate genes responsible for the pathogenesis of the disease in patients with an unidentified hereditary autoinflammatory disease and their families. **Materials-Methods:** We used whole exome sequencing method. In two brothers with autoinflammation was found along with findings of pachydermoperiostosis (clubbing, pachyderma, cutis verticis gyrate periostosis, arthritis) in one of the examined families.

Results: A CT deletion (c.1302_1303delCT) in the 11th exon of the *SLCO2A1* gene on chromosome 3, which codes a prostoglandin transporter, was found. This deletion is present in the family in accordance to the recessive inheritance pattern, as homozygotes in the two affected members and as heterozygotes in their parents.

Conclusion: It has been reported that SLCO2A1 is one of the two genes mutated in patients with Pachydermoperiostosis (PDP). This deletion causes a frame shift in the codon 436 and the protein terminates after aminoacid 65. The prematurely terminated protein causes the loss of the last three transmembrane domains out of 12. This mutation previously unreported in mutation databanks (ExAc, 1000 Genomes, ClinVar, VarSome, HGMD, CentoMD) and explains the symptoms of PDP. It is important to determine the frequency of the mutation for carrier diagnosis, prenatal diagnosis and preimplantation genetic diagnosis. In addition this is the first cases of pachydermoperiostosis which responsive to IL-6 bloking tocilizumab treatment.

This work was supported by Scientific Research Project Coordination Unit of Istanbul University. Project number:55150.

PS - 031

Medüller tiroid karsinoma hastalarında RET geni mutasyonlarının analizi

Hakan Akkurt¹, Hümeyra Bozoğlan², Ayşe Esra Manguoğlu¹, Özlem Doğan², Nusret Yılmaz², Mustafa Kemal Balcı², Ramazan Sarı², Hasan Ali Altunbaş²

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Antalya, Türkiye

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, Antalya Türkiye

Medüller tiroid kanser (MTC, OMIM#171400), tiroid kanserinin en sık görülen üçüncü türüdür. Tüm tiroid kanserlerinin %3'ünü oluşturmaktadır. RET protoonkogeni, hücre yüzeyinde bulunan; hücre bölünmesi ve farklılaşması için sinyal iletiminde rol oynayan reseptör tirozin kinazlardan birini kodlamaktadır. Bu gende meydana gelen mutasyonlar, Multiple endokrin neoplazi 2A ve 2B (MEN2A-MEN2B) sendromları, Hirschsprung hastalığı ve medüller tiroid karsinoma (MTC) ve ailesel MTC'ye yol açar. Bu çalışmada; ailesel ya da sporadik MTC ve/veya Feokromasitoma endikasyonları bulunan 33 olgu RET geni mutasyonları açısından değerlendirilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastaların; 13'ü erkek, 20'si kadın ve yaş ortalaması 49.66'dır. 28 hasta'da MTC, 6 hastada feokromositoma tanısı bulunmaktadır. Hastaların dördünde tiroid papiller karsinoma, ikisinde meme kanseri, birinde kolon kanseri, birinde mukozal nörom, bir hastada ise feokromositoma MTC ile birlikte bulunmaktadır. Hastaların ikisinde aile öyküsü bulunmaktadır.

Olguların periferik kanlarından DNA izolasyonu yapılmıştır. RET geni ekzon 5, 8,10,11, 13-16, 18 PZR yöntemiyle amplifiye edilip, Sanger dizileme ve NCBI referans dizileriyle analiz edilmiştir.

RET geni için DNA analizi yapılan 33 olgunun 5'inde patojenik mutasyon saptanmıştır. Mutasyon tanımlanan hastaların 2'sinde ekzon 11'de heterozigot c1900T>C (p.Cys634Arg; p.C634R) mutasyonu tespit edilmiştir. Diğer olgularda birinde heterozigot durumda c.2410G>A (p.Val804Met) mutasyonu, iki ayrı olguda ise klinik önemi tam olarak bilinmeyen c.1942G>A (p.Val648Ile) ve c.2071G>A(pGlu805Gln) değişimleri heterozigot olarak saptanmıştır.

Tespit edilen varyasyonlar ve hastaların klinik bulguları mevcut literatür ışığında değerlendirilmiştir. Çalışmamızda iki olguda bulunan p.C634R mutasyonu literature göre de en sık görülen mutasyondur, p.Val804Met ise en sık görülen ikinci mutasyondur. RET mutasyonlarının araştırılması risk değerlendirmelerinin, genetik danışmanın ve uygun tedavilerin geliştirilmesine yardımcı olacaktır.

Analysis of RET gene mutations in medullary thyroid carcinoma patients

Hakan Akkurt¹, Hümeyra Bozoğlu², Ayşe Esra Manguoğlu¹, Özlem Doğan², Nusret Yılmaz², Mustafa Kemal Balcı², Ramazan Sarı², Hasan Ali Altunbaş²

¹Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Antalya, Turkey

²Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Antalya, Turkey

Medullary thyroid cancer is the third most common type of thyroid cancer and accounts for 3% of all thyroid cancers. Mutations in RET gene leads to multiple endocrine neoplasia 2A-2B, Hirschsprung diseases and medullary thyroid carcinoma. In this study, DNA sequencing was performed in 33 patients with familial or sporadic MTC and/or pheochromocytoma indications.

Thirteen of the patients were men, twenty were women and average age was 49,66. In 28 patients MTC was diagnosed. Six patients were diagnosed as pheochromocytoma and in one of them co-exists with MTC. Other clinical findings include; thyroid papillary-carcinoma in four patients, breast cancer in one patient, colon cancer in one patient, mucosal-neuroma in one patient in addition to MTC. Two of the patients have a family history of MTC.

DNA was isolated from the patients peripheral blood. RET gene exon 5, 8, 10-11, 13-16, 18 were amplified by the PCR. All amplicons were sequenced by Sanger automated gel electrophoresis.

Pathogenic mutations were detected in 5 out of 33 patients. A heterozygous c1900T>C (p.Cys634Arg; p.C634R) mutation was detected in exon 11 of two patients and heterozygous c.2410G>A (p.Val804Met) mutation was detected in exon 14 in another patient. Two unclassified variants c.1942G>A (p.Val648Ile) and c.2071G>A(pGlu805Gln) were detected in two other patients, as well.

In accordance with literature; the p.C634R mutation in our study is the most common mutation and p.Val804Met is the second. Research of RET mutations will help to develop risk assessments, genetic counseling, and appropriate treatments.

PS - 032

Manisa'da kronik şizofren tanısı konmuş bireylerde Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Val158met Polimorfizminin araştırılması

Nuray Altıntaş, Seçil Şengöz

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Amaç: Manisa’da Kronik Şizofren Tanısı Konmuş Bireylerde Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Val158Met Polimorfizminin Araştırılmasıdır.

Gereç-Yöntem: Araştırma kronik şizofreni teşhisi konmuş 100 birey ve ailesinde ve kendisinde psikiyatrik herhangi bir rahatsızlık bulunmayan 100 sağlıklı kontrol ile yürütülmüştür. Hasta grubu bireyler; Manisa Ruh Sağlığı Hastalıkları Hastanesinde tedavi gören ve kronik şizofren tanısı konmuş bireylerden oluşturulmuştur. Örneklem grubundaki her birey için DNA izolasyonunu takiben COMT genindeki Val158Met polimorfizmine bağlı yüksek veya düşük aktiviteli alleller PCR-RFLP metodu kullanılarak belirlenmiştir. Veriler Ki-Kare Testi ve Çapraz Tablo kullanılarak elde edilmiştir.

Bulgular: Araştırmaya katılan hasta grubu bireylerin %64'ü erkek; %36'sı kadındı. Hasta grubu bireylerin genotipleri cinsiyet gözetmeksizin değerlendirildiğinde % 44'ünün LL genotipli bireylerden, %10'unun HH genotipli bireylerden ve %46'sının HL genotipli bireylerden oluştuğu görüldü. Allel frekansları hesaplandığında ise Hardy Weinberg Eşitliğinde çıktı. Hasta grubu için Val alleli (yüksek aktiviteli) frekansı % 33, Met alleli (düşük aktiviteli) frekansı % 67; kontrol grubu Val alleli frekansı % 67, Met alleli frekansı % 33 olarak saptandı.

Sonuçlar: Genotip bulgularına göre Çapraz Tablo ve Ki-Kare testi sonuçlarına göre HH ve LL allelleri için $p = 0,001$ olarak bulunduğundan COMT geni Val158Met polimorfizminin şizofreni üzerine etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

Investigation Of Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Val158Met polymorphism in chronic schizophrenia diagnosed individuals in Manisa

Nuray Altıntaş, Seçil Şengöz

Celal Bayar University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Manisa, Turkey

Aim: The study was conducted with 100 healthy individuals who were diagnosed with chronic schizophrenia and 100 healthy controls that did not have any psychiatric disorders in their family. The patient group was individual; Manisa Psychiatric Diseases It is composed of individuals who are treated in the hospital and diagnosed with chronic schizophrenia. For each individual in the study group DNA isolation was followed by high or low activity alleles associated with the Val158Met polymorphism in the COMT gene using the PCR-RFLP method. Data were obtained using Chi-Square Test and Crosstab.

Findings: 64% of individuals surveyed were female, 36% male. When the genotypes of the patients were evaluated without regard to sex, 44% of the subjects were from LL genotypes, 10% were from HH genotypes and 46% were from HL genotypes. When allele frequencies calculated output in Hardy Weinberg Equation. For the patient group, the Val allele (high activity) frequency was 33%, the Met allele (low activity) frequency was 67%; The control group had 67% frequency of the Val allele and 33% of the Met allele frequency.

Results: According to the genotype findings, the cross-tabulation and Chi-square test results were found to be the effect of COMT Gene Val158Met polymorphism on schizophrenia when $p = 0.001$ for HH and LL alleles.

PS - 033

Behçet sendromlu Türk hastalarda tüm genom ifade analizi

Ali Kemal Oğuz¹, Seda Yılmaz¹, Hilal Özdağ¹, Nejat Akar²

¹Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü

²TOBB ETU Hastanesi

Behçet Sendromu (BS), güçlü ve karmaşık bir genetik geçmişe sahip multisistemik inflamatuvar bir bozukluktur. BS, kronik ve tekrarlayan doğası nedeniyle önemli bir bozulma ve engellilik nedenidir. Ayrıca BS, genç erkek hastalarda ölümlerin önemli bir nedeni olarak rapor edilmiştir. BS'nin epidemiyolojisi oldukça iyi belgelenirilmiş olmakla birlikte şu anda etyolojisi, patogenezinin altında yatan moleküler mekanizmalar ve bozukluğun sınıflandırılması aydınlatılamamıştır.

Amacımız, BS hastaları ile yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı kontrol bireylerinin transkriptom verilerini elde ederek ve karşılaştırarak Türk Behçet hastalarında moleküler düzeydeki hastalık mekanizmalarını ortaya koymaktır. Bu amaçla, Affymetrix mikrodizinleri kullanılarak, 30 BS hastasının (B) ve 15 eşleştirilmiş sağlıklı kontrolün (C) periferik kan hücrelerinden mRNA profilleri elde edilmiştir. Ardından tanımlanmış belirgin mRNA'ların bioinformatik, gen ontolojisi ve yolak analizleri ile QRT-PCR metodolojisi kullanılarak doğrulama deneyleri gerçekleştirilmiştir. B ile C arasında yapılan karşılaştırma sonucunda, seçilen kat değişiklikleri sırasıyla 1.5 ve 2.0 (sırasıyla her ikisi için $p \leq 0.05$) için 625 ve 30 farklı ifade edilen gen sayıları elde edilmiştir. Gen ontolojisi ve yolak analizlerinde, bağışıklık sistemi süreci, sistemik lupus eritematosus ve artrit önemli derecede zenginleşmiştir. QRT-PCR analizi, seçilen mRNA moleküllerini başarıyla doğrularken, kümeleme analizi, B ve C örneklerini doğru olarak ayıran bir moleküler imza ortaya koymuştur. Bu çalışma, BS hastalarında çok sayıda bağışıklık sistemi ve bağışıklık sistemi ile ilgili genlerin farklı şekilde eksprese edildiğini belgelemektedir. BS'nin moleküler hastalık mekanizmalarının ortaya çıkması, bozukluğun tedavisi için hedef alınacak yeni aday molekülleri işaret edecektir.

Whole-Genome expression analysis in Turkish patients with Behçet's syndrome

Ali Kemal Oğuz¹, Seda Yılmaz¹, Hilal Özdağ¹, Nejat Akar²

¹Ankara University, Biotechnology Institute

²TOBB ETU Hospital

Behçet's syndrome (BS) is a multisystemic inflammatory disorder with a strong and complex genetic background. BS is an important cause of impairment and disability owing to its chronic and relapsing nature. Besides, BS is reported to be an important cause of mortality among the young male patients. While the epidemiology of BS is substantially well documented, currently, the etiology, the molecular mechanisms underlying its pathogenesis, and the classification of the disorder remain to be elucidated.

Our aim was to disclose the molecular level disease mechanisms in BS patients by obtaining, comparing, and analysing the transcriptome data of BS patients with age and gender matched healthy controls. For this purpose, by using the Affymetrix microarrays, mRNA profiles of 30 BS patients (B) and 15 matched healthy controls (C) were obtained. Following bioinformatics, gene ontology, and pathway analysis, validation experiments of the identified prominent mRNAs were performed by QRT-PCR methodology.

After analysis, differentially expressed gene numbers of 30 and 625 for the chosen fold changes of 2.0 and 1.5 respectively. During gene ontology and pathway analysis, immune system process, systemic lupus erythematosus and arthritis, were significantly enriched. Clustering analysis revealed a molecular signature which accurately distinguished B and C samples, while the QRT-PCR analysis successfully validated the chosen mRNA molecules. This study documented differentially expression of a large number of immune system related genes in BS patients. The uncovering of the molecular mechanisms of BS will point to novel candidate molecules to be targeted for the treatment of the disorder.

PS - 034

Pterijyumda FABP5 geninin ekspresyon seviyesinin değerlendirilmesi

Sümeyya Deniz Çelik¹, Ömer Ateş¹, Emel Ensari¹, Selim Demir², Helin Deniz Demir²

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Tokat

²Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları
Anabilim Dalı, Tokat

Amaç: Pterijyum korneanın epitelyal büyümesiyle karakterize edilen yaygın bir oküler yüzey hastalığıdır. Bu hastalık hücresel proliferasyon, invazyon ve antiapoptozis özellikleri ile ilişkilendirilmektedir. Hücresel retinoik asit bağlayıcı protein (CRABP-II) ve yağ asidi bağlayıcı protein 5 (FABP5), hücre içerisinde retinoik aside (RA) bağlanmaktadır. CRABP-II, RA'yı nükleer retinoik asit reseptörlerine (RARs) hedeflerken, FABP5, RA'yı peroksizom proliferasyonunu aktive edici reseptör β/δ 'ya (PPAR β/δ) hedefler. RA, PPAR β/δ 'ya kanaliz olduğunda apoptozisin inhibisyonu ve hücresel proliferasyonun uyarılmasına neden olur. Bu çalışmada, hücresel proliferasyonu uyarı FABP5 geninin ekspresyon seviyesini değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada, ameliyat esnasında aynı hastanın aynı gözünden alınan 12 pterijyum ve 12 normal konjunktival dokudan FABP5 mRNA'sı izole edildi ve SYBR Green temelli real time polimeraz zincir reaksiyon metodu kullanılarak bu genin kısmi ekspresyon seviyesi ölçüldü. İstatistiksel analizler SPSS 16.0 programı kullanılarak oluşturuldu.

Bulgular: Pterijyum ve normal konjunktiva dokuları karşılaştırıldığında FABP5 geninin kısmi ekspresyonu 1 kattan daha fazla artmış olarak bulundu.

Sonuç: Pterijiyumda, retinoik asit sinyali yolağında önemli bir rol oynayan FABP5 geninin ekspresyon seviyesinin ölçüldüğü ilk çalışmadır. Gelecekte pterijiyumda, retinoik asit sinyali yolağının etkili olup olmadığı ile ilgili çalışmalara devam etmeyi amaçlamaktayız.

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TUBİTAK) tarafından 1001 no'lu proje kapsamında desteklenmektedir (proje numarası: 215S692).

Evaluation of expression level of FABP5 gene in pterygium

Sümeyya Deniz Çelik¹, Ömer Ateş¹, Emel Ensari¹, Selim Demir², Helin Deniz Demir²

¹Department Of Medical Biology, Faculty Of Medicine,
Gaziosmanpasa University, Tokat

²Department Of Ophthalmology, Faculty Of Medicine,
Gaziosmanpaşa University, Tokat

Objective: Pterygium is a common ocular surface disease characterised by epithelial overgrowth of the cornea. The disease is associated with cellular proliferation, invasion, and antiapoptosis features. Cytosolic cellular retinoic acid binding protein-II (CRABP-II) and cytosolic fatty acid-binding protein 5 (FABP5) binding retinoic acid (RA) inside cell. While CRABP-II target RA to nuclear retinoic acid receptors (RARs), FABP5 target it to peroxisome proliferator activated receptor β/δ (PPAR β/δ). When RA is “channeled” to PPAR β/δ , resulting in stimulation of cell proliferation and inhibition of apoptosis. In this study we aimed to evaluate the expression level of FABP5 gene which can stimulate cellular proliferation.

Materials-Methods: In this study, mRNA of FABP5 was extracted from 12 of pterygium tissue samples and 12 of uninvolved conjunctiva samples were obtained from the same eye of patients undergoing surgery. and relative expression level of the gene was measured using Cybergreen Real-Time PCR. Expression level of FABP5 gene was measured by 2-DeltaDelta Ct method. Statistical analyses were performed using the SPSS 16.0 software. Results: We found that relative expression of FABP5 gene increased by more than 1 fold when comparing pterygium tissues and normal conjunctiva tissues.

Conclusion: In pterygium, this is the first study to analyzed expression levels of FABP5 gene, which plays an important role in retinoic acid signaling pathway. In the future, we aim to continue our research on whether effect of retinoic acid signaling pathway in pterygium.

Acknowledgements: This work was supported by The Scientific and Technological Research Council of Turkey.

Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TUBİTAK) tarafından 1001 no'lu proje kapsamında desteklenmektedir (proje numarası: 215S692).

PS - 035

Klinik bulguları ağır seyreden ailevi Akdeniz ateşi hastalarında MEFV mutasyonu bulunmayan ailelerde tüm exom dizileme analizi

Neslihan Abacı¹, Sema Sırma Ekmekçi¹, Melda Sarıman¹,
Zeliha Emrence¹, Burcu Salman¹, Ferda Paçal¹, Aris
Çakiris¹, Ahmet Gül²

¹*İstanbul üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı*

²*İstanbul Üniversitesi, İç Hastalıkları, Romatoloji Bölümü*

Ailevi Akdeniz ateşi (AAA), otozomal resesif geçiş gösteren ve tekrarlayan akut inflamasyon ataklarına neden olan kalıtsal bir hastalıktır. MEFV geninde mutasyon belirlenen olguların dışında kliniği ağır seyreden, erken yaşta amiloidoz gelişen AAA'li aileler bulunmaktadır. Daha önceki çalışmalarda MEFV geninin tüm eksonların dizilenmesi ile vakaların %20-30'unda tek MEFV geni mutasyonu bulunduğu gösterilmiştir. MEFV geninin kodladığı pirin proteininin inflamasyondaki rolü tam olarak anlaşılmamıştır bununla beraber inflamazomun kontrol altında tutulmasında rol oynadığı bilinmektedir. Pirin farklı domainleri ile hücre ölümlü, sitokin salınımı, transkripsiyonel regülasyon sitoskeletal sinyalin düzenlenmesi yoluyla inflamasyonla bağlantılı proteinlerle etkileşimde bulunur. Çok sayıda bağlanma paterni olması birden fazla moleküler yolda görev aldığını gösterir. İnflamasyon mekanizmasının aydınlatılması açısından pirinin rol aldığı yollarda veya inflamasyon da rol onayan diğer proteinlerin tespiti önem kazanmaktadır. Bu çalışmanın amacı Kliniği ağır seyreden AAA'li ailelerde tüm ekzom dizileme yöntemi ile ilişkili yeni genlerin tespiti etmek. Belirlenen hastalıkla ilgili yeni genler ve yollar sayesinde periyodik ateş sendromlarının daha altta yatan moleküler mekanizmasını anlaşılması sağlamaktır.

Bu amaçla, klinik bulguları ağır seyreden AAA'lı 2 aileden toplam beş bireyin periferik kanlarında DNA izole edilerek ekzom dizilemeleri yapıldı. Tüm ekzom dizileme sonuçları, öncelikle IGV programı kullanılarak kalitesi değerlendirildi. Hastalıkla bağlantılı aday genlerin belirlenmesi için homozigot haritalama yapıldı. Homozigot haritalama sonucunda iki AGBL3 aday gen olarak belirlendi. Örnekler Sanger dizileme yöntemi ile dizilenecek ekzom dizileme doğrulandı. Hasta sayısı artırılarak amiloidozlu hastalarda incelenecektir.

Bu proje İ.Ü. BAP tarafından 53688 nolu proje tarafından desteklenmiştir.

Whole exome sequencing analysis in families with severe clinical finding of familial mediterranean disease without MEFV mutation

Neslihan Abacı¹, Sema Sırma Ekmekçi¹, Melda Sarıman¹,
Zeliha Emrence¹, Burcu Salman¹, Ferda Paçal¹, Aris
Çakiris¹, Ahmet Gül²

¹Department of Genetics, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Istanbul University

²*Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Turkey*

Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autosomal recessive disease characterized by repetitive inflammation attacks. Along with cases that show MEFV gene mutation there are some families with FMF who develop amyloidosis at early ages. Previous studies on whole exon sequencing of MEFV showed that on %20-30 of all cases only display one MEFV gene mutation. Role of Pyrin protein coded by MEFV gene is not fully discovered but its presumed that pyrin protein helps controlling inflammasome. Different domains of pyrin interacts with cell death, cytokine release, transcriptional regulation, cytoskeletal signal regulation pathway proteins that cause inflammation. Multiple connection patterns shows that pyrin takes part on more than one molecular pathway. Identification of proteins that play a part on molecular pathways that pyrin functions except MEFV protein significant to explanation of inflammation mechanism in FMF. Aim of this study is discovering new genes on FMF patients with severe clinical symptoms using whole exom sequencing technique. Genes and pathways we aim to discover will clarifying the molecular mechanisms behind periodic fever syndromes.

With this purpose DNA's from 2 families with severe clinical symptoms of FMF isolated from periferic blood and exom sequencing performed. Quality of whole exom sequencing data evaluated with IGV program. Homozygous mapping was performed for identifying genes with possible disease connections. Examination of homozygous maps two AGBL3 genes as candidates. The results are verified with Sanger sequencing.

The Project was supported by İ.Ü. BAP,(Project number 53688)

PS - 036

Pterijyumda CRABP-II geninin ekspresyon seviyesinin araştırılması

Ömer Ateş¹, Sümeyya Deniz Çelik¹, Emel Ensari¹, Selim Demir², Helin Deniz Demir²

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Tokat

²Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları
Anabilim Dalı, Tokat

Amaç: Pterijyum hücrel proliferasyon, dokunun yeniden modellenmesi, invazyon ve antiapoptozis ile karakterize edilen oküler bir yüzey hastalığıdır. Pterijyum için ameliyat standart bir tedavi yöntemi olmasına rağmen nüks pterijyum, primer pterijyuma göre ameliyat sonrasında daha agresif olabilmektedir. Daha önceki çalışmalarda, retinoidlerin oküler yüzey hastalıkları üzerine inhibitör bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. Retinoik asit, nükleus içerisine hücrel retinoik asit bağlayıcı protein-II (CRABP-II) ve yağ asidi bağlayıcı protein-5 (FABP5) tarafından taşınmaktadır. CRABP-II, retinoik asidi hücrel proliferasyonun inhibisyonuna yol açan nükleer retinoik asit reseptörlerine (RARs) hedeflemektedir. Bu çalışmada pterijyumda, CRABP-II geninin ekspresyon seviyesini değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada ameliyat sırasında aynı hastanın aynı gözünden alınan 12 pterjiyum ve 12 normal konjunktiva dokusunda CRABP-II mRNA ekspresyonu, kantitatif real time-polimeraz zincir reaksiyonu (qRT- PCR) kullanılarak araştırılmıştır. CRABP-II geninin ekspresyon seviyesi 2-Delta Delta Ct metodu kullanılarak ölçülmüştür. İstatistiksel analizler SPSS 16.0 programı kullanılarak oluşturulmuştur. Bulgular: Çalışmamızın sonuçları, normal konjunktiva dokusuna göre pterjiyum dokusunda CRABP-II geninin ekspresyonunun 1 kattan daha fazla downregüle olduğunu göstermiştir.

Sonuç: Pterijiyumda CRABP-II geninin ekspresyon seviyesi ilk kez burada rapor edilmiştir. Pterijiyum ve retinoik asit sinyal yolağı arasındaki ilişkinin anlaşılması için daha ileri moleküler araştırmalara ihtiyaç vardır.

Investigation of expression level of CRABP-II gene in pterygium

Ömer Ateş¹, Sümeyya Deniz Çelik¹, Emel Ensari¹, Selim Demir², Helin Deniz Demir²

¹Department of medical biology, faculty of medicine,
gaziosmanpasa university, Tokat

²Department of ophthalmology, faculty of medicine, gaziosmanpaşa university, Tokat

Objective: Pterygium is an ocular surface disease, characterized by tissue remodeling, cellular proliferation, invasion, and antiapoptosis. Although surgical excision is the standard treatment for pterygium, recurrent pterygium after surgery may be more aggressive than the primary growth. In previously studies were reported that retinoids have an inhibitory effect on ocular surface disease. Retinoic acid (RA) is carried into the nucleus by the cytosolic cellular retinoic acid-binding protein-II (CRABP-II) and cytosolic fatty acid-binding protein 5 (FABP5). CRABP-II target RA to nuclear retinoic acid receptors (RARs) which leading to cellular proliferation inhibition. In this study we aimed to evaluate the expression level of CRABP-II gene in pterygium. Materials-Methods: In this study, mRNA expression of CRABP-II was investigated using quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) in 12 of pterygium tissue samples and 12 of uninvolved conjunctiva samples were obtained from the same eye of patients undergoing surgery. Expression level of CRABP-II was measured by 2-Delta Delta Ct method. Statistical analyses were performed using the SPSS 16.0 software. Results: The results of our study indicated that expression of CRABP-II gene downregulated by more than 1 fold in pterygium tissues than normal conjunctiva tissues.

Conclusion: We reported here for the first time the expression levels of CRABP-II gene in pterygium. For understand of association between pterygium and retinoic acid signaling pathway needs to further molecular investigations.

Acknowledgements: This work was supported by The Scientific and Technological Research Council of Turkey.

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TUBITAK) tarafından 1001 no'lu proje kapsamında desteklenmektedir (proje numarası: 215S692).

PS - 037

Beta globin gen kümesindeki büyük delesyonel mutasyon profilinin MLPA ile belirlenmesi

Türker Bilgen¹, Zeynep Öztürk², Alphan Küpesiz², İbrahim Keser³

¹Namık Kemal Üniveristesi, Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik bölümü. 59030-Tekirdağ

²Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik Hematoloji ve Onkoloji Bölümü. 07059-Antalya

³Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü. 07059-Antalya

Amaç: Beta talasemilerin ortaya çıkışına beta globin genindeki nokta mutasyonların neden olduğu bilinmektedir. Buna karşın, β -globin lokusunu etkileyen büyük delesyonel mutasyonların sayısı giderek artmaktadır. Biz bu çalışmada; Antalyada beta globin gen kümesindeki büyük delesyonel mutasyon profilini tanımlamayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Kliniği ile uyumlu beta globlin gen mutasyonu, DNA dizi analiziyle saptanamayan 40 olgu, beta globlin gen kümesindeki büyük delesyonel mutasyonlar açısından MLPA yöntemiyle analiz edildi.

Bulgular: Literatürde Sicilian ($\delta\beta$)o-thal olarak bilinen mutasyon açısından 2 heterozigot ve 1 homozigot toplam 3 yeni olgu ile Turkish inversion/deletion ($\delta\beta$)o olarak bilinen mutasyon açısından heterozigot olan 2 yeni olgu MLPA yöntemiyle belirlendi. Aile taramalarında Sicilian ($\delta\beta$)o-thal mutasyonu açısından taşıyıcı olan 3 yeni olgu belirlendi. MLPA sonuçları gap-PCR yöntemiyle teyit edildi. Sonuçlarımız Antalya bölgesinde sadece 2 farklı tip delesyonel mutasyonun (Sicilian ($\delta\beta$)o-thal ve Turkish inversion/deletion ($\delta\beta$)o) varlığını gösterdi. Sonuçlarımız daha önceki gap-PCR ile yapılan çalışmamızla birlikte değerlendirildiğinde; beta globlin geninde kliniği ile ilişkili mutasyonu saptanamamış, çözümlenememiş olarak kalan olgularda bu iki tip delesyonel mutasyonun yaklaşık %30 oranında sorumlu olduğunu gösterdi. Bu iki mutasyon sıklık açısından Antalya bölgesinde tespit edilmiş tüm mutasyonların %3'ünü oluşturmaktadır.

Sonuç: Beta talasemi ilişkili fenotiplere neden olan mutasyonların %10'unun büyük delesyonel tip mutasyonlar olduğu bildirilmektedir. Sonuçlarımız; beta globin gen kümesindeki büyük delesyonel mutasyonların MLPA yöntemiyle analiz edilmesinin, Antalya'da çözümlenememiş olguları belirli oranda açıklanabileceğini ortaya koydu. Bu nedenle, Antalya bölgesinde beta globin geninde kliniği ile ilişkili nokta mutasyonları saptanamamış olgularda, Sicilian ($\delta\beta$)o-thal ve Turkish inversion/deletion ($\delta\beta$)o mutasyonlarının rutin olarak taranması gerektiğine inanmaktayız. (Bu çalışma Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Etkinliklere Katılım destek programı kapsamında desteklenmiştir)

Detection of the large deletional mutation profile of beta globin gene cluster by MLPA

Türker Bilgen¹, Zeynep Öztürk², Alphan Küpesiz², İbrahim Keser³

¹Department of Nutrition and Dietetics, School of Health, Namik Kemal University, 59030-Tekirdag, Turkey

²Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Pediatric Hematology and Oncology, 07059-Antalya

³Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics. 07059-Antalya

Objective: Beta-thalassemias are known to be caused by generally point mutations in the β -globin gene. However, increasing number of large deletional mutations affecting the β -globin locus has been described. In this study, we aimed to define the large deletional mutation profile of the β -globin gene cluster in Antalya.

Materials-Methods: Forty cases without detected underlying β -globin gene mutation(s) by direct sequencing were analyzed for large deletional mutations of the β -globin gene cluster by MLPA.

Results: We detected two heterozygous and 1 homozygous novel cases for the Sicilian ($\delta\beta$)o-thal mutation, and two novel heterozygous cases with the Turkish inversion/deletion ($\delta\beta$)o mutation. Family screenings revealed three heterozygous cases for the Sicilian ($\delta\beta$)o-thal mutation. MLPA results were confirmed by gap-PCR. Our results showed that the Turkish inversion/deletion ($\delta\beta$)o and the Sicilian ($\delta\beta$)o-thal mutations were the only two large deletional mutations in Antalya. By considering our current and previous results, these two mutations account for approximately 30% of the unsolved cases and account for approximately 3% of all detected mutations of the Antalya.

Conclusion: It is stated that 10% of the β -globin gene mutations are large deletions causing β -thal associated phenotype. MLPA analyses of the β -globin gene cluster revealed that large deletional mutations involving the β -globin gene may somewhat explain unsolved cases in Antalya. We believe that the Turkish inversion/deletion ($\delta\beta$) α and Sicilian ($\delta\beta$) α -thal mutations must be routinely tested in the thalassemia cases with no detected point mutation(s) of the β -globin gene in Antalya.

*This study supported by Namık Kemal University
Scientific Activities Support Program*

PS - 038

Transfüzyon bağımlı beta talasemi hastalarında fetal hemoglobin indüksiyonu çalışmaları

Yunus Arıkan¹, Başak Oğuz Yolcular², Erdal Kurtuluş³,
İbrahim Keser¹

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Antalya

³*Sağlık Bilimleri Üniversitesi Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi*

Amaç: Transfüzyon Bağımlı Beta Talasemi Hastalarında transfüzyonu bağımlılığını etkileyen genetik ve epigenetik faktörleri araştırmak. Hastaların eritroid primer hücre kültürleri ile K562 hücrelerinde sodyum butirat ile resveratrolün fetal hemoglobin indüksiyon kapasitelerini hangi yollar üzerinden gerçekleştirdiğini ortaya çıkarmak.

Gereç-Yöntem: K562 hücre hattında hemoglobinizasyonu gösteren benzidin boyama yöntemi ve resveratrol ile sodyum butiratın MTT toksisite çalışmaları ile Q-PCR ve western blot çalışmaları.30 hastada tüm gen KLF1 genotiplemesi, XmnI polimorfizmi ve BCL11A genotiplemesi. Farklı BCL11A genotipine sahip hastalardan elde edilen lizatlarda;resveratrol veya sodyum butirat kullanımına bağlı, stres (p38, ERK1/2) ve antioksidan (NRF2) proteinlerinin aktivasyonlarının analizleri ile globin genlerine ait Q-PCR çalışmaları. Bulgular: Farklı dozlardaki resveratrol ve sodyum butiratın, K562 hücrelerinde ve primer eritroid hücre lizatlarında, fetal hemoglobin indüksiyonu yaptığı transkripsiyonel ve translayonel olarak gösterilmiştir. Bakılan genlerde bulunan hiç bir mutasyon veya varyasyon tek başına, fetal hemoglobin düzeyleri arasındaki farkı açıklayamamıştır.Yüksek antioksidan dozuna bağlı apoptotik streten kurtulabilen eritroid hücrelerin fetal hemoglobin indüksiyonu yapabildikleri gösterilmiştir.

Sonuç: Bireysel genotipe bağlı fetal hemoglobin indüksiyon çalışmaları epigenetik ve genetik faktörler birlikte değerlendirilmelidir. Hastaların primer eritroid kök hücrelerindeki fetal hemoglobin indüksiyonu, antioksidan yolağı nazaran daha çok stres yolağı aktivasyonu ile gerçekleşmektedir.

Fetal hemoglobin induction studies in patients with transfusion dependent beta thalassemia

Yunus Arıkan¹, Başak Oğuz Yolcular², Erdal Kurtoglu³,
İbrahim Keser¹

¹Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Antalya

²Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Biostatistics and Medical Bioinformatics

³*Antalya Education and Research Hospital, Department of Hematology*

Objective: To investigate genetic and epigenetic factors which effect transfusion dependency in patients with transfusion dependent beta thalassemia. To reveal which pathways are implicated more by evaluating fetal hemoglobin induction capacities of resveratrol and sodium butyrate in both K562 cells and primary erythroid cells in patients with beta thalassemia.

Materials-Methods: Benzydine staining studies which shows hemoglobisation, MTT studies of resveratrol and sodium butyrate, QPCR and western blotting studies in K562 cells. KLF1 whole gene, XmnI polymorphism and BCL11A genotyping in 30 patients. Q-PCR studies of global genes and activation analysis of stress (p38, ERK1/2) and antioxidant proteins (NRF2) based on resveratrol or sodium butyrate usage in lysates which obtained from patients with different BCL11A genotypes.

Results: Different doses of resveratrol and sodium butyrate has been shown to induce fetal hemoglobin with transcriptional and translational aspects in both representative K562 cells and primary erythroid stem cells of patients. Any genetic mutation or variation could not clarify the different fetal hemoglobin levels alone. Remained cells which could break from apoptotic stress due to high antioxidant molecules, was shown to induce fetal hemoglobin.

Conclusion: Personalized genetic and epigenetic factors should be both taken account in fetal hemoglobin induction studies. Stress pathway are more implicated rather than antioxidant pathway in patients' primary erythroid stem cells.

PS - 039

SREBP yolağını modüle eden yeni genlerin keşfi için genetik tarama

Fatih Akdemir

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı,
Erzurum

Obezite, tip II diyabet için en önemli risk faktörü olup lipotoksizite diyabet patogeneğinde önemlidir. Bundan dolayı yağ metabolizması, diyabet ve komplikasyonlarını anlamak için esastır. SREBP sinyal iletim yolağı memelilerde kolesterol ve trigliserit metabolizmasını düzenlemektedir. Bu yolağı etkileyen yeni genler-yolaklar bulmak için *Drosophila*'da in vivo RNAi ile genetik tarama yapılmıştır. Transkripsiyon faktörü olan SREBP'nin *Drosophila*'da tek bir homologu bulunmaktadır ve trigliserit metabolizmasını düzenlemektedir. *Drosophila*'da nükleer kısmı GAL4 ile değiştirilerek geliştirilen transgenik SREBP-GAL4 sürücüsü, UAS-GFP yanıtlayıcısı ile birlikte bize SREBP yolağının aktivasyon durumunu göstermektedir. Bu iki transgenin birlikte olduğu sinekleri farklı transgenik RNAi sineklerle çaprazlayarak başka genlerin bu yolağın aktivasyonuna etkisi görülebilmektedir. Memeli çalışmalarından bu yolağı etkisi bilinen genlerin ekspresyonu RNAi ile yok edilerek *Drosophila*'daki bu sistemin geçerliliği doğrulandı. Pilot genetik tarama yapılarak bu yolağı modüle eden yeni genler bulundu. Büyük ölçekli taramada yaklaşık 4000 gen test edildi ve yeni genler bulundu. SREBP yolağını modüle eden genler ve mekanizmalar sunulacaktır.

Genetic screening for the discovery of novel modulators of SREBP pathway

Fatih Akdemir

Ataturk University Medical Faculty, Basic Sciences, Medical Biology, Erzurum

Obesity is the major risk factor for type II diabetes and lipotoxicity may underlie the pathogenesis of diabetes. Thus lipid metabolism is central for understanding diabetes and its complications. SREBP pathway regulates cholesterol and triglyceride metabolism in mammals. To identify novel genes regulating SREBP pathway in vivo RNAi screen has been performed with *Drosophila*. *Drosophila* has only one homolog of SREBP and it is involved in triglyceride metabolism. SREBP-GAL4 reporter was generated by replacing nuclear part with GAL4 so that upon activation, with UAS-GFP responder, it can be observed where it is activated normally and upon different interrogations. We have determined the effect of some other genes on the activation of the pathway by crossing flies carrying the GAL4 driver and GFP responder with different RNAi strains. Genes known to affect SREBP pathway from mammalian studies have been tested by knocking down them with RNAi and this has confirmed the validity and relevance of our assay. Pilot screen with the assay identified novel regulators of the pathway. With genome-wide RNAi screen approximately 4000 genes have been tested and new regulators of the pathway identified. Newly identified modifiers of the SREBP pathway will be presented.

PS - 040

Osteoartrit hastalarında Foxp3 geni -3279C/A polimorfizminin araştırılması

Aslıhan Esra Bildirici¹, Nilgün Çetin¹, Ergün Pınarbaşı¹,
Gonca Dönmez², Zekeriya Öztemur³, Okay Bulut³, Serdal
Arslan¹

¹Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Sivas

²Ömer Halisdemir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Niğde

³Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji
Anabilim Dalı, Sivas

Osteoartrit yumuşak doku ve yeni kemik proliferasyonunun eşlik ettiği, eklemde dejenerasyon ile karakterize edilen ve tüm dünyada hayat kalitesini düşüren, inflamatuvar bir eklem hastalığıdır. Foxp3 (Transkripsiyon Faktörü Forkhead Box p3) forkhead winged-heliks transkripsiyon faktörü ailesinin bir üyesidir ve X kromozomunun kısa kolunda lokalizedir (Xp11.23). Foxp3 geni, düzenleyici T (Treg) hücrelerinin gelişimi ve işlevi için çok önemli olduğu düşünülen bir transkripsiyon faktörünü kodlar. Otoimmün süreçte Foxp3 ekspresyon seviyesinin ve Treg hücre sayısının kesin olarak ölçülmesi patojenitenin anlaşılmasında pek çok otoimmün bozukluk için önemlidir. Bu hipoteze dayanarak, bu çalışmanın amacı Osteoartritli hastalarda -3279C/A (rs3761548) Foxp3 gen polimorfizmini incelemek olarak belirlenmiştir. 150 Osteoartritli hasta birey ve 150 sağlıklı bireyden alınan kan örnekleri kullanılmıştır. Total DNA izolasyonunu takiben PCR-RFLP yöntemi ile genotipleme yapılmıştır. Yaptığımız vaka-kontrol çalışması sonucunda Foxp3 geni -3279C/A polimorfizmi ile Osteoartrit arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç belirlenememiştir ($p=0.298$).

Investigation of Foxp3 gene -3279C/A polymorphism in osteoarthritis patients

Aslıhan Esra Bildirici¹, Nilgün Çetin¹, Ergün Pınarbaşı¹,
Gonca Dönmez², Zekeriya Öztemur³, Okay Bulut³, Serdal
Arslan¹

¹Department of Medical Biology, Medical School, Cumhuriyet University, Sivas, Turkey

²Department of Medical Biology, Medical School, Ömer Halisdemir University, Niğde, Turkey

³Orthopedics and Traumatology Department, Medical School, Cumhuriyet University, Sivas, Turkey

Osteoarthritis is an inflammatory joint disease characterized by joint degeneration accompanied by soft tissue and new bone proliferation and decrease the quality of life all over the world. Foxp3 (Transcription Factor Forkhead Box p3) is a member of the forkhead winged-helix transcription factor family and is located on the short arm of the X chromosome (Xp11.23). Foxp3 gene encodes a transcription factor that is thought to be essential for development and function of regulatory T (Treg) cells. In the autoimmune progress, measurement of Foxp3 expression level and Treg cell number is important to understand the pathogenesis for many autoimmune disorders. On the basis of this hypothesis, the aim of this study was to examine the -3279C/A (rs3761548) Foxp3 gene polymorphism in Osteoarthritis patients. Blood samples taken from 150 patients with Osteoarthritis and 150 healthy individuals were used. Following total DNA isolation, genotyping was performed by PCR-RFLP method. As a result of our case-control study, there was no statistically significant result between Foxp3 gene -3279C/A polymorphism and Osteoarthritis ($p=0.298$).

Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no: T-702).

PS - 041

Kahramanmaraş bölgesindeki infertil erkeklerde Y kromozomu mikrodelsiyonlarının saptanması

İlkay Adanır¹, Ramazan Güneşar², Mustafa Çelik², Bekir Mehmet Kelleci¹

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Biyomühendislik ve Bilimleri Ana Bilim Dalı

²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Y kromozomun mikrolelesyonları erkeklerde ciddi infertilitenin en yaygın moleküler genetik sebeplerindendir. Y kromozomu üzerindeki AZFa, AZFb, AZFc ve AZFd bölgeleri spermatogenezde çok önemli olduğu kabul edilir. Bu çalışmaya azospermi şüphesi ile KSÜ SUA Hastanesine başvuran 418 erkek hasta dahil edilmiştir. Hastaların venöz kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır. Kullanılan kite ait prosedürler doğrultusunda 14 farklı primer dizisi kullanılarak gerçekleştirilen multiplex PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. PCR işleminden sonra sekans cihazında elektroforezi yapılan Y kromozomunu üzerindeki Sry, AMXY, AZFa, AZFb, AZFc ve AZFd bölgelerindeki mikrolelesyonları fragman analizi ile tespit edilmiştir. Azospermi ve oligospermi şüphesi konulan 418 hastanın 21'inde Y kromozom mikrolelesyonu belirlendi. Mikrolelesyonlu bölgelere göre dağılımı ise şu şekildedir: 4 hasta da AZFa, 19 hastada AZFb, 15 hastada AZFc, 10 hastada AZFd bölgelerinde delesyon saptanmıştır. Aynı zamanda 21 hastanın 19 tanesinde AZFb bölgesi üzerinde bulunan RBMY bölgesinin delesyonlu olduğu görülmüştür. Kite bulunan AMYX bölgesi Amilogenin gen dizisini içermekte olup 418 hastanın AMYX bölgesinin analizi yapıldığında 7(%1,64) sinde ise Klinefelter sendromu şüphesi ile detaylı inceleme için karyotip analizi önerilmiştir. Çalışmamızda Kahramanmaraş yöresinde bulunan erkeklerde y kromozom mikrolelesyonu sıklığı araştırılması amaçlanmış ve infertilite sorunu ile hastaneye başvuran bireylerin %5,02 ünün y kromozom mikrolelesyonu taşıdığı saptanmıştır. Y kromozom mikrolelesyonu ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda ise benzer oranlar bulunmuştur. Ayrıca yapılan araştırmalarda delesyon sıklığı en çok AZFa ve AZFb de görüldüğü bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise benzer sonuçlar elde edilmiş olup 21 hastanın 19 unda AZFb bölgelerinde özellikle RBMY bölgesinde delesyon görülmüştür. Bu çalışmalar doğrultusunda AZFb bölgesi y kromozom mikrolelesyon analizi için genetik marker olarak kullanılabilir.

Determination of Y chromosome microdeletions in infertile male in kahramanmaras region

İlkay Adanır¹, Ramazan Güneşar², Mustafa Çelik², Bekir Mehmet Kelleci¹

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam University, department of bioengineering and Science

²Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Department of Medical Biology and Genetics

Y chromosome microdeletions are the most common molecular genetic causes of serious infertility in men. AZFa, AZFb, AZFc, and AZFd regions on Y chromosome are considered to be very important in spermatogenesis. In this study, 418 male patients who were admitted to KSU-SUA-Hospital with the suspicion of azoospermia were included. DNA was isolated from blood samples of the patients, a multiplex PCR process was carried out 14 different primer-pairs. Microdeletions in the Sry, AMXY, AZFa, AZFb, AZFc and AZFd regions on the Y chromosome electrophoresed on the sequencing device after PCR were determined by fragment analysis. Y chromosome microdeletions were identified in 21 of 418 patients with azoospermia suspicion. The distribution according to the microdeletion region is as follows: 4 patients had AZFa, 19 patients had AZFb, 15 patients had AZFc, and 10 patients had AZFd deletions. 19 out of 21 patients found that the RBMY area on the AZFb area was deleterious. When the AMYX region of 418 patients is analyzed, 7 cases may be suspicious in terms of Klinefelter's syndrome and karyotype analysis is recommended for detailed examination. It was aimed to investigate the frequency of Y chromosome microdeletions in men in Kahramanmaraş region and it was determined that 5.02% of the individuals who applied to the hospital with infertility problem were carrying chromosomal microdeletions. Similar results were found in other studies on Y chromosome microdeletion. In addition, it has been reported that the deletion frequency is mostly seen in AZFa and AZFb. AZFb region can be used as a genetic marker for chromosome microdeletion analysis in the context of these studies.

[illegible][illegible]

Y-Chromosome Microdeletion Analyses in Patients

	S R Y	A M X Y	S Y 8 4	S Y 8 6	P R O X 2	S Y 1 2 7	S Y 1 3 3	S Y 1 3 4	R B M Y	S Y 1 5 7	S Y 2 5 4	S Y 2 5 5	S Y 1 5 2	S Y 1 5 3
Pa tie nt 1									X					
Pa tie nt 2						X			X	X				
Pa tie nt 3						X			X	X				
Pa tie nt 4						X			X	X				
Pa tie nt 5									X					
Pa tie nt 6						X	X	X	X	X	X	X	X	X
Pa tie nt 7							X	X	X	X	X	X	X	X
Pa tie nt 8						X			X	X				X
Pa						X			X					

PS - 042

İleri aterosklerozda miyozin fosfataz-RhoA interaksiyonlu protein ve metalloproteinaz-3 doku inhibitörünün rolleri

Evrin Komurcu Bayrak¹, Dilek Yılmazbayhan², Filiz Geyik
Guclu¹, Mehmet Cavlak³, Turgay Erginel⁴, Nihan Erginel
Unaltuna¹

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

²*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

⁴Genel Cerrahi Bölümü, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul

Amaç: Metalloproteinaz 3'ün doku inhibitörü olan TIMP-3, anjiyogenez, metabolik inflamatuvar sinyal iletimi ve ekstrasellüler matrisi modellemelerinin kontrolünde önemli bir role sahiptir. Myosin fosfataz-RhoA etkileşen protein (MRIP) ise biriskelet proteinidir. Bu çalışmada, post-mortem ileri aterosklerotik plaklarda MRIP ve TIMP-3 ekspresyon profillerinin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada, post-mortem koroner kalp hastalığı (KKH) olgularından ileri aterosklerotik plaklı (CHD-P) (n = 26) ve plak içermeyen (CHD-nonP) koroner arter örnekleri ve aynı zamanda non-kardiyak travma olgularından alınan aterosklerotik arter örnekleri (T-nonP) (n: 4) çalışıldı. MRIP ve TIMP-3 genleri ile onların regülasyonunu sağlayan miR-21'in anlatım seviyeleri, qRT-PCR tekniği kullanılarak analiz edildi. MRIP ve TIMP-3 proteinleri, plaklı/plaksız arterlerin donmuş kesitlerinde floresan-immünohistokimya protokolü ve konfokal tarama lazer mikroskopisi ile analiz edildi.

Bulgular: miR-21 ekspresyonunda değişiklik katsayısının (FC), CHD-P grubunda (FC, 3.72) ve CHD-nonP grubunda (FC, 2.10), T-nonP grubuna (FC, 0.77) kıyasla arttığı tespit edildi ($p=0.038$). miR-21'in hedefleri olan TIMP3 ve MRIP gen anlatımlarının, ileri aterosklerotik plaklarda (CHD-P) CHD-nonP'ye kıyasla anlamlı olarak azalmış olduğu belirlendi (sırasıyla; FC: 1.47'ye karşı FC: 2.99, $p=0.01$ ve FC:1.06'ya karşı FC: 2.09, $p=0.04$). MRIP ve TIMP-3 proteinleri, plaklı/plaksız arter kesitlerinde düz kas hücrelerinde tespit edildi. İleri aterosklerotik lezyonu olan arter, histopatolojik olarak kalsifiye tip VII lezyon olarak tanımlandı.

Sonuç: MRIP ve TIPM3'ün azalmış anlatım düzeylerinin ateroskleroz gelişiminde etkin bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje Numaraları: 28473 ve 21496).

The roles of myosin phosphatase-RhoA interacting protein and tissue inhibitor of metalloproteinase-3 in advanced atherosclerosis

Evrin Komurcu Bayrak¹, Dilek Yılmazbayhan², Filiz Geyik
Guclu¹, Mehmet Cavlak³, Turgay Erginel⁴, Nihan Erginel
Unaltuna¹

¹*Istanbul University, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Department of Genetics, Istanbul*

²*Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Pathology, Istanbul*

³Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Forensic Medicine, Ankara

⁴General Surgery Department, Istanbul Training and Research Hospital, Istanbul

Objective: Tissue inhibitor of Metalloproteinase 3 (TIMP-3) has an important role in the control of extracellular matrix remodelling, angiogenesis and metabolic inflammatory signals. Myosin phosphatase-RhoA interacting protein (MRIP) is a scaffold protein. Aim of the present study was determined the expression profiles of MRIP and TIMP-3 in post-mortem advanced atherosclerotic plaques.

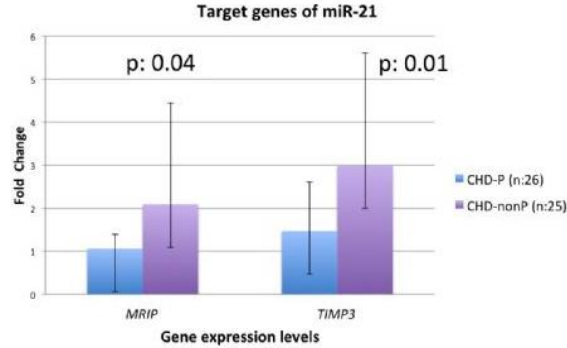
Materials-Methods: The advanced atherosclerotic plaques (CHD-P) (n=26) and without plaque (CHD-nonP) (n: 25) artery samples from post-mortem cases with coronary heart disease (CHD) and also non-atherosclerotic coronary artery samples (T-nonP) (n=4) from non-cardiac trauma cases was studied. The MRIP, TIMP-3 and miR-21 expression levels were analyzed using qRT-PCR technique. MRIP and TIMP-3 were analyzed on frozen tissues by fluorescence-immunohistochemistry protocol and confocal microscopy.

Results: The expression of miR-21 was found to be up-regulated in CHD-P group (FC, 3.72) and CHD-nonP group (FC, 2.10) when compared to T-nonP group (FC, 0.77) ($p=0.038$). The TIMP3 and MRIP as targets of miR-21 were expressed significantly lower in advanced atherosclerotic plaques (CHD-P) as compared to CHD-nonP (FC, 1.47 vs FC, 2.99, $p=0.01$ and FC, 1.06 vs FC, 2.09, $p=0.04$, respectively). MRIP and TIMP-3 proteins were detected on smooth muscle cells of coronary arteries on sections artery with/without plaque. The artery with advanced atherosclerotic lesion was defined as calcify type VII lesion in histopathology sections.

Conclusion: It shows that reduced expression of MRIP and TIPM3 may play an effective role in the development of atheroma.

This study was supported by Scientific Research Projects Coordination Unit of Istanbul University (Project numbers: 28473 and 21496)

MRIP ve TIMP3 gen anlatım seviyeleri The expression levels of MRIP and TIMP3 genes



İstatistiksel olarak anlamlı olan MRIP ve TIMP3 gen anlatım değişimlerinin CHD grubunda non-travma koroner arter örneklerine (kalibratör) göre kıyaslamaları. p değerleri ANOVA testi ile hesaplandı.

The expression differences of statistically significant MRIP and TIMP3 genes in CHD groups compared to the non-cardiac trauma coronary artery sample (calibrator). p-values calculated with the ANOVA test.

PS - 043

miRNA aracılı gen regülasyonunda PTEN geninin 3'UTR bölgesindeki dizi varyantlarının rolü

Neslihan Çoban¹, Dilek Pirim², Aycahan Fahri Erkan³, Filiz Güçlü Geyik¹, Berkay Ekici³, Nihan Erginel Ünalıtuna¹

¹Genetik Anabilim Dalı, Aziz Sancaı Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fen Fakültesi, Muş Arpaıslan Üniversitesi, Muş, Türkiye

³Kardiyoloji Bölümü, Tıp Fakültesi, Ufuk Üniversitesi, Ankara, Türkiye

Amaç: Yakın zamanda yapılan çalışmalarda, PTEN gen polimorfizmlerinin koroner arter hastalık (KAH) riskini etkilediğı belirlenmiştir. Önceki çalışmalar, miR-26a'nın PTEN ekspresyonunda rol oynadığını göstermektedir. Bu çalışma da, PTEN geninin 3'UTR'sinde (untranslated bölge) bulunan varyantların miR-26a bağlanma bölgelerinde bulunabileceğini ve PTEN gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol alabileceğini varsaydık.

Gereç-Yöntem: Anjina veya akut miyokard enfarktüsü geçirmiş ve koroner anjiyografi yapılan 192 kişi normal koroner arter (koroner lezyon <= % 30 darlık) ve kritik hastalık (>= 1 koroner lezyon >= % 70 darlık) taşımalarına göre iki gruba ayrıldı. Gensini ve SYNTAX skorları ve miyokard tüllenme skoru (myocardial blush grade, MBG) değerlendirildi. MiRDB hedef öngörme aracı, farklı şekilde eksprese edilen miRNA'lar için ateroskleroz yolağında yer

alan miRNA hedef genlerini tanımlamak için kullanıldı. miR-26a ekspresyon düzeyleri, KAH'lı 57 hasta ve 42 sağlıklı kontrolde gerçek zamanlı PCR kullanılarak analiz edildi. Buna ek olarak, ciddi KAH'lı 96 hastada ve 96 sağlıklı kontrolde, PTEN geni 3'UTR bölgesini, illumina MiSeq dizileme platformunu kullanarak yeni nesil dizilemesi ile diziledik.

Bulgular: Gerçek zamanlı PCR sonuçları, KAH'lı hastalarda miR-26a'nın ekspresyon düzeyinin arttığını gösterdi. MiRDB hedef tahmin skorlarına dayanarak, miR-26a için PTEN geninin güçlü bir aday (hedef skor > 90) olduğu tespit edildi. İlk olarak, PTEN geninin 3'UTR'sinde varsayılan miRNA-bağlama bölgelerinde bulunabilecek 2 yeni varyant dahil olmak üzere toplam altı dizi varyantı tespit ettik. Valide edilmiş dizi varyantlarının ileri analizleri fonksiyonel çalışmalar ile yapılacaktır.

Sonuç: miRNA bağlanma bölgelerindeki polimorfizmlerin PTEN geninin miRNA aracılı regülasyonunu olumlu ve olumsuz etkileyebileceğini düşünmekteyiz.

Role of sequence variants in the 3'UTR of PTEN gene in miRNA-Mediated gene regulation

Neslihan Çoban¹, Dilek Pirim², Aycahan Fahri Erkan³, Filiz Güçlü Geyik¹, Berkay Ekici³, Nihan Erginel Ünalıtuna¹

¹Department of Genetics, Institute for Experimental Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey

²Department of Molecular Biology and Genetics, Mus Alparslan University, Mus, Turkey

³Department of Cardiology, Medical Faculty, Ufuk University, Ankara, Turkey

Objective: Recent studies identified polymorphisms in the PTEN gene influencing risk of coronary artery disease (CAD). Previous studies have been shown that miR-26a play a role in PTEN expression. We hypothesized that variants located in 3'UTR (untranslated region) of PTEN gene may locate in miR-26a binding sites and involve in regulating PTEN.

Materials-Methods: 192 patients with angina or acute myocardial infarction who underwent coronary angiography were divided into 2 groups: normal coronary arteries (coronary lesion with <=30% stenosis) and critical disease (>=1 coronary lesion with >=70% stenosis). Gensini and SYNTAX scores and myocardial blush grade were assessed. MiRDB target prediction tool was utilized to identify miRNA target genes involved in atherosclerosis pathway for differently expressed miRNAs. Expressions of miR-26a was analyzed by using real-time PCR in 57 patients with CAD and 42 healthy controls. In addition, we sequenced the PTEN gene 3'UTR region in 96 patients with severe CAD and 96 healthy control subjects by next generation sequencing using illumina MiSeq sequencing platform.

Results: Real-time PCR results showed miR-26a was upregulated in patients with CAD. PTEN gene was strong candidate (target score >=90) for miR-26a based on miRDB target prediction scores. Initially, we identified a total of six sequence variants, including 2 novel variants, that may locate within putative miRNA-binding sites in the 3'UTR of

the *PTEN* gene. Validated sequence variants will be further analysed by functional studies.

Conclusion: We suggest that polymorphisms in miRNA binding sites can both positively and negatively affect miRNA-mediated regulation of *PTEN* gene.

PS - 044

Stargart hastalığı olan Türk hastalarda ABCA4 geninin yeni mutasyonu

Halil Özbaş¹, Handan Bardak², Murat Günay³, Yeşim Erçalık², Yavuz Bardak², Murat Sönmez⁴, Ali Ayata⁴, Cengiz Alagöz⁵

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD

²Haydarpaşa Numune Eğitim Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Kliniği

³*Zeynep Kamil Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Kliniği*

⁴GATA Haydarpaşa Eğitim Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Kliniği

⁵Prof. Dr. N. Resat Belger Beyoglu Göz Hastalıkları Eğitim
Araştırma Hastanesi

Amaç: Stargart hastalığı olan Türk hastalarda ATP-binding cassette transporter type A4 (ABCA4) geninin mutasyonlarının taranması

Gereç-Yöntem: Hasta grubu Stargart Hastalığı (STGD) tanısı alan toplam 30 probant idi. Birbiri ile herhangi bir bağı olmayan exom sekans verileri olan 250 sağlıklı kişi Kontrol grubunu oluşturdu. Her iki grup Next Generation Sekanslama tekniği ile analiz edildi. Amino asit değişimleri 3 farklı bioinformatik araçla (SIFT, PolyPhen, Mutation Taster) analiz edildi.

Bulgular: Hasta grubunda ABCA4 geninde 8 genetik varyasyon tesbit edildi. Bu varyasyonların 6 tanesi tek nükleotid polimorfizmi idi. Diğer iki varyasyon ise literatürde daha önce tanımlanmamıştı. Bu iki varyasyondan biri intronik bölgedeydi (IVS40+1G>T). Diğer varyasyon, ABCA4 geninin 13. Ekzonunda bir missens amino asit değişimine neden olan Y603H varyasyonuydu. Her iki değişiklik de patolojik olarak değerlendirildi. Yeni mutasyonun türler arasında yüksek derecede korunduğu da gösterildi.

Sonuç: ABCA4 geni mutasyonları etnik gruplar arasında farklılıklar göstermektedir. Türk toplumunda ilk kez yapılan STGD hastalarında ABCA4 geninde tarama ile bulunduğumuz mutasyonun hastalığın etyopatogenezi ile ilişkili olabileceğini düşünüyoruz.

Novel mutation of ABCA4 gene In Turkish patients with stargardt disease

Halil Özbaş¹, Handan Bardak², Murat Günay³, Yeşim Erçalık², Yavuz Bardak², Murat Sönmez⁴, Ali Ayata⁴, Cengiz Alagöz⁵

¹Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Suleyman Demirel University, 32260 Isparta, Turkey

²Department of Ophthalmology, Haydarapasa Numune Training and Research Hospital, 34668 Istanbul, Turkey

³Department of Ophthalmology, Zeynep Kamil Maternity and Children's Diseases Training and Research Hospital, 34668 Istanbul, Turkey

⁴Department of Ophthalmology, GATA Haydarapasa Training and Research Hospital, 34668 Istanbul, Turkey

⁵Prof. Dr. N. Resat Belger Beyoglu Eye Training and Research Hospital, 34421 Istanbul, Turkey

Objective: To screen the ATP-binding cassette transporter type A4 (ABCA4) gene mutation in Turkish patients with Stargardt disease.

Materials-Methods: A total of 30 probands with STGD formed the patient group. The control group consisted of 250 unrelated healthy subjects with exome sequencing data. Both groups were analyzed by using Next Generation sequencing technique. Aminoacid changes were analyzed with 3 different bioinformatic tools (SIFT, PolyPhen, Mutation Taster).

Results: In the patient group, 8 genetic variations in the ABCA4 gene were detected. Six of the genetic variations were single nucleotide polymorphism. The other 2 detected variations were not defined in the literature before. One of the variations was intronic region variation (IVS40+1G>T). The other one was the Y603H missense aminoacides change in the 13th exon of the ABCA4 gene. The both the changes were found to be pathologic. It has been revealed that the new detected mutation is highly preserved in the variants.

Conclusion: The mutations in the ABCA4 gene show variations in the ethnic groups. We suppose that mutation in the ABCA4 gene in the STGD patients, which we found with the first genetic screening in the Turkish population, could be associated with the etiopathogenesis of the disease.

PS - 045

Alazami sendromu tanısı alan iki kız kardeşte, LARP7 geninde tanımlanmamış mutasyon

Aşkın Şen¹, Tülay Tos², Ebru Tunçez³, Deniz Şen¹, Serdar Ceylaner⁴

¹Fırat Üniversitesi Hastanesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Elazığ

²Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genetik Polikliniği, Ankara

³*Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Genetik Polikliniği, Şanlıurfa*

⁴*Intergen Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi, Ankara*

Amaç: Çeşitli klinik bulguları olan iki kardeşin tanısının konulması.

Olgu: 10,5 (Olgu 1) ve 6 (Olgu 2) yaşlarında iki kız kardeş Tıbbi Genetik Polikliniği'ne ebeveynleri tarafından getirilmiştir. Her iki olgunun muayenesinde, boy kısalığı, motor-mental retardasyon (MMR), mikrosefali ortak bulgu olarak tespit edilmiştir. Ön tanı Alazami Sendromu (OMIM, # 615071) olan kardeşlerin LARP7 geni dizi analizi yöntemi ile incelenmiştir.

Sonuç: LARP7 geninde daha önce tanımlanmamış olan, p.K278* (c.832A>T) değişikliği homozigot olarak her kardeşte tespit edilmiştir. Değişikliğin daha önce bildirilmediği, yeni tanımlanmış bir mutasyon olduğu anlaşılmış olup, her iki kardeşe de Alazami Sendromu tanısı konulmuştur. Annede ve babada taşıyıcılık analizi yapılmış olup, her iki ebeveynin de LARP7 geninde aynı mutasyonu heterozigot olarak taşıdıkları ispat edilmiştir. Aileye, genetik danışmanlık verilmiştir.

Two sister diagnosed as alazami syndrome have a novel mutation on LARP7 gene

Aşkın Şen¹, Tülay Tos², Ebru Tunçez³, Deniz Şen¹, Serdar Ceylaner⁴

¹Firat University Hospital, Medical Genetics Department, Elazig

²Dr. Sami Ulus Gynecology, Children Health and Diseases Education and Research Hospital, Genetics Polyclinic, Ankara

³Sanliurfa Education and Research Hospital, Medical Genetics Polyclinic, Sanliurfa

⁴*Intergen Genetic Diseases Diagnosis Center, Ankara*

Objective: Diagnosing two sister who have various clinical findings.

Case: Two sister at the age of 10,5 (Case 1) and 6 (Case 2) are admitted to Medical Genetics Polyclinic. After clinical examining, short stature, motor-mental retardation (MMR) and microcephaly were observed as common findings for both of two cases. Our initial diagnosis was Alazami Syndrome (OMIM, # 615071) and LARP7 gene was sequenced for both of two cases.

Conclusion: After sequence analysis, a homozygous novel mutation p.K278* (c.832A>T) was identified on their LARP7 gene. It is recognised as a new mutation and after that, both of sister are diagnosed as Alazami Syndrome. Parental carrier analysis was performed and we proved that both of parents are heterozygous mutation carrier for the same gene. Genetic counselling provided to family.

PS - 046

Balıkesir bölgesinde ailesel Akdeniz ateşi öntanısı alan hastalarda MEFV mutasyon sıklığı

Ayla Solmaz Avcıkurt

Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı,
Balıkesir

Amaç: Balıkesir bölgesinde Ailesel Akdeniz Ateşi (AAA) ön tanısı ile başvuran hastalarda MEFV gen mutasyon sıklığının yaşa, cinsiyete ve mutasyon sayısına göre dağılımının incelenmesi.

Gereç-Yöntem: Hastanemizde Ağustos2013-Nisan 2017 tarihleri arasında AAA ön tanısı ile başvuran hastaların, AAA mutasyon analiz raporları retrospektif olarak değerlendirildi. Hastaların MEFV mutasyon sıklığının cinsiyet ve yaşa göre dağılımı değerlendirildi. Çalışmada AAA ön tanısı ile başvuran hastalarda MEFV ekzon 2' de E148Q, ekzon 3'te P369S, ekzon 10'da M694V, M680I, M694I, V726A, R761H ve K695R mutasyonları değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmaya 116'si(%55,76) kadın ve 92'si (%44,24) erkek olmak üzere toplam 208 hasta alındı. Hastaların genel yaş ortalaması Kadınlarda %36,20 oranında MEFV gende mutasyon tespit edildi. Erkeklerde ise %46,73 oranında mutasyon tespit edildi. Hastaların genel yaş ortalaması 21,80±15,52 (2-66) idi. Hastaların genelinde mutasyon görülme sıklığı %40,86 idi. Cinsiyete göre dağılıma bakıldığında kadınlarda %36,20, erkeklerde %46,73 mutasyon vardı.

Sonuç: Çalışmamızda Balıkesir Bölgesinde AAA mutasyon analizi yapılan hastalarda MEFV gen mutasyonu görülme sıklığı %40,86 olarak bulunmuştur.

MEFV Mutation Frequency Patients with Pre-diagnosis Familial Mediterranean Fever In The Balıkesir Region

Ayla Solmaz Avcıkurt

*Balikesir Universty Medical Faculty, Medical Biology
Department, Balikesir*

Objective: Investigation of the frequency of MEFV gene mutation according to age, sex and number of mutations in patients with pre-diagnosis Familial Mediterranean Fever (AAA) prevalence in Balikesir region.

Materials-Methods: AAA mutation analysis reports of patients who applied with AAA pre-diagnosis between August 2013 and April 2017 were retrospectively evaluated. The distribution of MEFV mutation frequency according to gender and age was evaluated. In the study, mutations of E148Q in exon 2 of MEFV, P369S in exon 3, M694V, M680I, M694I, V726A, R761H and K695R in exon 10 were evaluated in patients who applied with AAA pre-diagnosis.

Results: A total of 208 patients were enrolled, 116 of whom were female (55.76%) and 92 (44.24%) were males. Overall age average of patients 36.20% MEFV genderm mutation was detected in females. In males, 46.73% mutation was detected. The mean age of the patients was $21,80 \pm 15,52$ (2-66). The overall incidence of mutation was 40.86%. When analyzed by sex, there was 36.20% in females and 46.73% in males.

Conclusion: In our study, the frequency of MEFV gene mutation was found to be 40.86% in patients who had AAA mutation analysis in Balıkesir Region.

PS - 047

Kararlı biçimde yabancı tip veya mutant FTO (Fat mass and obesit associated) proteinlerini ifade eden SH-SY5Y hücrelerinin fosfoprotein profillerinin karşılaştırmalı analizi

Aylin Kanlı, Gürler Akpınar, Murat Kasap, Mehmed
Zülfigarova, Mehmet Doğan Gülkaç

*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
Kocaeli*

Amaç: Genome wide association çalışmaları (GWAS) ile başlangıçta obezite ile ilişkilendirilen FTO'nun daha sonra yapılan pek çok çalışma ile metabolik hastalıklar (obezite, Tip 2 diyabet ve polikistik over), kanser (melanoma, meme, endometrial, pankreatik, prostat, kolorektal, akciğer ve böbrek), beyin hastalıkları (beyin hacmi eksikliği ve Alzheimer's hastalığı) ve kardiyovasküler sistem ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. FTO, ALKB ile ilişkili hem-olmayan Fe (II) / 2-OG'ye bağlı oksidatif DNA / RNA demetilaz süper familyasına ait nükleer bir proteindir. İn vitro, Fe²⁺ ve 2-OG varlığında, FTO'nun tek-iplikli DNA'da 3-meT'in, tek-iplikli RNA'da ise 3-meU'in ve hem DNA hem de RNA'da 6-meA'in demetilasyonunu katalizlediği gösterilmiştir. Bu in vitro çalışmalar, FTO'nun fizyolojik rolünün nükleik asit tamiri veya modifikasyonu ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Bununla birlikte, bu proteinin tam fizyolojik fonksiyonu hala bilinmemektedir. Bu çalışmada, yabani tip (WT) ve mutant tip (R316Q ve V493F) FTO protein formlarının ekzojen şekilde eksprese edilmesinden sonra fosfoproteom düzeyinde değişiklikler üzerinde duruldu.

Gereç-Yöntem: Bu amaçla, ya WT ya da mutant FTO proteinlerini eksojen olarak eksprese eden SH-SY5Y hücrelerinden hazırlanan protein ekstraktları 2D jel elektroforezine tabi tutuldu. ProQ-Diamond boyaması fosfoproteinleri görüntülemek için yapıldı ve fosfoprotein spotlarını normalize etmek için kullanılan SYPRO Ruby boyaması total proteinleri görüntülemek için kullanıldı.

Bulgular: WT veya mutant FTO proteinlerinin ekspresyonu sonrasında fosfoprotein ekspresyonu paternlerinde bir değişiklik görülmedi.

Sonuç: Karşılaştırmalı protein spot analizinden sonra, WT veya mutant FTO proteinlerinin ekspresyonunun SH-SY5Y hücrelerinin fosfoprotein ekspresyon paternleri üzerinde belirgin bir etkisi olmadığı sonucuna varıldı. Bu çalışma 113S965 numaralı TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir.

Comparative analysis of phosphoprotein profiles of SH-SY5Y Cells stably expressing the wild type or the mutant FTO (Fat mass and obesity associated) proteins

Department of Medical Biology, Medical Faculty, Kocaeli University, Kocaeli

Objective: Genome wide associations studies have shown that FTO, initially associated with obesity, is also associated with other diseases, including type-2-diabetes, polycystic ovary, melanoma, breast endometrial, pancreatic, prostate, colorectal, lung and kidney cancers, brain volume deficit, Alzheimer's disease and the cardiovascular system disorders. FTO is a nuclear protein belonging to the oxidative DNA/RNA-demethylase superfamily associated with AlkB-related non-Fe(II)/2-OG. In vitro, in the presence of Fe²⁺ and 2-OG, FTO has shown to catalyze demethylation of 3-meT from a single-stranded DNA, 3-meU from a single-stranded-RNA and 6-meA from both DNA and RNA. These in vitro studies suggest that the physiological role of FTO may be related to nucleic acid repair or modification. However, the exact physiological function of this protein is still unknown. In this study, changes in the level of phosphoproteomes after exogenous expression of the wild type (WT) and mutant type (R316Q and V493F) FTO proteins were studied.

Materials-Methods: For this purpose, protein extracts prepared from SH-SY5Y cells exogenously expressing either WT or one of the mutant FTO proteins were subjected to 2D gel electrophoresis. ProQ Diamond staining was performed to visualize phosphoproteins and SYPRO ruby staining was performed to visualize total proteins which were used for normalization of the phosphoprotein spots.

Results: There were no changes in the patterns of phosphoprotein profiles.

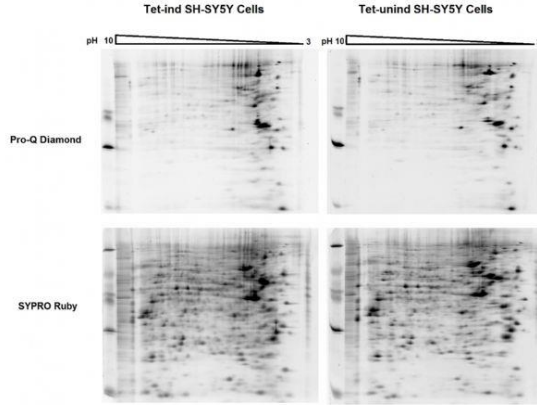
Conclusion: After comparative protein spot analysis, it was concluded that the expression of the WT or the mutant FTO proteins did not have a significant effect on the expression patterns of phosphoprotein profiles in SH-SY5Y cells.

Bu çalışma 113S965 numaralı TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir.

Aylin Kanlı, Gürler Akpınar, Murat Kasap, Mehine Zülfigarova, Mehmet Doğan Gülkac

Tet indüksiyonu yapılmış (ind) ve yapılmamış (unind) SH-SY5Y hücrelerden elde edilen proteinlerin ProQ ve Sypro boyaması yapılmış 2D jelleri.

ProQ and Sypro stained 2D gel images of proteins from Tet-induced (ind) and uninduced (unind) SH-SY5Y cells.



PS - 048

Otozomal resesif osteopetrozis tanılı olgularda TCIRG1 ve SNX10 gen mutasyonları

Gamze Koçak¹, Banu Nur Güzel², Ercan Mıhçı², Hakan Akkurt¹, Esra Manguoğlu¹

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Genetik Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye

Otozomal resesif osteopetrozis (ARO; OMIM #259700) kemik yıkımından sorumlu osteoklast hücrelerindeki bozuluktan kaynaklanan, yoğun ve kırılabilir kemik ile karakterize nadir ve şiddetli bir genetik kemik hastalığıdır. Bu çalışmada, olguların sırasıyla %50 ve %4'ünden sorumlu olan TCIRG1 ve SNX10 mutasyonlarının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya 12 olgu dahil edilmiş olup tanı yaşı 0-37 ay arasındadır. TCIRG1 ve SNX10 genlerinin kodlayıcı ekzonları (ekzon 2-20 ve ekzon 2-7, sırasıyla), periferik kandan DNA izolasyonunun ardından PZR yöntemiyle çoğaltılmıştır. Sanger dizileme yöntemi ile dizilenen ampikonlar mutasyonlar açısından değerlendirilmiştir.

Olgulardan birinde intron 6'da heterozigot olarak tanımlanan g.9483G>T (IVS6+1G>T) kesim bölgesi mutasyonu "splicing" ve diğer bir olguda ekzon 15'te homozigot olarak tanımlanan g.10170_10171delTG (p.V595LfsX74) mutasyonu bu çalışmada tanımlanmıştır. Bir diğer hastada birleşik heterozigot olarak; ekzon 7'de bilinen bir g.9574_9599del26 (p.Met217fsX) 26 bp'lik delesyonu ve ekzon 12'de yine bilinen bir g.13698G>A (p.Gly458Ser) yanlış anlamlı mutasyonu bulunmuştur.

Bilinen bir g.11240G>A (IVS18+1G>A) kesim bölgesi mutasyonu ise bir diğer olguda homozigot olarak gözlenmiştir. SNX10 geninde ise olgulardan birinde ekzon 7'de yeni bir g.85603C>G (p.Ser177=) değişimi heterozigot olarak saptanmıştır.

Bulunan mutasyonların ekzonlardaki dağılımı hastalığın genetik olarak heterojenitesini göstermektedir. Heterozigot olarak bulunan mutasyonlar dikkate alındığında büyük yeniden düzenlemelerin başka yöntemlerle değerlendirilmesi gerekmektedir.

Çalışmada daha önce tanımlanmayan üç yeni mutasyon tanımlanmıştır. Bir olguda saptanan birleşik heterozigotluk durumu ise literatürde daha önce rapor edilmemiştir. Bu çalışmada saptanan yeni mutasyonlar ARO'nun genetik etiyojisine katkı sağlamaktadır.

TCIRG1 and SNX10 gene mutations in the patients with autosomal recessive osteopetrosis

Gamze Koçak¹, Banu Nur Güzel², Ercan Mıhçı², Hakan Akkurt¹, Esra Manguoğlu¹

¹Akdeniz University School of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Antalya, Turkey

²Akdeniz University School of Medicine, Division of Pediatric Genetics, Antalya, Turkey

Autosomal recessive osteopetrosis (ARO; OMIM#259700) is a rare and severe genetic bone disease characterized by dense and fragile bone, caused by a defect in osteoclasts responsible for bone destruction. In this study, we aimed to investigate the mutations in TCIRG1 and SNX10 that are responsible for 50% and 4% of the cases, respectively.

12 cases aged between 0 and 37 months were included in the study. The coding exons of TCIRG1 and SNX10 (exon 2-20 and exon 2-7, respectively) were amplified by using PCR after DNA isolation from peripheral blood. All amplicons were sequenced by Sanger sequencing.

As a result, two novel mutations namely g.9486G>T(IVS6+1G>T) splice-site mutation in intron 6 that is described in one of the patients as heterozygous and g.10170_10171delTG mutation (p.V595LfsX) in exon 15 of the gene which is identified in another patient in the homozygous state. A compound heterozygosity of known mutations g.9574_9599del26(p.Met217fsX) deletion in exon 7 and g.13698G>A(p.Gly458Ser) missense mutation in exon 12 was found in another patient. A known g.11240G>A(IVS18+1G>A) splice-site mutation was also observed as homozygous in another patient. In SNX10, a novel g.85603C>G(p.Ser177=) variation in exon 7 was detected as heterozygous in a patient.

The distribution of the mutations found in the exons shows the genetic heterogeneity of the disease. When considered heterozygous mutations, large-scale rearrangements need to be evaluated by other methods.

. PS - 050

Ailesel amiloidozis polinöropatisi olduğu düşünülen olgularda *TTR* gen mutasyonlarının araştırılması

Pinar Bahsi¹, Sezin Yakut Uzunuer¹, Hilmi Uysal², Sibel Berker Karaüzüm¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Antalya

Transtiretin Ailesel Amiloidozis Polinöropati (TTR-FAP; OMIM #105210) yavaş ilerleyen ve otozomal dominant kalıtım gösteren nadir bir hastalıktır. Organ ve dokularda transtiretin amiloid adı verilen proteinin anormal birikimi (amiloidozis) sonucu ekstremitelerde duyu kaybına sebep olan periferik sensorimotor nöropatiler, otonomik nöropatiler veya kardiyomiyopati, nefropati, vitröz opasiteler gibi patolojileri içeren nöropatik olmayan değişimlerle karakterizedir. Ailesel Amiloidozis Polinöropati (FAP)'lerin TTR geninde meydana gelen mutasyonlar ile ilişkili olduğu belirtilmekle beraber, bu değişimlerin %10'undan azı herhangi bir patoloji oluşturmamaktadır. Bu çalışmada, nöromusküler poliklinikinde tanı zorluğu çekilen ve polinöropatisi olduğu düşünülen olgularda TTR mutasyonlarının araştırılması amaçlanmıştır.

Polinöropatisi olduğu düşünülen 30 olgunun periferik kanından DNA izolasyonu sonrasında, TTR geninin kodlayıcı 1,2,3 ve 4. ekzonu PZR yöntemiyle çoğaltılmıştır. Elde edilen ampliconlar, Sanger dizileme yöntemi ile mutasyonlar açısından değerlendirilmiştir. Sekans sonuçlarına göre, bir olguda ekzon 2'de tanımlanan g.6136G>A (c.76G>A, p.Gly26Ser) tek nükleotid değişimi bulunmuştur. Yirmi dokuz olguda ise herhangi bir değişime rastlanmamıştır.

Yapılan literatür taramasına göre; 26. pozisyonadaki glisin aminoasitinin serine (p.Gly26Ser) dönüşümü, beyaz ırk popülasyonunda sık karşılaşılan ve non-amiloidojenik bir polimorfizm olup; NCBI veri tabanında TTR geninin bening allelik varyantı olarak tanımlanmıştır. TTR geninde meydana gelen ancak FAP ile ilişkili patojenik bir etki yaratmayan bu değişim sonucu oluşan varyant protein, serumda bulunan tiroksin proteinine bağlanma afinitesinin artması sonucu total serum tiroksin konsantrasyonunu artırarak Ailesel Ötiroid Hipertiroksinemi hastalığına sebep olduğu literatürde gösterilmiştir.

TTR-FAP'da gözlenen klinik tablonun heterojenitesi; mutasyon, epigenetik ve çevresel faktörler tarafından etkilendiği için, transtiretin ailesel amiloidozunun tanısını koymak oldukça güçtür. Dolayısıyla, TTR-FAP'ın kesin tanısı için, multidisipliner bir yaklaşım gösterilmelidir.

Investigation of *TTR* gene mutations in cases with apparently familial amyloidosis polyneuropathy

Pinar Bahsi¹, Sezin Yakut Uzunuer¹, Hilmi Uysal², Sibel Berker Karaüzüm¹

¹*Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Antalya, Turkey*

²Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Neurology, Antalya, Turkey

Transthyretin Familial Amyloidosis Polyneuropathy (TTR-FAP;OMIM-#105210) is a rare disease with slowly progressing and inherited as autosomal dominant. It is characterized by peripheral sensorimotor neuropathy causing sensory loss in limbs; autonomic neuropathies, or non-neuropathic changes including cardiomyopathy, nephropathy, vitreous opacities caused by accumulation of abnormal deposits of protein called transthyretin amyloid (amyloidosis) in organs and tissues. Familial Amyloidosis Polyneuropathy (FAP) is associated with mutations that occur in the TTR gene, but less than 10% of them are non-pathogenic. In this study, we aimed to investigate TTR mutations in cases diagnosed difficultly with polyneuropathy in neuromuscular polyclinic.

After isolating of 30 cases's –apparently having polyneuropathy- DNA from peripheral blood, the coding exons 1,2,3, and 4 of TTR were amplified by using PCR. All amplicons were evaluated after sequencing them by Sanger method.

As a result, a single nucleotide change, g.6136G>A (c.76G>A, p.Gly26Ser), was observed in exon 2 in one case. No changes were found in 29 cases.

In literature, the conversion of glycine-to-serine(p.Gly26Ser) at position 26 is non-amyloidogenic polymorphism found in high-frequency in Caucasians. It has been described as benign allelic variant of TTR in NCBI database. This variant proteins produced as a result of change which does not have a pathogenic effect associated with FAP have been shown in the literature to cause Familial Euthyroid Hyperthyroxinemia by increasing total serum thyroxine concentration because of their increased affinity for thyroxine.

Because clinical heterogeneity of TTR-FAP is affected by mutation, epigenetic and environmental factors, it is difficult to diagnose transthyretin amyloidosis. Therefore, a multidisciplinary approach should be demonstrated for the proper diagnosis of TTR-FAP.

PS - 051

Cinsel suç işlemiş kişilerde COMT (Val158Met) ve BDNF (Val66Met) genlerinin incelenmesi

Müjgan Cengiz¹, Esmâ Cezayirli², Hızır Aslıyüksek³, Burcu Bayoğlu¹, Neşe Kocabaşoğlu⁴

¹*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı*

²*İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri Anabilim Dalı*

³*İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Tıp Bilimleri Anabilim Dalı*

⁴*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Psikiyatri
Anabilim Dalı*

Amaç: Çocuğun cinsel istismarı, dünyada önemli bir problemdir. Bunun nedenleri multifaktöriyel olarak kabul edilir. DeneySEL verilere göre bazı aday genler cinsel davranış bozukluklarının ortaya çıkmasında rol oynamaktadır. Katekol-O-metiltransferaz (COMT) geni Val158Met polimorfizmi (rs4680) ve BDNF geni Val66Met polimorfizmi çeşitli psikiyatrik hastalıklarla ilişkili bulunmuştur. Katekol-O- metil transferaz enzimi katekolamin, dopamin, epinefrin, norepinefrinin metabolik inaktivasyonunda yer alır. BDNF (beyinden türevlenmiş nörotrofik faktör) genellikle merkezi sinir sistemi nöronlarından sentezlenir. BDNF geninin dopamin ve serotonin üzerine etkisi bilinmemektedir. Çalışmamızda cinsel suç işleyenlerde ve kontrollerde Katekol-O-metiltransferaz (COMT) geni Val158Met polimorfizmi (rs4680) ve BDNF geni Val66Met polimorfizminin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Araştırmamız 70 cinsel suç işlemiş erkek birey ile yaş ve cinsiyet uyumlu 100 kontrolde COMT geni Val158Met polimorfizmi (rs4680) ve BDNF geni Val66Met polimorfizmi gerçek zamanlı PCR yöntemiyle incelendi ve genotip ve allel frekansları hesaplandı.

Bulgular: COMT geni Val158Met genotip frekansları hasta grupta GG %31.4, GA %45.7, AA %22.9, kontrol grubunda GG %24.3, GA %45.7, AA %8.6 olarak belirlendi, iki grup arasında anlamlı bir fark bulundu ($p=0.018$). BDNF geni Val66Met genotip frekansları hasta grupta GG %77.1, GA %21.4, AA %1.4, kontrol grubunda ise GG %65.7, GA %31.4, AA %2.9 olarak bulundu. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında BDNF polimorfizmi açısından iki grup arasında önemli bir fark bulunamadı ($p=0.317$).

Sonuç: Sonuç olarak; çalışmamızdan çıkan sonuçlara göre cinsel suç işleyenlerde COMT geninde anlamlı bir ilişki, BDNF geninde ise hastalıkla gen arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

COMT gene Val158Met and BDNF gene Val66Met polymorphisms in child sexual abusers

Müjgan Cengiz¹, Esmâ Cezayirli², Hızır Aslıyüksek³, Burcu Bayoğlu¹, Neşe Kocabaşoğlu⁴

¹*Istanbul University Cerrahpasa Medical Faculty Department of Medical Biology*

²*Istanbul University Institute of Forensic Sciences Department of Science*

³*Istanbul University Institute of Forensic Sciences Department of Medical Sciences*

⁴*Istanbul University Cerrahpasa Medical Faculty Department of Psychiatry*

Objective: Child sex abuse is an important problem in world wide. The reasons of sex abuse are considered as multifactorial. Genetic contribution claimed by recent studies is important for this pathologic behavior. The catechol-O-methyltransferase (COMT) gene Val158Met polymorphism (rs4680) and BDNF gene Val66Met polymorphism have been found to be associated with various psychiatric diseases. COMT enzyme is an important enzyme that plays a role in metabolic inactivation of catecholamine, dopamine, epinephrine, norepinephrine. BDNF (brain-derived neurotrophic factor) is a neurotrophic factor synthesized usually from central nervous system neurons. The effect of BDNF gene on dopamine and serotonin is known. In the present study it was aimed to examine COMT gene Val158Met polymorphism and BDNF gene Val66Met polymorphism in child sexual abusers and controls.

Materials-Methods: 70 child sexual abusers and 100 age and gender matched healthy controls participated to the study. The experiments were performed by a real-time PCR.

Results: COMT Val158Met genotype frequencies were determined as GG 31.4%, GA 45.7%, AA 22.9% in patients, GG 24.3%, GA 45.7%, AA 8.6% in controls and determined a positive relationship between groups ($p=0.018$). BDNF was determined as GG 77.1%, GA 21.4%, AA 1.4% in genotype frequencies of Val66Met polymorphism in patients, GG 65.7%, GA 31.4%, AA 2.9% in controls and determined a negative relationship between groups ($p=0.317$).

Conclusion: This research investigated COMT (Val158Met) and BDNF (Val66Met) in child sexual abuse. A positive relationship was found between sexual abuse and COMT; there was not an important relationship at BDNF according to findings.

*İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi tarafından
54609 numaralı proje ile desteklenmiştir.*

PS - 052

Obez bireylerde transmembran protein 18 (TMEM18) ve sinirsel büyüme regülatörü 1 (NEGR1) gen polimorfizmlerinin vücut kitle endeksi üzerine etkilerinin araştırılması

Müjgan Özdemir Erdoğan¹, Kamuran Avcı², Saliha Handan Gönenli Yıldız², Evrim Suna Arıkan Terzi¹, Zafer Söylemez², Nuray Varol²

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik ABD,
Afyonkarahisar

Amaç: GWAS analizlerinde obeziteyle ilişkilendirilen NEGR1 geni rs2815752 ve TMEM18 geni rs6548238 polimorfizmleri ile Afyonkarahisar ilindeki obezite hastaları arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamız bir vaka-kontrol çalışmasıdır. Polimorfizmler obezite teşhisi konmuş erkek (53) ve kadın (119) toplam 172 obez hastada ve erkek (37)ve kadın (40) toplam 77 sağlıklı bireyde genotiplenmiştir. Genotiplendirme eş zamanlı PCR yöntemi ile yapılmıştır. Vücut kompozisyonu biyoelektrik impedans analizi ile belirlenmiştir.

Bulgar: Çalışmamızda NEGR1 geni rs2815752 polimorfizmi genotip dağılımı olgu grubunda %53.5 AA, %37.2 AG, %9.3 GG ve kontrol grubunda %49.4 AA, %42.9 AG, %7.8 GG olarak bulundu. Obez olgu grubunda G allel frekansı %27.9 ve A allel frekansı %72.1, kontrol grubunda G allel frekansı %29.2 ve A allel frekansı %70.8 olarak belirlendi. TMEM18 geni rs6548238 polimorfizmi genotip dağılımı obez olgu grubunda %59.9 CC, %35.4 TC, %4.7 TT ve kontrol grubunda %63.6 CC, %31.2 TC, %5.2 TT olarak bulundu. Obez olgu grubunda T allel frekansı %22.4 ve C allel frekansı %77.6, kontrol grubunda T allel frekansı %21.9 ve C allel frekansı %79.2 olarak belirlendi. NEGR1 geni rs2815752 ve TMEM18 geni rs6548238 polimorfizmlerinin allel ve genotip frekansları açısından kontrol ve obez olgu grubu arasında fark bulunmadı. Rs2815752 polimorfizmi için obez olgularda antropometrik ölçüm ve vücut kompozisyon değerleri açısından fark bulunmadı. Rs6548238 polimorfizmi için obez olgularda antropometrik ölçüm ve vücut kompozisyon değerlerinden boy, vücut sıvı toplamı, vücut sıvı oranı, vücut yağ oranı ve yağsız kitle parametrelerinde fark bulundu.

Sonuç: Çalışma grubumuzda obezite hastalığı ile NEGR1 geni rs2815752 ve TMEM18 geni rs6548238 polimorfizmleri arasında bir ilişki olmadığı belirlendi.

Investigation of transmembrane protein 18 (TMEM18) and neuronal growth regulator 1 (NEGR1) gene polymorphisms' effects on body mass index in obese patients

Müjgan Özdemir Erdoğan¹, Kamuran Avcı², Saliha Handan Gönenli Yıldız², Evrim Suna Arıkan Terzi¹, Zafer Söylemez², Nuray Varol²

¹Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe University, Faculty of Medicine, Department of Medical Genetic, Afyonkarahisar

Objective: Previously reported NEGR1 and TMEM18 single nucleotide polymorphisms were investigated for association in a sample of obesity patients.

Materials-Methods: This was a case-control study. Polymorphisms were genotyped in 172 obese patients with a BMI $\geq$ 30 kg/m² and 77 healthy controls with a BMI $<$ 25. Genotyping was performed by real-time PCR. Body composition was established with bio-electrical impedance analysis.

Results: Distribution of rs2815752 genotype frequencies in obese group were 53.5% for AA, 37.2% for AG and 9.3% for GG, in control group were 49.4% for AA, 42.9% for AG and 7.8% for GG. G and A allele frequencies in obese patients were 27.9% and 72.1%, in controls 29.2% and 70.8% respectively. Distribution of rs6548238 genotype frequencies in obese group were 59.9% for CC, 35.4% for TC and 4.7% for TT, in control group were 63.6% for CC, 31.2% for TC and 5.2% for TT. T and C allele frequencies in obese patients were 22.4% and 77.6%, in controls 21.9% and 79.2% respectively. There were no significant differences between obese and controls in terms of allele and genotype frequencies of NEGR1 gene rs2815752 and TMEM18 gene rs6548238 polymorphisms. Also there were no significant differences among obese patients with regard to anthropometric measurements and body composition parameters for rs2815752 polymorphism. However, several significant differences were found for rs6548238 polymorphism with regard to anthropometric measurements and body composition. These were height, body fluid amount, body fluid percentage, body fat percentage and fat-free mass.

Conclusion: There is no association with obesity in our study group for rs2815752 and rs6548238 polymorphisms.

PS - 053

Lipoid proteinosis (LP) hastalarında ECM1 gen mutasyonlarının taranması

Selma Bakar Dertlioğlu¹, Deniz Erol Şen², Tuba Gökdoğan
Edgünlü³, Tuğba Süzek⁴

¹Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji AD.

²Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD.

³Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.

⁴Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği Bölümü

Amaç: Lipoid Proteinosis (LP) hastalığı, nadir görülen ve otozomal resesif geçiş gösteren kalıtsımsal bir hastalıktır. Amorphous hyalin materyalinin hücre içi depolanmasıyla karakterizedir. Lipoid proteinozisin klinik bulguları değişken olmakla birlikte, genellikle yenidoğan döneminde ses kısıklığı ile başlar. Göz kapakları kenarında yerleşen papüller, akneiform skarlar ve siğil benzeri papül ve plaklar gibi çeşitli deri belirtileri ise çocukluk döneminde ortaya çıkar. Son yıllarda yapılan çalışmalar, lipoid proteinozisin birinci kromozomda yer alan ekstrasellüler matriks protein geninde (ECM-1) ekspresyon azalması sonucu gelişebileceğini göstermiştir. Amacımız, daha önce dünyanın farklı bölgelerinde çok az sayıda tespit edilen LP hastalarına ait ECM1 gen mutasyonlarının ülkemizdeki profilini belirlemektir.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı'na Urfa ve çevre illerden başvuran ve tanıları klinik ve histopatolojik olarak konan LP hastalarından farklı ailelerden toplam 22 hastadan önce DNA izolasyonu sonra PCR ve sekans analizi yapılarak,ECM1 geni mutasyonları 10 exon da tarandı.

Bulgular: Çalışmamızda, LP tanısı konulmuş 22 hastaya ait sekans verileri biyoinformatik açıdan değerlendirilmiş ve sonuçta exon 6, 9 ve 10 bölgelerinde defektler tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu çalışmada, 3 aileden toplam 22 LP hastası bireylerden ECM1 gen mutasyonlarının dizi analizi yapılmış olup elde edilen veriler hastalığın ülkemizdeki profilinin belirlenmesi açısından oldukça önemlidir. Belirlenmiş olan genetik defektler ülkemize has bulunan LP hastaları profili için oldukça anlamlı sonuçlar vermektedir.

Discussion of ECM1 gene mutations in patients with lipid proteinosis (LP) diseases

Selma Bakar Dertlioğlu¹, Deniz Erol Şen², Tuba Gökdoğan
Edgünlü³, Tuğba Süzek⁴

¹Firat University University School of Medicine Department of Dermatology

²Firat University University School of Medicine Department of Medical Genetic

³*Muğla Sıtkı Koçman University School of Medicine Department of Medical Biology*

⁴Muğla Sıtkı Koçman University Faculty of Engineering
Department of Computer Engineering

Objective: Lipoid Proteinosis (LP) disease is a rare and inherited disease with autosomal recessive transmission. It is characterized by intracellular deposition of amorphous hyaline material. Clinical manifestations of lipoid proteinosis are variable, usually beginning with vocalization in the neonatal period. Several skin markers, such as papules, acneiform scarring and wart-like papules and plaques, located at the edge of the eyelids, appear in childhood. Studies conducted over the years have shown that lipoid proteinosis may result in decreased expression in the extracellular matrix protein gene (ECM-1) located in the first chromosome. Our aim is to determine the profile of the ECM1 gene mutations belonging to LP patients that have been detected in very few places in different parts of the world before.

Materials-Methods: Our study was performed by Harran University Medical Faculty Department of Dermatology and Urfa and peripheral illnesses. LP patients were diagnosed as clinical and histopathologically. A total of 22 patients from different families were analyzed DNA and then PCR and sequence analysis and ECM1 gene mutations were screened for 10 exon.

Results: In our study, sequence data of 22 LP patients diagnosed were evaluated in terms of bioinformatics and as a result, defects were detected in exon 6, 9 and 10 regions.

Conclusion: Sequence analysis of ECM1 gene mutations was performed from 22 LP patients in 3 families and it is very important. The identified genetic defects give very meaningful results for the LP patients who are found in our country.

PS - 054

Kararlı biçimde Yabani Tip FTO (Fat mass and obese associated) Proteinini ifade eden SH-SY5Y Hücrelerinin Glikoprotein Profillerinin Karşılaştırmalı Analizi

Aylin Kanlı, Murat Kasap, Gürler Akpınar, Mehmet Doğan
Gülkaç

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Bölümü, Kocaeli, Türkiye

Amaç: Genome wide association çalışmaları (GWAS) ile başlangıçta obezite ile ilişkilendirilen FTO'nun daha sonra yapılan pek çok çalışma ile metabolik hastalıklar, kanser, beyin hastalıkları ve kardiyovasküler sistem ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. FTO, AlkB ile ilişkili hem-olmayan Fe (II) / 2-OG'ye bağlı oksidatif DNA / RNA demetilaz süper ailesine ait nükleer bir proteindir. İn vitro, Fe²⁺ ve 2-OG varlığında, FTO'nun tek-iplikli DNA'da 3-meT'in, tek-iplikli RNA'da ise 3-meU'in ve hem DNA hem de RNA'da 6-meA'in demetilasyonunu katalizlediği gösterilmiştir. Bu in vitro çalışmalar, FTO'nun fizyolojik rolünün nükleik asit tamiri veya modifikasyonu ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Bununla birlikte, bu proteinin tam fizyolojik fonksiyonu hala bilinmemektedir. Bu çalışmada, yabani tip (WT) FTO protein formlarının ekzojen şekilde eksprese edilmesinden sonra glikoproteom düzeyinde değişiklikler üzerinde duruldu.

Gereç-Yöntem: Protein ekstraktları eksojen olarak WT FTO proteinini eksprese eden ve etmeyen SH-SY5Y hücrelerinden hazırlandı. Jeller önce glikozile protein spesifik boya olan ProQ-Emerald-300 ile ve daha sonra total protein boyası olan SYPRO Ruby ile boyandı.

Bulgular: Karşılaştırmalı protein spot analizinden sonra, WT FTO proteini taşıyan hücreler tarafından eksprese edilen glikoproteinlerin paterninde bir değişiklik olmamıştır.

Sonuç: WT FTO proteinin ifadesi, SH-SY5Y hücrelerinin glikoprotein ekspresyon paternleri üzerinde belirgin bir etki oluşturmadi.

Bu çalışma 113S965 numaralı TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir.

Comparative Analysis of Glucoprotein Profiles of SH-SY5Y Cells stably expressing the Wild Type FTO (Fat mass and obesity associated) Proteins

Aylin Kanlı, Murat Kasap, Gürler Akpınar, Mehmet Doğan
Gülkaç

Department of Medical Biology, Medical Faculty, Kocaeli University, Kocaeli, Turkey

Objective: Genome wide associations studies (GWAS) have shown that FTO, initially associated with obesity, is associated with metabolic diseases, cancer, brain diseases and the cardiovascular system. FTO is a nuclear protease belonging to the oxidative DNA/RNA demethylase superfamily associated with AlkB-related non-Fe (II)/2-OG. In vitro, in the presence of Fe2+ and 2-OG, FTO has shown to be catalyze demethylation of 3-meT from a single-stranded DNA, 3-meU from a single-stranded RNA and 6-meA from both DNA and RNA. These in vitro studies suggest that the physiological role of FTO may be related to nucleic acid repair or modification. However, the exact physiological function of this protein is still unknown. In this study, changes in the level of glucoproteomes after exogenous expression of the wild type (WT) FTO protein were studied.

Materials-Methods: Protein extracts prepared from SH-SY5Y cells exogenously expressing and non-expressing the WT FTO protein were subjected to 2D gel electrophoresis. Gels were first stained with a glycosylated protein-specific dye, ProQ-Emerald-300, and then with a total protein stain SYPRO Ruby.

Results: After comparative protein spots analysis, there were no changes in the patterns of glycoproteins expressed by the wild type FTO harboring cells.

Conclusion: The expression of WT FTO protein was not a significant effect on the expression patterns of glycoproteins SH-SY5Y cells.

This study was supported by TUBITAK project numbered 113S965

control group. Our study is the first study which has examined MMP-2, MMP-9 and IL-10 genes with their protein levels in adipose tissue. Consequently, it was concluded that the suppression of both cytokines and MMPs may be associated with obesity.

PS - 057

Alternatif kompleman yolağı ile ilişkili glomerulopatilerde genetik faktörlerin böbrek sağkalımı üzerine etkisi

Sonay Temurhan¹, Sebahat Usta Akgül¹, Yaşar Çalışkan², Çiğdem Kekik Çınar¹, Egemen Cebeci³, Erol Demir¹, Aydın Türkmen¹, Fatma Savran Oğuz¹, Filiz Aydın¹

¹Istanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

²Istanbul Tıp Fakültesi, Nefroloji Bilim Dalı, İstanbul

³Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nefroloji Kliniği, İstanbul

Amaç: C3 glomerulopati (C3GP) ve atipik hemolitik üremik sendrom (aHUS), alternatif kompleman yolağı ile ilişkili glomerüler hastalıklardır (ACPAG). Bu çalışmanın amacı, ACPAG'lı hastalarda, hastalığa neden olan genetik varyasyonları ve onların fenotip ile korelasyonunu sırtamaktır.

Gereç-Yöntem: ACPAG'lı 42 hasta, CFH (Kompleman Faktör H) (22 ekzon) ve CFI (Kompleman faktör I) (13 ekzon) genlerinin genetik varyasyonları Sanger DNA dizileme yöntemi ile tarandı.

Bulgular: Ondokuz C3GP'li hastanın 17'sinde (% 89), 23 aHUS'lü hastanın 22'sinde (% 96) CFH'nin genetik anomalileri tespit edildi. CFI genetik anomalileri, sırasıyla C3GP ve aHUS bulunan 4 hastada (% 21) ve 7 hastada (% 30) tespit edildi. Y402H CFH alleli en yaygın varyasyon olup C3GP (MAF: 0.32) ve aHUS (MAF: 0.39) hastalardaki bu allel frekansları ExAC veri setindeki kontrollere benzerdi. C3GP hasta grubunda tam ve kısmi remisyon oranları sırasıyla % 16 (n = 3) ve % 26 (n = 5), aHUS hasta grubunda sırasıyla % 35 (n = 8) ve % 13 (n = 3) idi (p = 0.29). İzlem sırasında, aHUS'lü 12 (% 52) hasta ve C3GP'li 6 (% 31) hastada son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) gelişti (p = 0.18). C3GP ve aHUS hasta gruplarında CFH genindeki genetik değişikliklerin SDBY'e gelişimini etkilemediği gözlemlendi. C3GP grubunda, E303K CFI alleli olan hastalar SDBY'de daha sık geliştiği görüldü (% 75'e karşı % 20, p = 0.03).

Sonuç: ACPAG'lı hastalarda komplemanla ilişkili genetik varyasyonların görülme sıklığı oldukça yüksek bulundu. Genotip-fenotip korelasyonları ile ilgili olarak, C3GP'deki CFI mutasyonları hastalık aktivitesini izlemek ve tedaviyi kişiselleştirmek için yardımcı olabileceğini düşünmekteyiz.

Genetic predictors of renal survival in alternative complement pathway associated glomerulopathies

Sonay Temurhan¹, Sebahat Usta Akgül¹, Yaşar Çalışkan², Çiğdem Kekik Çınar¹, Egemen Cebeci³, Erol Demir¹, Aydın Türkmen¹, Fatma Savran Oğuz¹, Filiz Aydın¹

¹Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul

²Istanbul Faculty of Medicine, Department of Nephrology, Istanbul

³Haseki Training and Research Hospital, Nephrology Clinic, Istanbul

Objective: C3 glomerulopathy (C3GP) and atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) are the main alternative complement pathway associated glomerular diseases (ACPAG). The aim of this study is to detect disease-causing variations and their correlation with phenotype in patients with ACPAG.

Materials-Methods: Patients were screened for genetic variations encoding sequences of complement factor H (CFH) and I (CFI) genes.

Results: Genetic abnormalities of CFH were detected in 17 of 19 (89%) patients and 22 of 23 (96%) patients with C3GP and aHUS, respectively. CFI genetic abnormalities were detected in 4 (21%) and 7 (30%) patients with C3G and aHUS, respectively. Y402H CFH allele was the most common variation and the frequencies of this allele in C3G (MAF: 0.32) and aHUS (MAF: 0.39) patients were similar to controls from the ExAC data set. Complete and partial remission rates were 16% (n=3) and 26% (n=5) in C3GP, and 35% (n=8) and 13% (n=3) in aHUS groups, respectively (p=0.29). During the follow up, 12 (52%) patients with aHUS and 6 (31%) patients with C3GP progressed to ESRD (p=0.18). Genetic variations in CFH gene did not significantly affect the progression to ESRD in all patients. In C3GP group patients with E303K CFI allele were progressed to ESRD more frequently (75% vs 20%, p=0.03).

Conclusion: Complement related genetic variations were frequently detected in patients with ACPAG. Regarding genotype-phenotype correlations, CFI mutations in C3GP could be of help to monitor disease activity and personalize treatment.

PS - 058

Türk popülasyonunda sigara içen sağlıklı ve yoğun sigara içen şizofreni hastalarının COMT ve CNR2 genleri arasındaki ilişkilerinin Silico ve Laboratuvar analizi

Sacide Pehlivan¹, Akın Tekcan², Pınar Çetinay Aydın³,
Mehmet Atilla Uysal⁴, Selin Kurnaz¹, Ulgen Sever¹,
Aybike Aydın³, Nazan Aydın³, Mustafa Pehlivan⁵

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

²Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
Kırşehir, Türkiye

³Bakırköy Eğitim Araştırma Hastanesi Psikiyatri Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁴Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Cerrahi Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁵Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Anabilim Dalı, Gaziantep, Türkiye

Amaç: Bu çalışma sağlıklı yoğun sigara içen bireyler ve yoğun sigara içen şizofreni hastalarında, *in silico* ve laboratuvar teknikleri kullanarak COMT ve CNR2 genlerinin fonksiyonel varyantlarını incelemeyi amaçlamıştır.

Genç-Yöntem: Bu çalışmaya altmış yoğun sigara içen şizofreni hastası, doksan dokuz sağlıklı yoğun sigara içen birey ve yüz adet sağlıklı sigara içmeyen birey dahil edilmiştir. COMT (rs4680) ve CNR2 (rs2501432) genleri PCR-RFLP yöntemiyle tanımlanmıştır. Akabinde, biyoinformatik analizler yapılmıştır. rs4680 ve rs2501432 SNP'lerinin patojenik etkilerinin tahmin edilmesinde, PANTHER ve SNP&GO programları kullanılmıştır. Ayrıca, COMT ve CNR2 proteinlerinin fonksiyonel olarak ilişki içerisinde olan proteinleri belirlemek için PPI analizi gerçekleştirildi.

Bulgular: Yoğun sigara içen Şizofreni hastalarında COMT geni Val/Val genotipi diğer gruplardan anlamlı derecede yüksekti ($p<0,05$). Sağlıklı yoğun sigara içen bireylerde ise COMT geni Val/Met genotip oranının diğer gruplardan anlamlı derecede fazla olduğu görüldü ($p<0,05$). Sağlıklı yoğun sigara içen olguların CNR2 geni TT genotip oranının sağlıklı sigara içmeyen bireylerden yüksek olduğu belirlendi ($p=0,01$). İn silico tahmin analizi sonuçları; COMT geni rs4680 mutasyonunun zararlı olduğu ve hastalıkla ilişkili bir etkiye sahip olduğunu gösterirken, CNR2 geni rs2501432 mutasyonunun nötral bir etkisi olduğunu göstermiştir.

Sonuç: Bu çalışma rs4680 mutasyonu Val/Val varyantının yoğun sigara içen şizofrenili hastalar için risk oluşturduğunu ve Val/Met genotipinin ise sağlıklı yoğun sigara içen bireyler için artmış bir risk oluşturduğunu gösterdi. Biz biyoinformatik metodlar kullanarak COMT ve CNR2 genleri missens SNP'lerinin COMT ve CNR2 ilişkili hastalıkların teşhisine imkan sağlayabileceğini düşünüyoruz.

Bu çalışmanın bir kısmı ESHGC2017'de sunulmuş ve İstanbul Üniversitesi ONAP-BAP programı tarafından desteklenmiştir (47815).

Bu çalışma Ahi Evran Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir. Proje Numarası: TIP.A4.17.008.

In Silico and Laboratory Analysis of Associations between COMT and CNR2 genes in Turkish healthy smokers and heavy smoker schizophrenia patients populations

Sacide Pehlivan¹, Akın Tekcan², Pınar Çetinay Aydın³,
Mehmet Atilla Uysal⁴, Selin Kurnaz¹, Ulgen Sever¹,
Aybike Aydın³, Nazan Aydın³, Mustafa Pehlivan⁵

¹*Department of Medical Biology, Istanbul University, İstanbul Faculty of Medicine, Istanbul, Turkey*

²Department of Medical Biology, Ahi Evran University, Faculty of Medicine, Kirsehir, Turkey

³Department of Psychiatry, Bakirkoy Research and Training Hospital for Psychiatry, Neurology and Neurosurgery, Istanbul, Turkey

⁴Department of Chest Diseases, Yedikule Hospital For Chest Diseases and Thoracic Surgery Training and Research Hospital, Istanbul, Turkey

⁵Department of Hematology, Gaziantep University, Faculty of Medicine, Gaziantep, Turkey

Objective: This study aimed to investigate, using both in silico and laboratory techniques, whether functional variants of Catechol-O-Methyl-Transferase (COMT) and Cannabinoid Receptor 2 (CNR2) genes play any role in healthy heavy smokers (HHS) or heavy smoker Schizophrenia (HSS) patients.

Materials-Methods: We included sixty patients with HSS, ninety nine with HHS, and one hundred healthy non-smoker controls (HNSC). The genotyping of COMT (rs4680) and CNR2 (rs2501432) genes were determined by PCR-RFLP. Bioinformatic analysis was then performed. In the prediction of pathogenic effect of rs4680 and rs2501432 SNPs, the PANTHER and SNPs&GO programs were used. Also, the PPI analysis was performed to retrieve functional partners of the COMT and CNR2 protein.

Results: The cases with HSS had higher COMT (rs4680) Val/Val genotype than the HHS and HNSC groups ($p=0.001$ and 0.034 , respectively). The cases with HHS had higher Val/Met genotype than HSS and HNSC groups ($p=0.001$, $p=0.033$, respectively). The cases with HHS had higher CNR2 (rs2501432) TT genotype than the HNSC group ($p:0.019$). The results of *in silico* prediction analysis showed that the rs2501432 had neutral effect while the rs4680 was deleterious and had disease-related effect.

Conclusion: This study revealed that the Val/Val genotype of rs4680 is associated with an increased risk for HSS and Val/Met genotype is associated with an increased risk for HHS's. We think that the analysis of COMT and CNR2 genes missense SNPs using bioinformatics methods would help diagnosis of COMT and CNR2-related diseases.

The study was partially presented on ESHGC2017 and, supported by Istanbul University ONAP-BAP (47815) program.

This work was supported by the Ahi Evran University Scientific Research Projects Coordination Unit. Project Number: TIP.A4.17.008.

PS - 059

Kalıtsal nonsendromik yarık dudak/damak hastalığında genetik etiyolojinin araştırılması

Bayram Toraman¹, Murat Livaoglu², Tuba Dinçer¹,
Gülden Budak⁵, İhsan Nalkıran⁵, Serbüilent Ünsal³,
Gökhan Yıldız¹, Ayşe Nurten Akarsu⁴, Ersan Kalay¹

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı

²Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif Ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı

³Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı

⁴Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

⁵Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Amaç: Nonsendromik yarık dudak/damak (NSYDYD) anomalisi kompleks kalıtıma sahip multifaktöriyel bir doğumsal anomalidir. NSYDYD'nin genetik etiolojisi hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Bu çalışmadaki amacımız NSYDYD'ye neden olan genetik faktörlerin aydınlatılması sürecine katkı sağlamaktır.

Gereç-Yöntem: Dar bir coğrafi bölgede yaşayan 3 geniş ailedeki toplam 43 bireye 250K SNP analizi yapılarak ortak kalıtılan kromozomal bölge (identity by descent (IBD)) analizi yapıldı. Ailedeki etkilenmiş bireyleri ortak ataya bağlayacak SNP allelleri biyoinformatik araçlar kullanılarak belirlendi.

Bulgular: 17q22-q24.3 lokusundaki 15.4 Mb'lık bölgenin tüm etkilenmiş bireylerde ortak kalıtıldığı gözlemlendi. Her aileden bir etkilenmiş bireyi, ebeveynlerini ve sağlıklı bireyleri kullanarak yaptığımız biyoinformatik analizlerde ise IBD bölgesi dar bir aralığa sıkıştırılmıştır. Bu bölge içinde oldukça korunmuş ve regülatör bölge (enhanser) olma ihtimali çok yüksek DNA dizileri yer almaktadır.

Sonuç: NSYDYD'nin genetik etiyolojisini belirlemek için yapılan büyük ölçekli genom boyu ilişkilendirme (GWAS) çalışmalarında çeşitli lokuslara haritalanan tagSNP'ler bulunmaktadır. Büyük ölçekli bir GWAS çalışmasında bulunan indeks SNP bölgesi bizim çalışmamızda bulduğumuz bölge ile tam olarak örtüşmektedir. Kompleks hastalıklarda genetik etiyolojiyi belirleme çalışmalarında IBD analizi son yıllarda GWAS analizi ile birlikte en başarılı yöntemler olarak ön plana çıkmaktadır. NSYDYD'nin genetik etiyolojisini belirlemek için yaptığımız bu çalışmada en uygun genetik bağlantı yöntemi olarak IBD analizini kullandık. Birbirleri ile uzak bir geçmişte akrabalık bağı olduğunu düşündüğümüz 3 geniş ailede yaptığımız bu çalışmada 17. kromozomun q22-q24.3 lokusundaki yaklaşık 100 kb'lık bir bölgenin bütün etkilenmiş bireylerde ortak olarak bulunması bu bölgenin hastalarımızdaki NSYDYD fenotipinden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Bu bölgede belirlediğimiz regülatör DNA dizilerinde sorumlu olabilecek varyasyonları belirleme çalışmalarımız devam etmektedir.

Investigation of genetic etiology in patients with hereditary nonsyndromic cleft lip/palate disease

Bayram Toraman¹, Murat Livaoglu², Tuba Dinçer¹,
Gülden Budak⁵, İhsan Nalkıran⁵, Serbülen Ünsal³,
Gökhan Yıldız¹, Ayşe Nurten Akarsu⁴, Ersan Kalay¹

¹Karadeniz Technical University Faculty of Medicine,
Department of Medical Biology

²Karadeniz Technical University Faculty of Medicine,
Department of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery

³Karadeniz Technical University Institute of Health Sciences,
Department of Medical Informatics and Biostatistics

⁴Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics

⁵Karadeniz Technical University Institute of Health Sciences,
Department of Medical Biology

Objective: Nonsyndromic cleft lip/palate (NSCLPD) is a multifactorial congenital anomaly with complex inheritance. There is little information about the genetic etiology of NSCLPD. In this study is aimed to contribute to the process of elucidating the genetic factors that cause NSCLPD.

Materials-Methods: We used IBD analysis to determine the genetic etiology of NSCLP as the most appropriate genetic linkage method. In this study conducted in 3 large families that considered to be a long-term relative with each other, 43 individuals were analyzed for a chromosomal region by performing 250K SNP analysis. SNP alleles that bind affected individuals to common ancestor were identified using bioinformatics tools.

Results: A 15.4 Mb region at 17q22-q24.3 locus was shared in all affected individuals. In bioinformatic analyzes using an affected individual, parents, and healthy individuals from each family, the IBD region is compressed into a narrow range. Within this region there are conserved regulatory DNA regions.

Conclusion: There are tagSNPs in GWA studies which is made to determine the genetic etiology of NSCLP. A tagSNP found in a GWAS overlaps with the region we found. The fact that a region of approximately 100 kb in chromosome q22-q24.3 locus is common in all affected individuals suggests that this region may be responsible for the NSCLP phenotype in our patients. Our efforts are continuing to determine the variations in the regulatory DNA sequences in this region that may be responsible for the disease.

KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:8649

PS - 060

Gaziantep ve çevresinde yaşayan Ailesel Hiperkolesterolemi hastalarında LDLR ve APOB genlerinin yeni nesil dizileme ile moleküler analizi

Murat Korkmaz¹, Mesut Özkaya², Gülper Nacarkahya¹,
Zeynel Abidin Sayer², Ayten Eraydın²

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

²Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, Gaziantep, Türkiye

Ailesel Hiperkolesterolemi (AH) dünyada en sık görülen genetik hastalıklardan biridir. Bu hastalık, plazma düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K) seviyelerinde artışa sebebiyet veren ve hayatın erken dönemlerinde erken koroner arter hastalığı ve diğer kardiyovasküler hastalıkların riskini artıran, otozomal dominant geçiş gösteren bir genetik bozukluktur. Hastaların büyük çoğunluğunda düşük yoğunluklu lipoprotein reseptör (LDLR) geninde mutasyon bulunmaktadır. Hastalığın ortaya çıkmasının diğer bir yaygın sebebi ise apolipoprotein B proteinini kodlayan APOB genindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. AH'nin erken tanısı, hastalıktan uygun korunma ve erken tedavilere olanak sağlayarak erken koroner arter hastalığı ve diğer kardiyovasküler hastalıklardan kaynaklı erken ölüm risklerini azaltır. Hastalığın erken tanısında moleküler tanı önemli bir yere sahiptir. Bu çalışmada, AH hastası 2 bireyde bu hastalık ile ilişkili iki önemli gen olan LDLR ve APOB genlerinin, yeni nesil dizileme yöntemi kullanılarak tüm gen dizilemesi yapılmıştır. Elde ettiğimiz bulgulara göre, LDLR geninde, bir hastada homozigot, bir hastada heterozigot literatürde tanımlı patojenik mutasyon saptanmıştır. Ayrıca aynı aileden 4 bireyde de ortak, 4. ekzon bölgesinde literatürde tanımlı olmayan yeni bir delesyon saptanmıştır. APOB geninde ise, üç hastada heterozigot, iki hastada homozigot patojenik mutasyon saptanmıştır. Ayrıca bu gende hipertrigliseridemi ve diğer apolipoprotein B hasarlarına yol açan mutasyonlar saptanmıştır. Ek olarak, iki gende de hastalığın seyrini etkileyebilecek dönüşümler belirlenmiştir.

Hiperkolesteroleminin erken tanı ve tedavisi oldukça önemlidir ve yeni nesil dizileme yöntemi ile bu hastalıkla ilişkili genlerdeki mutasyonların tamamının ortaya çıkarılması, kişiye özgü hastalığın tanısı ve hastalığın seyrinin belirlenmesi açısından büyük öneme sahiptir.

Molecular analysis of LDLR and APOB genes in patients with Familial Hypercholesterolaemia in Gaziantep and surrounding areas by next generation sequencing

Murat Korkmaz¹, Mesut Özkaya², Gülper Nacarkahya¹,
Zeynel Abidin Sayer², Ayten Eraydın²

¹Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, University of Gaziantep, Gaziantep, Turkey

²Department of Endocrinology and Metabolism, Faculty of Medicine, University of Gaziantep, Gaziantep, Turkey

Familial Hypercholesterolemia (FH) is one of the most common genetic disorders worldwide. FH is an autosomal dominant genetic disorder leads to elevation of plasma level of LDL-C and increment in the risk of early coronary artery disease and other cardiovascular diseases in the early stages of life. The majority of FH patients have mutations in their gene encoding LDLR. The other common cause of this disease is APOB gene mutation encoding mutant APOB. Early diagnosis of FH allows chance for early treatments and reduces the risk of death by both coroner artery and other cardiovascular diseases. Molecular methods are considered as a significant diagnostic approach for early diagnosis of the disease. In this study, we aimed to sequence of genes LDLR and APOB that are considered significantly related with the disease by using Next Generation Sequencing method in ten patient with FH. We found two pathogenic mutations in LDLR gene in two patients, one homozygote and one heterozygote. We also detected a novel deletion in exon 4, common of four family members. We found pathogenic mutations in APOB gene of five patients, three heterozygote and two homozygote. We also detected mutations which cause hypertriglyceridemia and other APOB injuries in this gene. In addition to this, we determined the alternations may affect the course of disease in two genes. Early diagnosis and treatment of hypercholesterolemia are very important and revealing of all mutation in disease-associated genes by NGS method has great importance for seity diagnosis and determining the course of disease.

PS - 062

İnsan bronş epitel hücrelerindeki IL-1 β ile indüklenen inflamatuvar yanıtta fasudil'in etkisi

Hamza Malik Okuyan¹, Meral Urhan Küçük², Sedat Koçal³, Cansu Önen Güneri¹, Menderes Yusuf Terzi², Zehra Ulutaş⁴, Kerem Karaaslan³, Tülin Durgun Yetim³

¹Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Hatay, Türkiye

²Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

³Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi
Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

⁴Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyokimya ve Genetik Anabilim Dalı, Hatay/Türkiye

Akciğer hastalıkları, dünyada kanser ve kardiyovasküler hastalıklarıyla birlikte önde gelen morbidite ve mortalite nedenidir. Birçok akciğer hastalığına karşı yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi için yeni moleküler hedeflerin keşfi büyük önem taşımaktadır. Yaygın akciğer hastalıklarının inflamasyon ile ilişkili olmasından dolayı, in vivo ve in vitro çalışmalarda, yeni tedavi seçenekleri arasında NF- κ B'nin potansiyel moleküler bir hedef olabileceği vurgulanmaktadır. Güncel çalışmalarda Rho kinaz inhibitörü fasudil'in fibroblast benzeri sinoviyositlerde NF- κ B sinyalizasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir. Ancak, fasudil'in bu etkisi BEAS-2B hücre hattında (insan bronş epitel hücreleri) tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, pro-inflamatuvar sitokin olan IL-1 β ile uyarılmış BEAS-2B hücre hattında Rho kinaz inhibitörü fasudil'in inflamasyon üzerine etkisini incelenmeyi amaçladık. BEAS-2B hücreleri IL-1 β (5 ng/ml) ve fasudil'e (70 μ M) 24 saat süreyle maruz bırakılmıştır. Maruziyet süresi sonunda, hücrelerden total RNA izolasyonu gerçekleştirilerek NF- κ B, IL-6, IL-10 ve β -aktin gen ekspresyon seviyeleri real time qRT-PCR ile analiz edilmiştir. IL-1 β ile uyarığımız BEAS-2B hücrelerinde, IL-6, IL-10 ve NF- κ B'nin gen ekspresyon seviyelerinin anlamlı bir şekilde arttığını bulduk ($p < 0.05$). Ancak IL-1 β ile uyarılmış BEAS-2B hücrelerinde fasudil maruziyetinin bu genlerin ekspresyon seviyelerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı gözlemlenmiştir ($p > 0.05$). Birçok çalışmada Rho kinaz inhibitörlerinin inflamatuvar bazı hastalıklar için faydalı etkileri rapor edilmiştir. Daha önceki çalışmalarımızda, A549 akciğer kanseri hücre dizisinde fasudil'in NF- κ B sinyal yolağı üzerine etkisini belirlemiştik. Mevcut çalışmamızda ise, uyguladığımız doz ve süreye bağlı olarak fasudil'in insan bronş epitel hücrelerinde NF- κ B sinyalizasyonu üzerine etkin bir rolü olmadığını gözlemledik. Bununla birlikte, yapılacak ileri çalışmalar konunun daha iyi anlaşılmasına önemli katkılar sağlayabilir.

The effect of fasudil on IL-1 β -induced inflammatory response in human bronchial epithelial cells

Hamza Malik Okuyan¹, Meral Urhan Küçük², Sedat Koçal³, Cansu Önen Güneri¹, Menderes Yusuf Terzi², Zehra Ulutaş⁴, Kerem Karaaslan³, Tülin Durgun Yetim³

¹Mustafa Kemal University, Hatay Vocational School of Health Services, Hatay, Turkey

²Mustafa Kemal University, Medical Faculty, Department of Medical Biology, Hatay, Turkey

³Mustafa Kemal University, Medical Faculty, Department of Thoracic Surgery, Hatay, Turkey

⁴Mustafa Kemal University, Health Sciences Institute, Department of Molecular Biochemistry and Genetics, Hatay, Turkey

Lung diseases are leading cause of morbidities and mortalities worldwide together with cancer and cardiovascular diseases. Discovering novel therapeutic targets have the highest importance to develop new therapies against numerous lung diseases. Since common lung diseases have close connection with inflammation, in vitro and in vivo studies highlighted NF- κ B as a potential molecular target among novel therapeutic alternatives. Recent studies reported that fasudil, a Rho-kinase inhibitor, inhibited NF- κ B signaling in fibroblast-like synoviocytes. However, aforementioned anti-inflammatory effect of fasudil isn't known on BEAS-2B human bronchial epithelial cells. In our study we aimed to investigate effect of fasudil on BEAS-2B cell line induced with a pro-inflammatory cytokine, IL-1 β . BEAS-2B cells were treated with IL-1 β (5ng/ml) and fasudil (70 μ M) for 24 hours. Then, RNA isolation was performed and expression levels of NF- κ B, IL-6, IL-10 and β -actin were analyzed with real time qRT-PCR. We detected a significant increase in expression levels of IL-6, IL-10 and NF- κ B in BEAS-2B cells induced with IL-1 β ($p < 0.05$). But we observed that fasudil treatment in IL-1 β -induced BEAS-2B cells didn't lead to any significant change in expression levels of target genes ($p > 0.05$). Many studies reported that Rho-kinase inhibitors have beneficial effects on inflammatory diseases. In our previous studies, we indicated effect of fasudil on NF- κ B signaling pathway in A549 lung cancer cells. But in our study, we observed that depending on dose and treatment periods, fasudil had no effective role in NF- κ B signaling pathway in BEAS-2B cells. Additionally, further studies can make important contributions to better understanding of the subject.

Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 16464).

PS - 063

Hepatit B hastalarında uzun kodlanmayan RNA ekspresyonlarının araştırılması

Sunde Yılmaz Süslüer¹, Çağla Kayabaşı¹, Besra Özmen
Yelken¹, Aycan Aşık¹, Fatma Söğütü¹, Roya Gasımlı¹,
Süheyla Serin Senger², Şükran Köse², Çığır Biray Avcı¹,
Cumhur Gündüz¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

²Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği

Hepatit B virüsü (HBV) 2 milyardan fazla kişiyi etkilemektedir ve Türkiye, HBV enfeksiyonu için orta endemikite ülkesidir ve 2,4-6 milyon HBV taşıyıcısı olduğu tahmin edilmektedir. HBV enfeksiyonları, akut hepatitten, ciddi karaciğer hasarıyla giden siroz ve hepatoselüler karsinomu da içeren kronik hepatite kadar geniş bir klinik yelpazeye sahiptir. Kronik HBV enfeksiyonları, hepatoselüler karsinomun %80'e kadar nedeni olabilmekte, hatta karaciğer transplantasyonunun en sık nedenini HBV ilişkili karaciğer hastalıkları oluşturmaktadır. lncRNA, 200 nükleotitten daha uzun olmayan, protein kodlamayan RNA molekülüdür. Kanserde, lncRNA'yı hedef alan terapötik ajanlar lncRNA'ların intraselüler transkripsiyon seviyelerini azaltır ya da kanser hücrelerindeki moleküler fonksiyonlarını ve aktivitelerini düşürür. lncRNA'ların önemli tümör süpresör rolleri göz ardı edilmemesine rağmen prokanseröz etkiye sahip lncRNA'lar üzerine odaklanılmıştır. Bu çalışmada HBV tanısı almış olgularda tedavi ile anlamlı değişim gösteren, tedaviye yanıtı belirleyebilecek prediktif bir biyobelirteç lncRNA saptanabilmesi amaçlanmıştır.

Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniğine gelen 81 Hepatit B hastasından ilk tanı sonrası ve tedavi sonrası elde edilen ve 81 gönüllü kontrolden elde edilen plazma örneklerinde 135 lncRNA ekspresyon analizi çalışılmıştır. Tedavi yanıtına bağlı anlamlı değişim gösteren lncRNA'nın fonksiyon ve etki mekanizmaları için in vitro olarak lncRNA ekspresyonunun siRNA ile baskılanması, HBsAg ve HBeAg viral protein düzeylerine etkisi ve EGFR sinyal yolağı, apoptotik yolak ve oksidatif stress yolağı ve PI3K-Akt sinyal yolağı üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

Kronik Hepatit B grubunda ve İnaktif HBsAg taşıyıcısı grubunda, lincRNA-SFMBT2 için, sağlıklı kontrol grubuna göre 2 kattan daha fazla anlamlı ekspresyon artışı ve Y5 ekspresyonu ise 2 kattan daha fazla anlamlı ekspresyon azalışı saptanmıştır. Bu iki lincRNA'nın hastalığın seyrinde ve tedavî yanıtının belirlenmesinde biyobelirteç olma potansiyeli desteklemektedir.

Investigation of long non-coding RNA Expressions in Hepatitis B Patients

Sunde Yılmaz Süslüer¹, Çağla Kayabaşı¹, Besra Özmen
Yelken¹, Aycan Aşık¹, Fatma Söğütü¹, Roya Gasımlı¹,
Süheyla Serin Senger², Şükran Köse², Çığır Biray Avcı¹,
Cumhur Gündüz¹

¹Ege University Medical Faculty Department of Medical Biology,
İzmir

²*Tepecik Training and Research Hospital Clinic of Infectious Diseases and Clinical Microbiology*

HBV infections have as much clinical spectrum as chronic hepatitis, including acute hepatitis, cirrhosis leading to severe liver damage, and hepatocellular carcinoma. Chronic HBV infections may account for up to 80% of hepatocellular carcinomas, and HBV-related liver diseases are the most common cause of liver transplantation. lncRNA is an RNA molecule that is not longer than 200 nucleotides and does not encode a protein. Although important tumor suppressor roles of lncRNAs are not overlooked, has been focused on lncRNAs with precancerous effects. It was aimed to be able to detect a biomarker lncRNA predictive of treatment response in patients with HBV. 135 lncRNA expression analyses were performed in 81 hepatitis B patients in plasma samples obtained after initial diagnosis and treatment and plasma samples obtained from 81 volunteer controls. Expression of lncRNA expression by siRNA was assessed in vitro for the function and mechanism of action of the lncRNA in terms of response to treatment and effects on HBsAg and HBeAg viral protein levels and effects on EGFR signaling pathway, apoptotic pathway and oxidative stress pathway and PI3K-Akt signaling pathway were evaluated. In the chronic hepatitis B group and in the group of inactivated HBsAg carriers, a significant increase in expression was observed for lincRNA-SFMBT2 by 2 fold more than for the healthy control group, and a significant decrease in expression was detected for Y5 expression by 2 fold more. As a result these two lncRNAs potentially support biomarkers in the course of the disease and in determining the response to treatment.

PS - 065

IBMPFD hastalığına yol açan Mutant VCP/p97 Proteinleri Otofajik-Lizozomal Degradasyon hedefidir

Oznur Bayraktar^{1,2}, Ozlem Oral³, Nur Mehpare Kocaturk², Yunus Akkoc², Karin Eberhart², Ali Kosar^{4,5}, Devrim Gozuacik^{2,5}

¹*Okan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı*

²Sabancı Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi,
Moleküler Biyoloji, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü

³Sabancı Üniversitesi, Nanoteknolojik Araştırmalar ve Uygulama Merkezi

⁴*Sabancı Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Mekatronik Mühendisliği*

⁵Sabancı Üniversitesi, Nano Tanılar için İşlevsel Yüzey ve Ara Yüzeyler Mükemmeliyet Merkezi, İstanbul

Amaç: Kofaktöre bağlanamayan ve IBMPFD-ilintili P137L VCP mutantının otofaji üzerindeki etkisini incelemek.

Gereç-Yöntem: Hücre kültürü teknikleri (primer ve immortalize), İmmunoblot, İmmunopresipitasyon, İmmünofloresan ve hücresel ayırma yöntemleri kullanılmıştır. Hücre Kültürü, Western Blot Cihazları, Konfokal ve Floresan Mikroskoplarından faydalanılmıştır.

Bulgular: Literatürde, R155 ve A232 mutantlarının sitoplazmada homojen dağıldığı ve otofagozom olgunlaşmasını bozduğu gösterilmiştir. P137L VCP ise, agregat oluşturdu ve yüksek oranda ifade edildiğinde, otofagozom-lizozom birleşmesini bozmaksızın bazal otofajiyi indükledi. Açlık veya Torin-1 muamelesi ile otofaji indüklendiğinde; yaban VCP protein seviyesi değişmezken, P137L VCP proteini yıkıldı. P137L yıkımının istisna olup olmadığını anlamak için, R93C ve G157R mutantlarını yüksek oranda ifade ettik. Yalnızca G157R otofagozom olgunlaşmasını bozmadan bazal otofajiyi arttırdı. G157R proteinin çoğunluğu çözünmeyen hücre kısmında gözlemlendi ve açlık ile indüklenen otofaji hedefi olduğu görüldü. Bu sonuçlar, bulgularımızın tek bir mutanta özgü olmadığını gösterdi.

Sonuç: Özetle, agregat oluşturan VCP mutantlarının otofagozom olgunlaşmasını bozmadan bazal otofajiyi indüklerken, mutant proteinlerin kendilerinin de aktiflenmiş otofaji ile yıkılabildiğini gördük. Bulgularımız, hastanın taşıdığı mutasyonun moleküler özelliklerine bağlı olarak otofaji uyarımı ile tedavi yapılabileceğini önermektedir.

IBMPFD Disease-Causing Mutant VCP/p97 Proteins are targets of Autophagic-Lysosomal Degradation

Oznur Bayraktar^{1,2}, Ozlem Oral³, Nur Mehpare Kocaturk², Yunus Akkoc², Karin Eberhart², Ali Kosar^{4,5}, Devrim Gozuacik^{2,5}

¹Okan University, Faculty of Medicine, Medical Biology and Genetics Department

²*Sabancı University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Molecular Biology, Genetics and Bioengineering Department*

³*Sabancı University, Nanotechnology Research and Application Center*

⁴*Sabanci University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Mechatronics Engineering Program*

⁵Center of Excellence for Functional Surfaces and Interfaces for Nano Diagnostics (EFSUN)

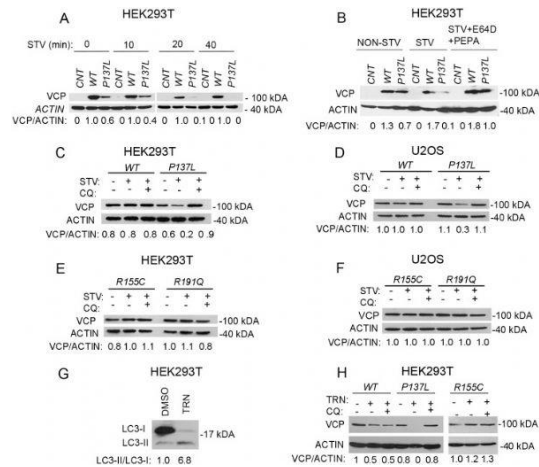
Objective: To determine the effect of IBMPFD-associated P137L VCP on autophagy.

Materials-Methods: Cell culture methods, (primer and immortalized), Immunoblotting, Immunoprecipitation, Immunofloresant and cellular fractionation methods were used. Western Blot Device, Confocal and Floresan Microscopes were utilized.

Results: In literature, cytoplasmic R155 and A232 mutants localize homogenously and blocked autophagosome maturation. In contrast, P137L VCP formed aggregates and its overexpression stimulated basal autophagy without blocking autophagosome-lysosome fusion in our study. Starvation or Torin-1 induced autophagy did not alter protein levels of wild type VCP while P137L VCP was degraded rapidly. In addition, another autophagy-inducing mutant, G157R, was found in insoluble part and degraded by starvation induced autophagy. These findings excluded the possibility that P137L is the only mutant targeted by autophagy.

Conclusion: To summarize, we show that aggregate-forming mutants of VCP upregulated basal autophagy, did not prevent autophagosome maturation and were targets for stimulated autophagy. Our results suggest that IBMPFD patients can be treated with autophagy induction depending on the molecular features of carried mutation.

Patojenik VCP Mutantlarının Otofaji ile Yıkımı Autophagic Degradation of VCP Mutants



PS - 066

Miyokard enfarktüsü ve kardiyovasküler olay geçiren hastalarda 5HT2C polimorfizminin araştırılması

İbrahim Açıkbaş¹, Buket Er Urgancı¹, Dursun
Dursunoğlu², Asuman Kaftan²

¹Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Denizli, Türkiye

²Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Ana Bilim Dalı, Denizli, Türkiye

Kardiyovasküler hastalıklardan (koroner, Mİ ve diğer) ölümler dünya genelinde ve ülkemizde ilk sırada yer almaktadır. Koroner arter hastalıklarının (KAH) etiyojisinde genetik, çevre, beslenme ve yaşam tarzının etkileri bulunmaktadır. Genom tarama çalışmaları koroner hastalıklarla ilişkili çeşitli genler ortaya çıkarmıştır. Bunların arasında (dislipidemi, hipertansiyon/renin-angiotensin sistemi, metabolik sendrom, diyabet, obezite, fibrinolitik sistem) tek başına direk ve bağımsız bir prediktif faktör olarak öne çıkan yok gibidir. Son yapılan bir çalışmada 5HT2C genine ait rs6318 polimorfizminin KAH ve Mİ riskini bağımsız olarak belirlemede beklenen özellikleri karşılama ihtimali ortaya çıkmıştır. Bu çalışma ile Mİ ve KAH tanısı alan hastaların 5HT2C genindeki rs6318 polimorfizmini belirleyerek ve sağlıklı bireylerle karşılaştırarak, koruyucu ve riskli allelleri tespit etmeyi amaçladık.

Çalışmamız Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Bölümünde MI ve KAH tanısı alan 142 hasta ve 100 kontrol olmak üzere iki gruptan oluşturuldu. Bireylerden alınan kan örneklerinden DNA izolasyonları gerçekleştirilerek 5HT2C genindeki rs6318(C/G) polimorfizmi belirlendi. Olguların demografik, klinik ve

genotip parametreleri ile polimorfizm arasındaki ilişkiler test edildi.

Olgu ve kontrol grubundaki genotip frekansları karşılaştırıldığında GC genotipi olgu grubunda % 4,9 iken kontrol grubunda %27'dir. Yaş ve diyabetin etkileri çıkarılarak yapılan regresyon analiziyle GC genotipinin kardiyovasküler olaydan koruyucu özellik gösterdiğini düşündürmüştür ($p=0.01$). Mİ geçirmiş olguların klinik parametreleri analiz edildiğinde, Mİ geçirme ile HT ve DM komorbidleri arasında korelasyon gösterilmiştir ($p=0.003$ ve $p=0.05$). Bunun yanında Mİ geçirmiş bireylerde genotip dağılımına bakıldığında GC genotipine sahip birey yoktur. Bu durum olgu grubumuzda GC genotipinin koruyucu olması gibi, KAH'nin "end point" olan Mİ'den de koruyucu olduğunu düşündürmektedir.

Detection of the 5HT2C polymorphism in myocardial infarction and cardiovascular event patients

İbrahim Açıkbaş¹, Buket Er Urgancı¹, Dursun
Dursunoğlu², Asuman Kaftan²

¹Department of Medical Biology, Pamukkale University Faculty of Medicine, Denizli, Turkey

²Department of Cardiology, Pamukkale University Faculty of Medicine, Denizli, Turkey

Deaths from cardiovascular diseases (coronary, MI, and others) are the most common in the world and in our country. The etiology of coronary artery disease (CAD) includes genetic, environmental, nutritional and lifestyle influences. Genome screening studies have revealed several genes (dyslipidemia, hypertension / renin-angiotensin system, metabolic syndrome, diabetes, obesity, fibrinolytic system) associated with CAD but not direct responsible gene for CAD. In a recent study, it was revealed that the rs6318 polymorphism of the 5HT2C gene could meet the expected characteristics of determining CAD and MI risk. We aim to determine the predictive and risk alleles of rs6318 polymorphism. This study consist of 100 controls and 142 patients diagnosed with MI and CAD in the Department of Cardiology of Pamukkale University Faculty of Medicine. DNA isolations were performed from blood samples and rs6318 (C/G) polymorphism in the was identified. Relationships between demographic, clinical and genotype parameters of the cases and polymorphism were tested.

When the genotype frequencies compared, the GC genotype was 4.9% in the case group and 27% in the control group. Regression analysis by removing the effects of age and diabetes suggests that GC genotype is protective against cardiovascular disease ($p = 0.01$). When clinical parameters of MI cases were analyzed, correlation MI with HT and DM comorbidities was shown ($p = 0.003$ and $p = 0.05$). In addition, there was no GC genotype at cases with MI. This suggests that the GC

genotype is protective in CAD and also protective against MI, which is the "end point".

Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından 2014HZL008 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

PS - 067

Şişman çocuklarda uncoupling protein geni ile ilgili UCP1 -3826A/G, UCP2 exon 8 Ins/Del, ve UCP3 -55C/T polimorfizmlerin incelenmesi

Pınar Baysan Çebi¹, Yaprak Yılmaz Yalçın¹, Hasibe Verdi¹,
Beril Aydın², Sibel Tulgar Kınık¹, Fatma Belgin Ataç¹

²Baskent Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Ankara

Uncoupling proteinler (UCP), mitokondriyal membran taşıyıcı protein ailesindendir ve enerji dengesi ile yakından ilgilidir. Bu çalışmada UCP polimorfizmleri ile (UCP1 -3826A/G (rs1800593), UCP2 exon 8 Ins/Del ve UCP3 -55C/T(rs1800849)) çocukluk çağı obezitesi arasındaki ilişkiyi araştırmayı planladık.

Yaşları 6-18 yıl arasında değişen 189 olguda UCP1, UCP2 ve UCP3 gene polimorfizimleri moleküler tarama ile çalışıldı. Olguların 102 si obez (54 kız) ve 87 si (48 kız) sağlıklı kontrol grubundaydı. Obez grupta serum lipidleri, kan şekeri ve insülin düzeyleri ölçüldü. 60 obez olguya oral glukoz tolerans testi yapılarak 0-30-60-90-120. Dakikalarda eş zamanlı kan şekeri ve insülin düzeyleri ölçüldü.

UCP1,2,3 genlerinin polimorfizm sıklıkları obez çocuklar ve kontrol grubunda farklı değildi. Obez olguların serum lipidleri, kan şekeri ve insülin düzeyleri her bir polimorfizmin genotipinde farklılık göstermedi. OGTT sırasında ölçülen insülin ve kan şekeri düzeyleri UCP1 ve UCP3 gen polimorfizmlerinde farklılık göstermezken, UCP2 exon 8 Ins/Del genotipi taşıyanlarda 30. Dakika insülin düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu.

UCP1,2,3 gen polimorfizm sıklığı obez çocuklarda farklı değildi. Ancak UCP2 geninde I/D varyantının glukoz yüklenmesinden sonra, erken insülin artışında etkili olabileceği görüldü.

UCP1 -3826A/G, UCP2 Ins/Del polymorphism of exon 8, and UCP3 -55C/T polymorphisms of the uncoupling protein gene in obese Turkish Children

Pinar Baysan Çebi¹, Yaprak Yılmaz Yalçın¹, Hasibe Verdi¹,
Beril Aydın², Sibel Tulgar Kınık¹, Fatma Belgin Ataç¹

¹Baskent University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, Ankara

²Baskent University Faculty of Medicine Department of Child Health and Illness, Ankara

Uncoupling proteins (UCP), a member of mitochondrial membrane transporters, were considered to be associated with energy homeostasis. In this study, we aimed to investigate the association of UCP polymorphisms (UCP1 -3826A/G, UCP2 Ins/Del polymorphism of exon 8, and UCP3 -55C/T Polymorphisms) with childhood obesity and related pathologies.

Molecular screening of the UCP1, UCP2 and UCP3 gene polymorphisms were carried out in 189 children aged 6–18 years: 102 were obese (54 girls) and 87 were not obese (48 girls). In obese group, fasting lipids, glucose and insulin levels were measured. In 60 obese children, oral glucose tolerance test (OGTT) was performed with 0, 30, 60, 90, 120 minutes sampling for plasma glucose and insulin levels.

The frequency of UCP polymorphisms were similar in obese and non obese children. In obese children, fasting lipids, glucose and insulin levels were not different in UCP1,2,3 polymorphism genotypes. Although, there were no relationships among the polymorphism genotypes for UCP1, 3 and glucose and insulin levels during OGTT; cases who for I/D genotype carriers UCP2 Ins/Del polymorphism of exon 8 had significantly higher 30-minute insulin levels ($p=0.036$).

Polymorphisms of the UCP1,2,3 genes are not associated with obesity in children. Although, there were no relationships between the polymorphism genotypes and lipid, glucose and insulin levels, the presence of I/D variant of UCP2 gene, has an unfavourable influence on early insulin excursion after glucose loading.

PS - 069

Y-Kromozomunun azospermi veya şiddetli oligozospermi ile ilişkili AZF bölgesindeki gen delesyonlarının in silico analizi

Sercan Ergün¹, Sezgin Güneş²

¹Ordu Üniversitesi, Ulubey Meslek Yüksekokulu, Ordu, Türkiye

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

Amaç: MiRNA yanıt elementlerine (MRE) sahip RNA transkriptleri, endojen RNA (ceRNA) olarak işlev görebilir ve benzer MRE'ye sahip diğer RNA'ların aktivitesini baskılayabilir. Y-kromozomu mikrodelsyonları azospermik ve şiddetli oligozospermik erkeklerde infertilitenin en iyi bilinen genetik nedenlerindendir. Çalışmanın amacı delesyona uğrayan transkriptlere bağlanan miRNA'ları ve olası ceRNA'ları in siliko yaklaşımla tanımlamak.

Gereç-Yöntem: *İn siliko* ceRNA analizi için, AZFa, AZFb, AZFb-c ve AZFc lokusları ayrı ayrı incelendi. Bu lokusların her birinde silinen genlerin çoğunu hedefleyen 12 miRNA, miRWalk veritabanı kullanılarak belirlendi. Tüm bu 12 miRNA tarafından hedeflenen üç gen ComiR veritabanı kullanılarak bulundu. Her bir AZF lokusu için ayrı ayrı tespit edilen tüm ceRNA'lar, etkileşim tahmini için GenMANIA veri tabanına konuldu. Bulgular: Bu miRNA'ların hedeflediği muhtemel genlerin ekspresyonlarının *in siliko* şekilde azalması beklenmektedir.

Sonuçlarımız *RPPA2*, *TMED3*, *STX7*, *ATRX*, *GOGLB1*, *KMT2C* genlerinin AZFb ve AZFa için ceRNA olduğunu gösterdi. Buna ek

olarak, *CNB5*, *KCNC4*, *NDUFS1*, *TROBP*, *HEMK1* ve *ORAI2* genlerinin AZFbc ve AZFc için potansiyel ceRNA'larıdır.

Sonuç: Y-kromozomunun AZF bölgelerinde delesyona uğrayan bazı genlerin mRNA'larını hedefleyen miRNA'ların bağlanmak için yeni hedefler aramaları beklenmektedir. AZF lokuslarının delesyonu, miRNA hedeflemesiyle çalışan gen ekspresyonunun transkripsiyon sonrası düzenlenmesinde değişime neden olabilir. AZF lokuslarındaki azospermi ve oligozospermiye özgül olarak tanımlanan genlerin delesyonları üzerine, bu genlerin mRNA'larını hedefleyen miRNA'ların bağlanacağı yeni hedefler arayacağı düşünülmektedir. Bu sonuçları teyit etmek için daha ileri deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır.

In silico analysis of Y-chromosome AZF regions gene deletions related with azoospermia or severe oligozoospermia

Sercan Ergün¹, Sezgin Güneş²

¹Ulubey Vocational Higher School, Ordu University, Ordu, Turkey

²Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey

Objective: RNA transcripts possessing miRNA response elements (MRE) may function as competing endogenous RNA (ceRNA) and de-repress the activity of other RNAs with similar MRE. Y-chromosome microdeletions are one of well-known genetic causes of infertility in azoospermic or severely oligozoospermic men. The aim of the study is to specify miRNAs binding to these deleted transcripts and putative ceRNAs in *in silico* approach.

Materials-Methods: Twelve miRNAs targeting most of the genes deleted in each of these loci were detected by using miRWalk database. Three genes targeted by all these 12 miRNAs were found by using ComiR database. All of separately detected ceRNAs for each AZF loci were put in GeneMANIA database for interaction prediction.

Results: The expression of the most possibly genes targeted by these miRNAs are expected to decrease in silico manner. Our results have shown that *RPPA2*, *TMED3*, *STX7* and *ATRX*, *GOGLB1*, *KMT2C* genes are ceRNA for AZfa and AZfb regions. In addition, *CNB5*, *KCNC4*, *NDUFS1*, *TROBP*, *HEMK1* and *ORA12* are potential ceRNA for AZfb and AZfc.

Conclusion: Upon deletion of specified genes in AZF loci in azoospermia and oligozoospermia, miRNA targeting mRNAs of these genes look for new targets to bind. miRNA targetting mRNAs of some genes deleted in AZF regions of Y-chromosome are expected to look for new targets to bind. Deletion of AZF loci may lead to change in post-transcriptional regulation of gene expression working through miRNA completion. Experimental studies are required to confirm these results.

PS - 070

Psöriazisin patogenezinde GNLY gen polimorfizmleri

Esra Ermiş¹, Sevim Karakaş Çelik¹, Nilgün Solak², Güneş Çakmak Genç³, Ahmet Dursun³

¹Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Zonguldak

²Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Ana Bilim Dalı, Zonguldak

³Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Zonguldak

Çalışmamızda yaşam kalitesini önemli derecede etkileyen, derinin üst katmanı epidermisin aşırı derecede büyüyerek kalınlaşması ile sonuçlanan ve ciddi bir otoimmün hastalık olan Psöriazis hastalığı ile T lenfositleri ve Doğal Öldürücü Hücrelerin (NK) granüllerinde bulunan sitolitik bir antimikrobiyal peptid çeşidi olan Granülizin gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bülent Ecevit Üniversitesi Dermatoloji Polikliniğinde takip edilen 100 psöriazis hastası ile yaş-cinsiyet dağılımı açısından benzerlik gösteren 100 sağlıklı kontrolde PCR-RFLP yöntemiyle GNLY rs7908 ve rs10180391 polimorfizmleri çalışılmıştır.

Bu çalışma GNLY rs7908 CC genotipinin kontrol grubunda psöriazisli hastalara göre belirgin olarak daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur ($P=0,031$; $OR=0.305$; $CI=0.305 (0.121 - 0.773)$). Araştırmamızda hasta ve kontrol gruplarında genotip dağılımları sırasıyla GNLY rs7908(SNP)'de GG (%51 ve %37), GC (%41 ve %44), CC (%8 ve %19); GNLY rs10180391(SNP)'de CC (%41 ve %44), CT (%42 ve %41), TT (%17 ve %15) olarak tespit edilmiştir.

Hasta ve kontrol grubunda GNLY rs7908 polimorfizmi genotip ve allel frekansları açısından karşılaştırıldığı istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken ($p=0.031$, $p=0.012$, sırasıyla), GNLY rs10180391 polimorfizmi açısından iki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p=0.886$, $p=0.678$, sırasıyla). Benzer şekilde GNLY rs7908 C allel frekansı (0.3 ve 0.4) kontrol grubunda hastalara göre daha fazla bulunurken GNLY rs10180391 T allel frekansı hasta ve kontrol grubunda bir farklılık göstermemiştir (0.4). Bu çalışmada psöriazis ile GNLY gen polimorfizimleri arasındaki ilişki ilk kez araştırılmış olup bulgularımız, GNLY rs7908 CC genotipinin ve C allelinin psöriazis için koruyucu etki gösterdiği ve hastalığın şiddetini düşürdüğü, rs10180391 SNP'sinin ise psöriazis patogenezinde etkin bir rolünün olmadığı tespit edilmiştir.

GNLY gene polymorphisms in the pathogenesis of psoriasis

Esra Ermiş¹, Sevim Karakaş Çelik¹, Nilgün Solak², Güneş Çakmak Genç³, Ahmet Dursun³

¹Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Sciences and Arts, Bülent Ecevit University, Zonguldak , Turkey

²Department of Dermatology, Faculty of Medicine, Bülent Ecevit University, Zonguldak, Turkey

³Department of Medical Genetic, Faculty of Medicine, Bülent Ecevit University, Zonguldak, Turkey

The aim of our study was to investigate the relationship between Psoriasis disease, a serious autoimmune disease that affects the quality of life significantly and results in thickening of the deep layer of the epidermis by extreme overgrowth and Granulysin gene polymorphisms, a cytolytic antimicrobial peptide type found in granules of T lymphocytes and Natural Killer Cells(NK).

GNLYrs7908 and rs10180391 polymorphisms were studied by PCR-RFLP method in 100 healthy controls with similarity in terms of age-sex distribution with 100 psoriasis patients followed in Bülent Ecevit University Dermatology Policlinic.

This study GNLY rs7908 CC genotype in the control group revealed significantly higher than in patients with psoriasis($P=0.031$;OR=0.305; CI=0.305(0.121-0.773). In our study, the genotype distribution in patients and control groups were GNLY rs7908(SNP) GG(51%-37%),GC(41%-44%),CC(8%-19%); GNLYrs10180391(SNP) from the CC(41%-44%),CT(42%-41%),TT(17%-15%) were determined.

There was a statistically significant difference ($p=0.031, p=0.012$, respectively) in GNLyrs7908 polymorphism genotype and allele frequencies in patient and control groups, in terms of GNLyrs10180391 polymorphism the difference between the two groups was not statistically significant ($p=0.886, p=0.678$, respectively). Similarly, the GNLyrs10180391 T allele frequency did not differ in the patient and control groups (0.4) while the GNLyrs7908 C allele frequency (0.3-0.4) was found to be greater in the control group than the patients. In this study, the relationship between psoriasis and GNLy gene polymorphisms was investigated for the first time. Our findings showed that GNLyrs7908 CC genotype and C allele showed protective effect for psoriasis and decreased the severity of disease, whereas rs10180391 SNP did not play an effective role in psoriasis pathogenesis.

PS - 071

Erkek infertilitesinin genetik ve epigenetik nedenleri

Mahmut Balkan

*Dicle Üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim
Dalı 21280, Diyarbakır, Türkiye*

İnsan infertilitesi, multifaktöriyel ve kompleks bir düzensizliktir ve tüm infertilite vakalarının yaklaşık %30'u erkek kökenli bir probleme dayanmaktadır. Erkek infertilitesinin, varikosel, kriptorşidizm, sperm oto antikorları, sistemik hastalıklar, genital yol enfeksiyonları ve genetik bozuklukları gibi birçok nedeni vardır. Erkek infertil vakaların yaklaşık %15-30'unda etiyoloji kromozom ve gen mutasyonu dahil olmak üzere bilinen genetik bozukluklar ile ilgilidir. Erkek faktörü infertilite vakalarının yaklaşık %20-40'ında, nedenler hala bilinmemekte ve bu vakalar 'idiyopatik erkek infertilitesi' olarak adlandırılmaktadır. Bu vakaların bazı bilinmeyen genetik ve epigenetik anormalliklere bağlı olabileceği ileri sürülmektedir. Bu sunumda erkek infertilitesinin genetik ve epigenetik yönleri ile ilgili güncel literatürü gözden geçirdim. Erkek infertilitesinin genetik sebeplerini anlamak, hem tedavi yaklaşımları hem de onların doğacak bebeklerinin taşıyabileceği riskler hakkında hastalara uygun genetik danışmanlık vermek için oldukça önem taşımaktadır.

Genetics and epigenetics causes of male infertility

Mahmut Balkan

Department of Medical Biology and Genetic, Faculty of
Medicine, Dicle University, 21280, Diyarbakır, Turkey

Human infertility is a multifactorial and complex disorder, and of all infertility cases, approximately 30% is due to male factor. There are many causes of male factor infertility, such as varicocele, cryptorchidism, sperm autoantibodies, systemic diseases, genital tract infections and genetic disorders. In approximately 15–30 % of male infertility cases, the etiology is related to known genetic disorders, including chromosome and gene mutations. Approximately 20–40% of male factor infertility cases, the causes are still unknown and designated as ‘idiopathic male infertility’, and it is suggested that they may be linked to unknown genetic and epigenetic abnormalities. In this presentation, I review current literature regarding genetics and epigenetic aspects of male infertility. An understanding of the genetic and epigenetic causes of male infertility is quite important for the appropriate genetic counseling of couples about treatment options and risks to their potential offspring.

PS - 072

Androjenle ilişkili genlerin Polimorfizmleri ve İdiyopatik Erkek İnfertilitesi arasındaki ilişki

Aslı Metin Mahmutoglu¹, Saadiq Hurre¹, Gulgez Neslihan
Tasurt Hekim¹, Sezgin Gunes¹, Ramazan Asci²

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

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

Amaç: Androjenler erkek fertilitésinin yanı sıra ergenlik, üreme organlarının gelişimi ve cinsel fonksiyonlar için oldukça önemli bir role sahiptir. Androjen reseptör (AR), steroid 5-alfa redüktaz (SRD5A2) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) genleri androjen ilişkili genler olup androjen biyosentezi ve metabolizmasında görevlidir. Çalışmamızda AR, SRD5A2 ve TNF- α genlerinin polimorfizmleri ve idiopatik erkek infertilitesi arasında ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmaya, 335 idiyopatik infertil erkek ve 142 fertil kontrol dahil edildi. Çalışmaya katılan tüm bireylerden periferik kan örnekleri alınarak, genomik DNA'ları tuz çöktürme yöntemi kullanılarak izole edildi. *SRD5A2* ve *TNF-α* genleri için genotipleme restriksiyon parça uzunluk polimorfizm (RFLP) yöntemi kullanılarak yapıldı. AR geni CAG tekrar polimorfizmi ise poliakrilamid jel elektroforezi ile değerlendirildi.

Bulgular: *SRD5A2* ve AR geni CAG tekrar polimorfizmleri ve idiyoatik erkek infertilitesi arasında anlamlı ilişki belirlendi ($p=0.015$ ve $p<0.005$, sırasıyla). Ancak, *TNF- α* ($p>0.05$) geni ve idiyoatik erkek infertilitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı.

Sonuç: Bu bulgular, *AR* ve *TNF-α* gen polimorfizmlerinin idiropatik erkek infertilitesinin etiyolojisinde rolü olabileceğini göstermektedir.

The Association between Androgen Related Genes Polymorphisms and Idiopathic Male Infertility

Aslı Metin Mahmutoğlu¹, Saadiq Hurre¹, Gülgez Neslihan
Taşkurt Hekim¹, Sezgin Güneş¹, Ramazan Aşçı²

¹Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Ondokuz Mayıs University, Samsun

²Department of Urology, Faculty of Medicine, Ondokuz Mayıs University, Samsun

Objective: Androgens have an unignorable role in the development of reproductive organs, male sexual function, puberty as well as male fertility. Androgen receptor (*AR*), steroid 5- α reductase 2 (*SRD5A2*) and tumor necrosis factor- α (*TNF- α*) genes are androgen related genes that are involved in androgen biosynthesis and metabolism. In our study, the aim was to investigate the relationship between polymorphisms of *AR*, *SRD5A2* and *TNF- α* genes, and idiopathic male infertility.

Materials-Methods: In this study, 335 idiopathic infertile male patients and 142 fertile controls were recruited. Peripheral blood sample was collected from each of the participants and the genomic DNA was isolated from these blood samples using salting out procedure. The genotyping of *SRD5A2* and *TNF- α* genes was performed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) method, and CAG repeat polymorphism of *AR* gene was evaluated by polyacrylamide gel electrophoresis. Results: We found a significant association between the polymorphisms of *AR* and *SRD5A2* genes, and idiopathic male infertility ($p=0.015$ and $p<0.005$, respectively). However, we found no statistically significant association between *TNF- α* ($p>0.005$) polymorphism and idiopathic male infertility.

Conclusion: In view of these findings, the polymorphisms of *AR* and *SRD5A2* genes may take part in idiopathic male infertility and might be contributory factors to its etiology.

PS - 073

Sıçanlarda oluşturulan kas yaralanmasında yalnız ve kombine uygulanan vitamin C, selenyum ve terapötik ultrason tedavisinin biyokimyasal ve histopatolojik etkilerinin araştırılması

Necati Muhammed Tat¹, Yasin Tülüce², Mehmet Kara³,
Ayşe Merve Tat¹, Halil Özko²

¹Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü, Konya

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Van

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı,
Van

Amaç: Bu çalışmada, deneysel olarak oluşturulan kas yaralanmasında ultrason tedavisi ile bazı antioksidan maddelerin tedavi etkinliği karşılaştırıldı.

Gereç-Yöntem: Herbiri altı adet Wistar türü albino erkek sıçandan oluşan toplam 6 grup oluşturuldu. Bu gruplar kontrol (K), yalnız kesi (YK), ultrason (U), vitamin C (Vit C), selenyum (S) ve miks (M) olarak isimlendirildi. K grubu dışındaki bütün hayvanlarda gastroknemius kasının kesilmesi yoluyla kas yaralanması oluşturuldu. YK grubundaki sıçanlara tedavi uygulanmadı. Geriye kalan 4 gruptaki hayvanlara ise yaralanma oluşturulduktan 24 saat sonra 2 günde bir toplam 3 defa tedavi uygulandı. Bu gruplardaki sıçanlara terapötik ultrason tedavisi, vitamin C, selenyum ve bunların kombinasyonu sırayla uygulandı.

Bulgular: YK grubu serum enzimleri yönünden K grubu ile kıyaslandığında CK, AST ve ALT aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) artışlar görülürken neredeyse bütün tedavi gruplarında CK, ALT ve AST seviyesi K grubuna anlamlı olarak yaklaşmıştır ($p<0.05$). Gruplardaki TAS değişimlerinin anlamsız olduğu görüldü. TOS ve OSI'nin YK grubunda arttığı, tedavi gruplarından S ve M'de ise azaldığı görüldü. Ancak değişimlerden sadece kas dokusunda bakılan TOS'un tedavi gruplarındaki düşüşünün istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p<0.05$). MPO aktivitesi YK grubunda artmış, tedavi gruplarının neredeyse hepsinde azaltılmıştır. Bununla beraber sadece kan dokusu MPO enzim aktivitesinde, YK grubundaki artış ve tedavi gruplarından Vit C grubundaki azalış istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). İL-6 ve TNF- α değişimi ile histolojik bulgularda önemli bir fark olmadığı görülmüştür.

Sonuç: Bu çalışma ultrason tedavisinin dışında vitamin C ve selenyum tedavilerinin de kas yaralanmasında faydalı olduğunu ortaya çıkarmıştır. Burada elde edilen bulguların desteklenmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Investigation of biochemical and histopathological effects of vitamin C, selenium and therapeutical ultrasound application on muscular injury formed in rats

Necati Muhammed Tat¹, Yasin Tülüce², Mehmet Kara³,
Ayşe Merve Tat¹, Halil Özko²

¹Necmettin Erbakan University, Faculty of Health Sciences,
Department of Physical Therapy and Rehabilitation, Konya

²Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Van

³Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Physiology, Van

Objective: In this study, the efficiency of therapeutic ultrasound treatment and various antioxidant substances was compared in experimental muscular injury.

Materials-Methods: Six groups each enclosing 6 Wistar albino male rats were constituted. These groups were control, only injury (OI), ultrasound (U), vitamin C (Vit C), selenium (S) and mix (M). Muscle injury was formed through laceration of gastrocnemius muscle in all groups except control. No treatment was performed in OI group. Treatment was applied three times every other day after 24 hours of injury in remaining four groups. Therapeutic ultrasound, vitamin C, selenium and combination of them was applied respectively to these groups.

Results: While OI group compared to control in terms of serum enzymes, significant elevations of CK, AST and ALT were observed, these reversed to control values in almost all treatment groups ($p<0.05$). The shifts in TAS were insignificant. TOS and OSI increased in OI group and it decreased in S and M. However; among these alterations only TOS in muscle tissue was found to be statistically significant ($p<0.05$). While MPO activity increased in OI group, it decreased almost in the treatment groups. However only the increase on MPO in the blood tissues of OI group and the decrease in Vit C group were statistically significant ($p<0.05$). There were not any marked alteration IL-6, TNF- α and histological findings.

Conclusion: This study revealed that besides ultrasound therapy, vitamin C and selenium supplementation are also useful in treatment of muscle injury. However further studies are needed to support these results.

Terapötik ultrason uygulanması
Application of therapeutic ultrasound



Sıçanın sol arka baldırına terapötik ultrason uygulanması
Application of therapeutic ultrasound to the left hind
limb of the rat

PS - 074

DNA tamir proteinlerinin etkileşimine
polimorfizm etkisinin Co-Ip yöntemi ile
incelenmesi

Merve Bostancı, Duygu Terzi, Tuba Mutlu, Duygu Erhan,
Meltem Mete, Mehmet Güven

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

Bu çalışmada, DNA hasarı varlığında baz kesip çıkarma (BER) hasar tamir mekanizmasını başlatmak için oluşan protein kompleksine katılan XRCC1 ve PARP1 proteinlerinin birbiri ile etkileşimini, XRCC1 399 polimorfizmine ait genotip dağılımına göre araştırmayı amaçladık. Çalışma, XRCC1 Arg399Gln polimorfizmine ait genotipleri belirlenmiş 25 sağlıklı bireyde gerçekleştirildi. Lenfosit örnekleri kullanılarak hücre kültürü yapıldı ve ardından iyonize radyasyon uygulaması ile DNA hasarı oluşturulan hücrelerde protein izolasyonu gerçekleştirildi. XRCC1-PARP1 protein etkileşimini saptamak için Co-immunopresipitasyon (Co-IP) çalışması yapıldı ve ELISA yöntemi ile PARP1 düzeyleri saptandı. DNA hasar varlığını göstermek için ise mikronükleus çalışması gerçekleştirildi. XRCC1 399 polimorfizmine göre Arg/Arg, Arg/Gln ve Gln/Gln olmak üzere üç farklı genotip dağılımına ayrılan örneklerde Co-IP sonrasında PARP1 konsantrasyonları analiz edildiğinde, Gln/Gln genotipinde XRCC1-PARP1 etkileşiminin diğer genotiplere göre daha yüksek olduğu gözlemlendi, fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($P=0,14$). Çalışmamızın bulgularına göre XRCC1 399 homozigot mutant Gln/Gln genotipine sahip bireylerde XRCC1 ve PARP1 proteinlerinin birbiri ile etkileşiminin diğer genotip dağılımlarına kıyasla daha yüksek olduğunu gözlemedik. Ancak bu bulguların daha fazla sayıda örneklerde çalışılarak doğrulanması gerekmektedir

Investigation of the effect of polymorphism on DNA repair protein interactions by Co-IP method

Merve Bostancı, Duygu Terzi, Tuba Mutlu, Duygu Erhan,
Meltem Mete, Mehmet Güven

*Department of Medical Biology, Cerrahpasa Medical Faculty,
Istanbul University, Istanbul*

In this study, we aimed to investigate the interactions of XRCC1 and PARP1 proteins involved in the protein complex formed to initiate the mechanism of repair of damage to the basal extinction (BER) in the presence of DNA damage, according to the genotype distribution of the XRCC1 399 polymorphism. The study was carried out in 25 healthy individuals with genotypes of XRCC1 Arg399Gln polymorphism. Cell culture was performed using lymphocyte samples and protein isolation was then performed on the cells generated by DNA damage by ionizing radiation. Co-immunoprecipitation (Co-IP) study was performed to detect XRCC1-PARP1 protein interaction and PARP1 levels were determined by ELISA. A micronucleus study was performed to demonstrate the presence of DNA damage. Our results showed that XRCC1-PARP1 interaction in the Gln/Gln genotype was markedly higher than the other genotypes, however, this difference was not statistically significant ($P=0.14$). According to our findings, we observed that the interaction of XRCC1 and PARP1 proteins in individuals with the XRCC1 399 homozygous mutant Gln / Gln genotype was higher than the other genotype distributions. However, these findings need to be verified by larger study groups.

İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 45060

PS - 075

Sıçanlarda serulein ile indüklenen akut pankreatit'te eritropoietin'in koruyucu etkisinin moleküler ve biyokimyasal yöntemlerle araştırılması

Ayşe Şeker¹, Halil Özkol², İsmail Koyuncu³, Yasin Tülüce¹

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı,
Van

²*Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa*

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Van

Amaç: Bu çalışmada eritropoietinin 3 farklı dozunun akut pankreatit (AP)'li sıçanlarda koruyucu etkisi ilk defa araştırıldı. Bu amaçla, bazı serum markır enzimleri (Aminlaz=AMY, lipaz=LIP, aspartate aminotransferase=AST, alanine Aminotransferase=ALT), karaciğer dokusu oksidatif stres belirteçleri (total antioksidan statü=TAS, total oksidan statü=TOS, oksidatif stres indeksi=OSI, malondialdehit, katalaz, paraoksonaz, arilesteraz) ile miyeloperoksidaz aktivitesi (nötrofil infiltrasyon belirteci) izlenmiştir. Ayrıca mononükleer lökositlerde comet assay yöntemiyle DNA hasarı incelenmiştir.

Gereç-Yöntem: Herbiri altı adet Wistar türü albino sıçandan oluşan 7 grup oluşturuldu. Bu gruplar kontrol (K), sham-kontrol (SK), serulein (S), talidomid (T), eritropoietin2500, eritropoietin5000, ve eritropoietin10000 olarak isimlendirildi. SK grubunda yer alan hayvanlara intraperitoneal olarak (i.p.) serum fizyolojik uygulanırken, geri kalan bütün hayvanlara (K grubundakiler hariç) toplam 100µg/kg serulein 2 farklı zamanda uygulandı. T, E2500, E5000 ve E10000 grubundaki sıçanlara sırasıyla talidomid 200 mg/kg, eritropoietin 2500 IU/kg, eritropoietin 5000 IU/kg ve eritropoietin 10000 IU/kg koruyucu amaçlı olarak serulein'in ilk dozundan 1 saat önce i.p. olarak enjekte edildi.

Bulgular: Tedavi gruplarında Eritropoietin'in bütün dozlarının amilaz ve lipaz seviyesini K grubuna yaklaştırdığı görüldü. Eritropoietin uygulanan gruplar S grubu ile mukayese edildiğinde malondialdehit ve total oksidan seviyesi ile miyeloperoksidaz aktivitesi anlamlı derecede azalmıştır. DNA hasarı S ve T gruplarında, K ve SK grupları ile mukayese edildiğinde dramatik bir şekilde artmıştır. Eritropoietin'in 10000 IU'lık dozu DNA hasarını anlamlı bir şekilde azalttı.

Sonuç: Bu çalışma eritropoietinin, serulein ile indüklenen AP'de karaciğer, pankreas ve kan dokusunda oluşan hasarları önlemede faydalı olabildiğini gösterdi.

Investigation of protective effect of erythropoietin against caerulean induced acute pancreatitis in rats through molecular and biochemical methods

Ayşe Şeker¹, Halil Özkol², İsmail Koyuncu³, Yasin Tülüce¹

¹Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Physiology, Van

²Harran University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Şanlıurfa

³Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Van

Objective: In this study, the protective effect of 3 different doses of erythropoietin were investigated in rats with acute pancreatitis (AP) for the first time. For this purpose, some marker enzymes of serum (Amylase=AMY, lipase=LIP, aspartate aminotransferase=AST, alanine Aminotransferase=ALT), oxidative stress biomarkers of liver tissue (total antioxidant status=TAS, total oxidant status=TOS, oksidative stress index=OSI, malondialdehyde, catalase, paraoxonase, arylesterase) and hepatic myeloperoxidase activity (neutrophil infiltration index) were monitored. Also, DNA damage was investigated with comet assay method in mononuclear leucocytes.

Materials-Methods: Seven groups of rats were formed (n=6). These groups were Control (C), sham-control (SC), caerulein (CA), thalidomide (T), erythropoietin2500, erythropoietin5000, and erythropoietin10000. While saline was administrated intraperitoneally (i.p.) to animals of SC group, totally 100µg/kg caerulein was injected to the rest of animals (except C) with 2 different times. Rats in T, erythropoietin2500, erythropoietin5000 and erythropoietin10000 groups were injected with thalidomide 200 mg/kg, erythropoietin 2500 IU/kg, erythropoietin 5000 IU/kg and erythropoietin10000 IU/kg i.p. respectively for protective purpose one hour prior to the first dose of caerulein.

Results: All doses of erythropoietin significantly reversed AMY and LIP activities to C group. While erythropoietin treated groups compared to CA group the levels of malondialdehyde, TOS and activity of myeloperoxidase were decreased markedly. DNA damage escalated dramatically in CA and T groups compared with C and SC groups. Erythropoietin with 10000 IU/kg dose minimised DNA damage notably.

Conclusion: This study showed that erythropoietin could be beneficial in preventing damages in liver, pancreas and blood tissues in cerulein induced AP.

PS - 076

Çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemisinin cinsiyete bağlı genetik mimarisinin genomik tahmin yöntemleri ile incelenmesi

Burak Karacaören¹, Sandeep Kumar Singh², Mehmet
Tevfik Dorak³

¹Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Biyometri ve Genetik Ana Bilim Dalı, Antalya

³Liverpool Hope Üniversitesi, Liverpool, Birleşik Krallık

Amaç: Genom tabanlı ilişki çalışmaları (GTİÇ) hastalıklarla ilişkili tekil nükleotid polimorfizmleri (TNP) belirlemede kullanılmaktadır. GTİÇ'da en yaygın olarak Tekil regresyon (TR) testleri ile TNP'ler kullanılmaktadır. Bununla birlikte GTİÇ'da TR kullanımı genetik varyansın çok az bir kısmını tahmin edebilmiştir. Bu çalışmada çoklu hipotez testleri, bağıntı dengesizliği, ve gücü arttırmak için bayesçi bir model (BM) kullanıldı. Gereç-Yöntem: Örneklem 211 çocuktan (117 erkek, 94 kız) oluşmakta ve yaşları 1-10 arasında değişmektedir. GTİÇ'sı Illumina Infinium çipleri ile yapılmıştır. BM tahmin edilecek TNP'lerin dört adet normal dağılıştan geldiğini kabul etmiştir. TR'dan farklı olarak BM 2140 TNP ile çeşitliğin %42'sini açıkladı.

Bulgular: BM'e ait sonuçlar cinsiyet hormonu ile düzenlenen genler için ENRICHR ile zenginleştirilince; androjen reseptör (AR) ile güçlü ChIP-X sinyalleri belirledi (düzeltik $P=0.00007$). Bir diğer istatistiksel olarak anlamlı bölge miR10a/b olarak bulundu (düzeltik $P=0.02$). Hamilelikte, bu miRNA'nın düzeyleri fetal gelişmesi ile ilgili olarak cinsiyete bağlı korelasyonlar göstermektedir.

Sonuç: TR modeli hastalık ile ilgili hiç bir gen tespit edememiştir. BM ile bulunan genler: cinsiyet etkisinin çocukluk çağı lösemisine olan duyarlılık etkisini belirli varyantlar ile yolaklar açısından ilişkisini ortaya koymaktadır.

Investigations on genetic architecture of childhood acute lymphoblastic leukemia risk with gender specificity by using genomic prediction models

Burak Karacaören¹, Sandeep Kumar Singh², Mehmet Tevfik Dorak³

¹Akdeniz University, Faculty of Agriculture, Section of Biometry and Genetics, Antalya

²*Ohio State University, Columbus, Ohio, United States of America*

³Liverpool Hope Univesity, Liverpool, United Kingdom

Objective: Genome wide association studies (GWAS) employed to detect Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) associated with diseases in human. To date single regression (SR) tests based on Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) has commonly employed in GWAS.

However only small proportion of the genetic variance could be predicted by using SR approaches in GWAS. Here we employed bayesian model (BM) in GWAS for correcting multiple hypothesis testing, linkage disequilibrium and for increasing the power of the study.

Materials-Methods: The sample was 211 (117 male and 94 female) childhood precursor B-cell ALL cases aged 1 to 10 years, diagnosed at Baylor College of Medicine. We conducted a pilot GWAS using the Illumina Infinium HumanCoreExome Chip. BM assumed a mixture of four normal distributions for the SNP effects to be predicted. Different from the SR: BM explained 42% of the variation using 2140 SNPs.

Results: When we examined possible involvement of sex hormone-regulated genes in results obtained by BM, the gene enrichment analysis on ENRICHr yielded strong result for enrichment of genes that have androgen receptor (AR) binding site by ChIP-X analysis (adjusted P = 0.00007). The only other statistically significant enrichment was for miR10a/b binding site (adjusted P = 0.02). The levels of this miRNA in maternal blood show sex-specific correlations with fetal growth during pregnancy.

Conclusion: SR model did not detect any association related with the disease. Genes identified by BM as potentially mediating the gender effect in childhood leukemia susceptibility via their sequence variants appear to provide biologically plausible mechanistic insights.

PS - 077

Hipokondroplazi sendromlu iki olgu

Recep Eröz¹, Mustafa Doğan¹, Hüseyin Yüce¹, İlknur Arslanoğlu², Semih Bolu²

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Düzce

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı, Düzce

Hipokondroplazi otozomal dominant kalıtılan klinik ve radyolojik olarak akondroplaziye benzeyen ancak daha hafif bulgularla seyreden bir iskelet displazisi tipidir. Etiyolojiden sorumlu fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3) geni, 4p16.3 bölgesinde lokalize olmasına rağmen genetik heterojenite göstermektedir. Hipokondroplazi klinik olarak orantısız boy kısalığı, kısa el ve ayaklar, radyolojik olarak ise uzun kemikler ile ilik kemiklerde kısalık, inferior lomber interpedinküler mesafede daralma ve düzleşme en sık görülen bulgulardır. Fizik muayene bulguları, radyolojik görüntülemelerle birlikte hipokondroplazi olduğu düşünülen hastalardan FGFR 3 gen bölgesinde dizi analizi ile nokta mutasyon tarandı. Her iki olgu da klinik olarak kısa boy, kısa ekstremiteler, ılımlı makrosefali mevcuttu. Öncelikli akondroplazi düşündürmeyen, yüz bulguları hafif olan hastada yapılan inceleme sonucunda PN540K mutasyonu (p.Asn540Lys) (c.1620C>A) heterozigot olarak saptandı. Hipokondroplazi moleküler tanısı klinik ve radyolojik bulgular ile şüphelenilen hastalarda yapılan FGFR3 geni dizi analizi ile konmaktadır. Nokta mutasyonu taraması, seçili ekzon analizleri ve tüm gen dizi analizi tanıya giderken kullanılabilir. N540K mutasyonu olguların %70'inde saptanmaktadır. Bir hastamızda de nova mutasyon saptanırken, diğer olgumuzda aile hikayesi mevcuttu. Hastalık otozomal dominant olarak kalıtılmakta olup, ailelere genetik danışmanlık verildi

Two cases with hypochondroplasia syndrome

Recep Eröz¹, Mustafa Doğan¹, Hüseyin Yüce¹, İlknur Arslanoğlu², Semih Bolu²

¹Düzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Düzce, Turkey

²Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatric Endocrinology, Duzce, Turkey

Hypochondroplasia is a skeletal dysplasia inherited as autosomal dominant, clinically and radiologically similar to achondroplasia but progress with mild findings. Although the fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3) gene located at 4p16.3 region responsible for etiology and it shows genetic heterogeneity. Unbalanced short stature, short hands and feet, radiologically shortening of long and ilia bones; narrowing and smoothing of the inferior lumbar interpedicular distance are the most common clinical findings in Hypochondroplasia. Point mutation was screened in FGFR3 gene region of cases who thought as hypochondroplasia according to physical examination findings together with radiological imaging. Two case had clinically short stature, extremity and mild macrocephaly. After the investigation of cases with mild type facial findings and not compatible with achondroplasia, PN540K mutation (p.Asn540Lys) (c.1620C>A) was detected as heterozygotes. Molecular diagnosis of Hypochondroplasia is performed via FGFR3 gene sequence analysis in the cases suspected with clinical and radiological findings. Point mutation screening, selected exon analysis and whole gene sequencing analysis can be used for the diagnosis. N540K mutation are detected at 70% of cases. While de novo mutation was detected in our one case, the other case a had family story. The disease has autosomal dominant inheritance pattern, genetic counselling was given to cases

PS - 078

Alfa fibrinogen genindeki kısa tekrar dizilerinin sağlıklı yaşlılık ile ilişkisi bir belirteç olabilir mi?

Kürşat Özdemir¹, Yeliz Öğret², Rüştü Oğuz³, Sacide
Pehlivan², Fatma Savran Oğuz²

¹Medipol Üniversitesi Hastanesi Pediatrik Kemik İliği Nakil Merkezi

²*Istanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı*

³*İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı*

Amaç: Yaşlanma multifaktöryel etkenlerle gelişen bir süreçtir. Yaşla birlikte, fizyolojik ve fonksiyonel kapasitelerdeki kişilerarası genetik farklılıklar artar. Hemen her yaşlanma modeli, yaşlanma ile ilgili tek bir mekanizmaya odaklansa da, yaşlanmanın karmaşıklığını tek bir mekanizma ile açıklamak mümkün görülmemekle birlikte yaşlanma ile ilişkili biyolojik belirteçleri tanımlamak giderek önem kazanmaktadır. Bu çalışmanın amacı kısa tekrar dizi (STR) belirteçlerinin sağlıklı yaşlanma ile ilişkisini araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Toplam 193 sağlıklı bireyden (25-90 yaş) DNA izolasyonu yapıldı ve Applied Biosystems İdentifiler STR kiti kullanılarak PCR amplifikasyonu sağlandı. Amplifiye ürünler ABI 3130 Genetic Analyzer cihazında yürütülerek farklı STR lokuslarındaki alleller tanımlandı. STR lokusu; D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, VWA, TPOX, D18S51, D5S818 ve alfa fibrinogen geni (FGA) incelendi. Çalışmaya dahil edilen 193 birey kendi içinde 100 sağlıklı kontrol (25-65 yaş ort:28.5)ve 93 sağlıklı yaşlı (65-90 yaş. ort:70.7) olarak iki gruba ayrılarak karşılaştırıldı.

Bulgular: Sağlıklı yaşlı grubunda D2S1338, D18S51, FGA ile ilişkili lokuslar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p:0.027, p:0.001, p:0.006, sırasıyla).

Sonuç: Fibrinojen lokusundaki yaygın genetik varyasyonlar artmış fibrinojen plazma seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir ve pek çok kardiovasküler çalışmada da yüksek fibrinojen seviyesi gösterilmiştir. Genecards sisteminde ise en az 66 Transkripsiyon faktör bağlama dizilerinin-enhancer dizisinde ilişkisi olduğu görülmüştür. Çalışmamızdaki anlamlı bulunan FGA geninin 3. Intronundaki STR polimorfizminin düşük fibrinojen düzeyleri ile ilişkili olması sağlıklı yaşlı grupta kardiyovasküler rahatsızlıkların olmaması ile ilişkili olabilir. Daha geniş ve sağlıklı yaşlı populasyonlarda kullanılması ileride prognostik bir belirteç olarak kullanılması açısından önemli olabilir.

Can short tandem repeat (STR) in alpha fibrinogen gene be a biomarker for healthy longevity?

Kürşat Özdilli¹, Yeliz Öğret², Rüştü Oğuz³, Sacide
Pehlivan², Fatma Savran Oğuz²

¹Medipol University Hospital Pediatric Bone Marrow Transplantation Unit

²*Istanbul University Istanbul School of Medicine Department of Medical Biology*

³*Istanbul Bilim University School of Medicine Department of Medical Biology and Genetics*

Objective: Aging is an evolving process with multifactorial factors. By aging, genetic differences in physiological and functional capacities increase. It is not possible to explain the complexity of aging with a single mechanism. It is becoming increasingly important to identify bio markers associated with aging. The purpose of this study is to investigate whether the STR's can be used for healthy aging, or not.

Materials-Methods: Genomic DNA was isolated from 193 healthy individuals(25-90 years) and PCR amplifications of the DNA samples were obtained by using Applied Biosystems Identifier STR kit. The amplified material was detected with ABI 3130 and alleles were defined in different STR loci. D8S1179,D21S11,D7S820,CSF1PO,D3S1358,TH01,D13S317,D16S539,

D2S1338,D19S433,VWA,TPOX,D18S51,D5S818,FGA were investigated. Study group were divided as controls with 100 people(25-65,mean28.5)and elderly with 93 people(65-90,mean70.7)and compared.

Results: Loci associated with D2S1338, D18S51 and FGA in the healthy elderly group were found statistically significant ($p:0.027$, $p:0.001$, $p:0.006$, respectively).

Conclusion: The increased genetic variation in the fibrinogen locus has been found to be associated with increased fibrinogen plasma levels. Additionally, in many cardiovascular studies high fibrinogen levels have been confirmed. In the gene-cards system, at least 66 transcription factor binding sequences-enhancer sequences were found to be involved. The relation between STR polymorphism in the 3rd intron of FGA gene which is found significant in our study is related with low fibrinogen levels so it may be associated with the absence of cardiovascular disorders in the healthy elderly group. Studying in larger and healthy elderly populations may be important for future use as a prognostic marker.

PS - 079

NF1 geninde yeni bir mutasyon c.1772_1773insAC (p.Ser592Leufs*14)

Recep Eröz¹, Hüseyin Yüce¹, Mustafa Doğan¹, Derya Cebeci²

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Düzce

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak-Burun-Boğaz Hastalıkları
Ana Bilim Dalı, Düzce

Nörofibromatozis tip 1 diğer adıyla Von Recklinghausen hastalığı; ciltte çok sayıda kahve lekeleri, çiller, nörofibromlar ve Lisch nodüllerinin olduğu yaygın görülen bir nörokutanöz sendromdur. Hastalık bir ailede aynı mutasyonu taşıyan etkilenmiş bireyler arasında bile klinik varyasyon göstermektedir. Bu vakayı klinik ve moleküler bulgularıyla literatüre katkı amaçlı sunuyoruz. NF1 geninin kodlayan tüm ekzonları amplifiye edildiği, sonra Sanger Sekanslama yapılmıştır. Rutin biyokimyasal analizler ve radyolojik değerlendirmeler yapılmıştır. 11 yaşında ebeveynleri arasında akrabalık öyküsü olan kız çocuğunun çok sayıda cafe-au-lait lekeleri, ciltte ve axiller bölgede çiller, santral sinir sistemi tutulumu vardı. Hastanın boyu 143.1cm (36p), kilosu 44,4kg (77p), karyotipi 46,XX idi. Hasta erken puberte nedeniyle çocuk endokrininden takipli ve hafif mental geriliği mevcuttu. Oftalmolojik incelemede Lisch nodülleri tespit edildi ayrıca iletim tipi işitme kaybına yol açan sağ kulak yolunda plexiform nörofibroma eksize edildi. Moleküler analiz sonucunda NF1 geninde Ekzon 16'da (ENST00000356175) c.1772_1773insAC prematur stop kodon oluşumu ile sonuçlanan frameshift mutasyonu heterozigot olarak saptandı (p.Ser592Leufs*14). Bildiğimiz kadarıyla bu varyant literatürde daha önce tespit edilmemiştir. p.Ser592Leufs*14 değişikliği HGMD ve ExAC Browser veritabanlarında mevcut değildir. Mutation Taster ve PolyPhen-2 bioinformatik programlarına göre bu değişiklik patojeniktir. Hastanın klinik bulguları NF1 ile uyumludur. Bu bulgularla varyantın patojenik olduğunu ve NF1 geni ekzon 16'da yeni bir mutasyon olduğunu düşünmekteyiz.

A new mutation c.1772_1773insAC (p.Ser592Leufs*14) in NF1 gene

Recep Eröz¹, Hüseyin Yüce¹, Mustafa Doğan¹, Derya Cebeci²

¹Düzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Düzce, Turkey

²Duzce University Medical Faculty, Department of Ear-Nose-Throat, Duzce, Turkey

Neurofibromatosis type 1 also known as von Recklinghausen's disease, is a common neurocutaneous syndrome with multiple café-au-lait patches, skinfold freckling, neurofibromas, and Lisch nodules. NF1 has an extreme and unpredictable clinical variability, even among affected individuals with the same mutation within a single family. We presented this case with clinical and molecular findings for contributing to the literature. All exons of NF1 gene was amplified and Sanger sequencing was performed. Routine biochemical analysis and radiological evaluation were carried out. 11-year-old girl with multiple café-au-laits, skin and axillar freckles, central nervous system involvement and had consanguineous parents. Her height was 143.1cm (36p), weight was 44.4kg (77p) with a 46,XX karyotype. She was followed up for puberte precox at paediatric endocrinology clinic and she had mild mental retardation. Lisch nodules were detected on ophthalmologic examination and also plexiform neurofibroma causing the transmission type hearing loss in the right ear pathway of the patient was excluded. After molecular analysis, a heterozygous NF1 frameshift mutation c.1772_1773insAC in exon 16 (ENST00000356175), creating a premature stop codon (p.Ser592Leufs*14), had been detected. To the our knowledge, this alteration was not previously reported in the literature. p.Ser592Leufs*14 change has not been found at HGMD or ExAC Browser. According to the Mutation Taster and PolyPhen-2 bioinformatics programs this alteration seems to be pathogenic. Patient's clinical findings were compatible with NF1. Together with these findings we believe that this variant is a pathogenic one and a novel mutation in the coding region in exon 16 of NF1 gene.

PS - 080

CUL7 geninde yeni bir mutasyonu (c.2190dupG, p.Thr731AspfsTer33) olan olgu

Mustafa Doğan¹, Recep Eröz¹, Semih Bolu², İlknur Arslanoğlu², Hüseyin Yüce¹, Emine Dağdelen³

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Düzce

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı, Düzce

³Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Ana Bilim Dalı, Düzce

3-M Sendromu (MIM 273750) OR olarak kalıtılan, ciddi prenatal/postnatal büyüme gelişme geriliği, iskelet bulguları ve dismorfik bulguların eşlik ettiği nadir bir sendromdur. Bugüne kadar CUL7, OBSL1 ve CCDC8 genlerindeki mutasyonların 3-M sendromuna sebep oldukları gösterilmiştir. 4,5 yaşında 3-M sendromlu bir erkek olgu klinik ve moleküler bulgularıyla birlikte sunulmuştur. CUL7 geninin, kodlayan tüm ekzonları ve ekzon-intron birleşme bölgeleri PCR ile amplifiye edilmiş ve Sanger sekanslama ile dizi analizi proband, probandin ailesinde çalışılmıştır. CUL7 için referans sekans numarası NM_014780.4 olarak alınmıştır. Rutin biyokimyasal ve gerekli radyolojik incelemeler yapılmıştır. Anne babası arasında akrabalık öyküsü bulunan olgu miadında 2300gr olarak doğmuştur. Antenatal takiplerinde iskelet displazisi şüphesi olduğu söylenmiştir. Hastanın boyu şu anda 81,9cm (<3p)(-5 SDS), kilosu 10,5kg (<3p)(-4 SDS) ve mental gelişimi normaldi. Fizik muayenesinde üçgen yüzü belirgin çenesi, belirgin alın, uzun filtrum, antevort burun delikleri ve burun ucu kırmızısı görünümde, pectus karinatum, lomber lordozu artmış, eklemlesnek yapıda ve topukları belirgindi. Hastada CUL7 geninin 8. Ekzonunun 2190. Pozisyonda Guanin nükleotidinin duplikasyonu saptanmıştır(c.2190dupG, p.Thr731As pfsTer33). Bu varyant sonuç olarak prematüre stop kodonu oluşumuna yol açmış bir frameshift mutasyondur. Probandın bu mutasyona homozigot olarak sahip olduğu, diğer aile bireylerinin ise taşıyıcı olduğu saptanmıştır. MutationTaster, SIFT, PolyPhen2 bioinformatik değerlendirmelerine göre bu varyant patojeniktir. Bildiğimiz kadarıyla bu değişiklik literatürde daha önce ortaya konmamıştır. Bu varyantı taşıyan birey sayısı arttıkça daha fazla bilgi elde edilebilecektir.

A case with novel mutation (c.2190dupG, p.Thr731AspfsTer33) in the CUL7 gene

Mustafa Doğan¹, Recep Eröz¹, Semih Bolu², İlknur Arslanoğlu², Hüseyin Yüce¹, Emine Dağdelen³

¹Düzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Düzce, Turkey

²Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatric Endocrinology, Duzce, Turkey

³Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatrics, Duzce

3-M syndrome (MIM 273750) is a rare autosomal recessive disorder characterized by severe pre-/post-natal growth retardation with skeletal abnormalities and dysmorphic features. To date, mutations in CUL7, OBSL1 and CCDC8 genes have been shown to cause 3-M. 4,5-year old boy with findings suggestive of 3-M syndrome was presented with clinical and molecular findings. All coding exons and the adjacent introns of CUL7 were amplified by PCR and sequenced with sanger sequencing in the proband and his family. The reference sequence for the mutation was NM_014780.4. Routine biochemical analysis and radiological evaluation were done. Our patient was born with weight of 2300gr from a consanguineous Turkish family. Antenatally, he was suspected to have skeletal dysplasia. Now his height was 81,5cm (<3p)(SD score<-5), weight was 10,5 kg (<3p)(SD score<-4), he had normal intellectual development. On the physical examination; triangular face with pointed chin, prominent forehead, long philtrum, upturned nose with a fleshy tip, pectus carinatum, marked lordosis, loose joints and prominent heels were present. A duplication of the nucleotide guanine at the position c.2190 was detected (c.2190dupG, p.Thr731As pfsTer33) in exon 8 of CUL7 gene. This variant is a frameshift mutation that leading to premature stop codon (c.2190dupG, p.Thr731As pfsTer33). The proband had this mutation as homozygous, both parents and his brother are heterozygous carriers. According to MutationTaster, SIFT, PolyPhen2 evaluation, this mutation is pathogenic. To our knowledge, this alteration wasn't described in the literature. We may be obtained more information about the mutation with increasing cases number.

PS - 081

Erken dönem gebelik kaybı olan bireylerde trombofili paneli testi sonuçlarının değerlendirilmesi

Gülper Nacarkahya, Füsun Tuşgöl, Seçil Eroğlu, Yelis Kılıç, Sibel Oğuzkan Balcı

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Gaziantep, Türkiye.

Amaç: Pıhtılaşma bozuklukları infertiliteye yatkınlık nedenlerinden biri olarak tanımlanmaktadır. Trombofili panel testi ile pıhtılaşma bozukluklarına neden olan gen mutasyonları analiz edilmektedir. Bu çalışmada trombofili paneli içinde yer alan gen mutasyonlarının erken dönem gebelik kaybı olan bireylerde görülme sıklığının araştırılması amaçlandı.

Gereç-Yöntem: Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Genetik Tanı Laboratuvar'ında, 2014-2017 tarihleri arasında Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvurmuş, yaşları 17-54 arasında değişen, erken dönem gebelik kaybı olan toplam 1538 kadın hasta araştırma kapsamına alındı. Bu hastalarda trombofil panel testi kapsamında yer alan; Faktör II (G20110A), Faktör V (Leiden), MTHFR (C677T ve A1298C), Faktör XIII (V34L) ve PAI -1 (4G/5G) genetik değişimleri ASO-PCR yöntemi ile çalışıldı.

Bulgular: Erken dönem gebelik kaybı olan bireylerde homozigot mutasyon dağılımları; Faktör II (G20210A), Faktör V (Leiden), MTHFR (C677T ve A1298C), Faktör XIII (V34L) ve PAI -1 (4G/5G) için sırası ile %2, %0,13, %11, %12,8, %0,32, %23,3 olup, heterozigot mutasyon dağılımları ise sırası ile, %25,3, %3,5, %41,5, %45,1, %7,4, %50,1 tür.

Sonuç: Sonuç olarak trombofili panel testi çalışılan erken dönem gebelik kaybı olan hastalarda homozigot mutasyon görülme yüzdesi en yüksek olan PAI -1 (4G/5G) değişimi olup, heterozigot mutasyon yüzdesi en yüksek olan da PAI -1 (4G/5G) değişimi olarak saptandı. Trombofili paneli çalışılan bu hasta grubunda heterozigot mutasyon yüzdelerinin homozigot mutasyonlara kıyasla daha yüksek olduğu belirlendi. Erken dönem gebelik kayıplarında PAI -1 (4G/5G), MTHFR (C677T ve A1298C), ve Faktör II (G20210A) genlerindeki heterozigot mutasyonların da değerlendirilmesi tanı ve tedavi açısından faydalı olacaktır.

Evaluation of reports of thrombophilia panel test in women with early pregnancy loss

Gülper Nacarkahya, Füsün Tuşgöl, Seçil Eroğlu, Yelis Kılıç, Sibel Oğuzkan Balcı

Medical Biology Department, Medical Faculty, Gaziantep University

Objective: Coagulation disorders are defined as one of the reasons for susceptibility to infertility. Gene mutations that cause coagulation disorders are analyzed with thrombophilia panel test. The aim of the study is to investigate the frequency of gene mutations within the thrombophilia panel test in individuals with early pregnancy loss

Materials-Methods: A total of 1538 female patients with early pregnancy loss, aged between 17-54 years who were admitted to the Obstetrics and Gynecology Clinic between 2014 and 2017 and whom mutations were screened in Molecular Genetics Diagnostic Laboratory of Gaziantep University were included in the study. Factor II (G20210A), Factor V (Leiden), MTHFR (C677T and A1298C), Factor XIII (V34L) and PAI-1 (4G/5G) genetic alterations within the thrombophilia panel test were studied by ASO-PCR method.

Results: Homozygous mutation distributions in individuals with early pregnancy loss are; 2%, 0,13%, 11%, 12,8% 0,32% and 23,3% for Factor II (G20210A), Factor V (Leiden), MTHFR (C677T and A1298C), Factor XIII (V34L) and PAI-1 (4G/5G) respectively, and heterozygous mutation distributions are 25,3%, 3,5%, 41,5%, 45,1%, 7,4%, 50,1%.

Conclusion: In conclusion, thrombophilia panel test reports of patients with early pregnancy loss showed that the most frequent homozygous mutation is found as PAI-1 (4G/5G) change and the most frequent heterozygous mutation is also found as PAI-1 (4G/5G) change. Heterozygous mutations were found to be more frequent than homozygous mutations. Assessment of heterozygous mutations in PAI-1 (4G/5G), MTHFR (C677T and A1298C) and Factor II (G20210A) genes in first pregnancy losses will be beneficial for diagnosis and treatment.

PS - 082

**Batı Karadeniz Bölgesinde Düzce Üniversitesi
Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne FMF
nedeniyle başvuran hastaların mutasyon analizi
sonuçlarının değerlendirilmesi**

Recep Eröz¹, Hüseyin Yüce¹, Mustafa Doğan¹, Kenan Kocabay²

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Düzce

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Ana Bilim Dalı, Düzce

Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF), otozomal resesif kalıtılan, otoinflamatuvar bir hastalık olup özellikle Yahudi, Ermeni, Türk, Arap popülasyonlarını etkilemektedir. MEFV genindeki değişiklikler hastalıktan sorumludur. Bugüne kadar 300'den fazla mutasyon ve polimorfizm rapor edilmiştir. MEFV geninin tüm ekzonları amplifiye edilerek 571 birey için MEFV geninin tüm ekzom dizi analizi yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre; 78 hasta M694V (%13,66), 1 hasta M694I (%0,18), 24 hasta M680I (G>C) (%4,20), 38 hasta V726A (%6,65), 61 hasta E148Q (%10,68), 2 hasta F479L (% 0,35), 7 hasta K695R (% 1,23), 7 hasta A744S (% 1,23), 6 hasta R761H (% 1,05), 221 hasta R202Q (% 30,70), 15 hasta G304R (% 2,63), 4 hasta T267I (% 0,70), 2 hasta E167D (% 0,35), 17 hasta R408Q (% 2,98), 17 hasta P369S (% 2,98), 14 hasta L110P (% 2,45), 1 hasta R176Q (%0,18), 1 hasta E251K (%0,18), 1 hasta A289V (%0,18), 2 hasta S288Y (c.863C>A) (% 0,35), 3 hasta K447M (c.1340A>T) (% 0,53), 2 hasta A89T (% 0,35), 2 hasta 761_764dup CCGC(p.Asn256Argfs*70,c.761_764 dup CCGC) (% 0,35), 2 hasta V415V(c.1245C>T) (% 0,35), 2 hasta c.1759+8 C>T (% 0,35) ve 3 hasta 334_335del G(p.Glu112fs, c.334_335delG) (% 0,53) mutasyonuna sahipti.

Evaluation of mutation analysis results of cases who admitted to Duzce University Research and Application Hospital Because of FMF in the Western Blacksea Region

Recep Eröz¹, Hüseyin Yüce¹, Mustafa Doğan¹, Kenan Kocabay²

¹Düzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Düzce, Turkey

²Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatrics, Duzce, Turkey

Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autosomal recessive autoinflammatory disorder which primarily affects Jewish, Armenian, Turkish and Arab populations. The alterations of the MEFV MEFV gene responsible for the disease. More than 300 mutations and polymorphisms have been reported to date. All exons of MEFV gene were amplified and complete exom sequencing of MEFV gene was performed for 571 cases. According to analysis Results: 78 case have M694V mutation (13.66%), 1 case has M694I mutation (0.18%), 24 case have M680I (G>C) mutation (4.20%), 38 case have V726A mutation (6.65%), 61 case have E148Q mutation (10.68%), 2 case have F479L mutation (0.35%), 7 case have K695R mutation (1.23%), 7 case have A744S mutation (1.23%), 6 case have R761H mutation (1.05%), 221 case have R202Q mutation (30.70%), 15 case have G304R mutation (2.63%), 4 case have T2671 mutation (0.70%), 2 case have E167D mutation (0.35%), 17 case have R408Q mutation (2.98%), 17 case have P369S mutation (2.98%), 14 case have L110P mutation (2.45%), 1 case has R176Q mutation (0.18%), 1 case has E251K mutation (0.18%), 1 case has A289V mutation (0.18%), 2 case have S288Y (c.863C>A) mutation (0.35%), 3 case have K447M (c.1340A>T) mutation (0.53%), 2 case have A89T mutation (0.35%), 2 case have 761_764dup CCGC(p.Asn256Argfs*70,c.761_764 dup CCGC) mutation (0.35%), 2 case have V415V(c.1245C>T) mutation (0.35%), 2 case have c.1759+8 C>T mutation (0.35%) and 3 case have 334_335del G(p.Glu112fs, c.334_335delG) mutation (0.53%).

PS - 084

**Batı Karadeniz Bölgesinde Düzce Üniversitesi
Araştırma ve Uygulama Hastanesine FMF
nedeniyle başvuran hastaların polimorfizim
analizi sonuçları**

Hüseyin Yüce¹, Recep Eröz¹, Mustafa Doğan¹, Kenan Kocabay²

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,
Düzce

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Anabilim Dalı, Düzce

FMF en sık görülen herediter inflamatuvar hastalık olup, kendi kendini sınırlayan ateş, serözit ataklarıyla karakterizedir. MEFV geninde meydana gelen değişiklikler hastalığın oluşmasından sorumludur. Bugüne kadar MEFV geninde 300'ün üzerinde varyant tanımlanmıştır. MEFV geninin tüm ekzonları amplifiye edilerek 571 birey için MEFV geninin tüm ekzom dizi analizi yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre; 314 hasta A165A (c.495C>A) (%54,99), 317 hasta D102D (c.306T>C) (%55,52), 401 hasta D510D (c.1530T>C) (%70,23), 303 hasta E474E (c.1422G>A) (%53,06), 318 hasta G138G (c.414A>G) (%55,69), 302 hasta P588P (c.1764G>A) (%52,89), 1 hasta P188P (c.564C>T) (%0,18), 2 hasta P706P (c.2118G>A) (%0,35), 410 hasta R314R (c.942C>T) (%71,80), 443 hasta Q476Q (c.1428A>G) (%77,58), 1 hasta S683S (c.2049G>A) (%0,18) ve 11 hasta R501R (c.1503C>T) polimorfizmine sahipti (%1,93).

Polymorphisms analysis results of cases who admitted to Duzce University Research and Application Hospital Because of FMF in the Western Blacksea Region

Hüseyin Yüce¹, Recep Eröz¹, Mustafa Doğan¹, Kenan Kocabay²

¹Duzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Duzce, Turkey

²Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatrics, Duzce, Turkey

Familial Mediterranean fever (FMF) is the most frequent hereditary inflammatory disease characterized by self-limited recurrent attacks of fever and serositis. The alterations of the MEFV gene is responsible for the occurrence of the disease. Until this time, more over the 300 variants have been discovered in the MEFV gene. All exons of MEFV gene were amplified and complete exom sequencing of MEFV gene was performed for 571 cases. According to analysis Results: 314 case have A165A (c.495C>A) polymorphysms (54.99%), 317 case have D102D (c.306T>C) polymorphysms (55.52%), 401 case have D510D (c.1530T>C) polymorphysms (70.23%), 303 case have E474E (c.1422G>A) polymorphysms (53.06%), 318 case have G138G (c.414A>G) polymorphysms (55.69%), 302 case have P588P (c.1764G>A) polymorphysms (52.89%), 1 case has P188P (c.564C>T) polymorphysms (0.18%), 2 case have P706P (c.2118G>A) polymorphysms (0.35%), 410 case have R314R (c.942C>T) polymorphysms (71.80%), 443 case have Q476Q (c.1428A>G) polymorphysms (77.58%), 1 case has S683S (c.2049G>A) polymorphysms (0.18%) and 11 case have R501R (c.1503C>T) polymorphysms (1.93%).

PS - 085

MEFV geninde V415V (c.1245 C> A) olarak nadir değişikliğe sahip olan bir hasta

Emine Dağdelen¹, Mustafa Doğan², Recep Eröz², Önder Kılıçaslan¹, Kenan Kocabay¹, Furkan Timur¹

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Düzce

Ailevi Akdeniz Ateşi (Famillal Mediterranean Fever; FMF); ateşin eşlik ettiği, seröz zarların ağrılı, non-enfeksiyöz enflamasyon nöbetleri ve zamanla amiloidoz gelişimi ile karakterize bir hastalıktır. FMF'den sorumlu MEVF (Mediterranean Fever) geni 16. kromozomun kısa kolunda yer alır. Infevers'a göre MEVF geninde 300'den fazla varyant tanımlanmıştır. Hastamızda saptanan p.V415V nadir varyantı, klinik ve moleküler bulgularıyla birlikte literatüre katkı amacı ile sunulmuştur. Klinik olarak FMF düşünülen 17 yaşında kız hasta FMF gen mutasyonu açısından araştırıldı. MEVF geninin (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10) tüm ekzonları PCR tekniği ile amplifiye edildi ve MEVF geni Sanger Sekanslama ile dizilendi. 6 yıldır aralıklı olarak karın ağrısı ve göğüs ağrısı atakları ile takip edilen hasta FMF açısından tetkik edildi. Gen analizi gönderildi. MEVF geninin ekzon 3'ünde heterozigot p.v415V varyantı tespit edildi. Klinik ve laboratuvar bulgularının FMF ile uyumlu olması nedeni ile hastaya kolşisin tedavisi başlanarak takibe alındı. V415V (c.1245 C>A) sessiz varyant olmasına rağmen Marilla Gan tarafından 2008 yılında Türk orjinli bir hastada ilk kez tanımlanmıştır ve FMF ile ilişkilendirilmiştir. Eldeki verilerle ve hastamızın klinik bulguları ile bu varyantın patojenik olduğu düşünüldü. Nadir görülen bir mutasyon olması nedeni ile genotip-fenotip korelasyon çalışmalarına katkıda bulunmak amacı ile sunulmuştur.

A patient who had a rare variant called V415V (c.1245 C>A) In The MEFV gene

Emine Dağdelen¹, Mustafa Doğan², Recep Eröz², Önder Kılıçaslan¹, Kenan Kocabay¹, Furkan Timur¹

¹Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatrics, Turkey

²Duzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Duzce, Turkey

Familial Mediterranean Fever (FMF) is a disease characterized by painful, non-infectious inflammatory episodes of serous membranes and can develop of amyloidosis over time. MEFV gene is responsible for the FMF located on the short arm of the 16th chromosome. More than 300 variants have been identified in the MEFV gene so far. A patient who had a rare variant named P.V415V is presented with clinical and molecular findings for contributing to the literature. The patient who followed up for 6 years with the episodes of abdominal pain and chest pain intermittently was examined for FMF. A heterozygous P.V415V variant was detected in exon 3 of the MEFV gene. Colchicine treatment was started to our patient because of the clinical and laboratory findings are compatible with the FMF. Although V415V (c.1245C> A) is a silent variant, it was first described by Marilla Gan in 2008 in a Turkish-origin patient and has been associated with FMF. After the analysis, it was thought that this variant was pathogenic with the clinical and molecular data of our patient. Because of the reason of it is a rare mutation, we present this case to contribute genotype-phenotype correlation studies.

PS - 086

Multiple skleroz hastalığında NCOA5 geni rs2903908 polimorfizminin etkisinin araştırılması

Aydın Rüstemoğlu¹, Sema Atasever¹, Kübra Şahin¹, Betül Çevik², Semiha Kurt², Serbülen Yigit¹, Ömer Ateş¹

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD

²Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji AD

Amaç: Multiple skleroz (MS) genellikle 18- 50 yaş arasında ortaya çıkan, merkezi sinir sistemini etkileyen, ataklarla seyreden otoimmün bir hastalık olup, demiyelizasyon, inflamasyon ve akson hasarı ile karakterizedir. MS hastalığının nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte bu hastalıkta genetik ve çevresel faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Hastalığın patogeneğinde immün sistemin merkezi bir rol oynadığına dair pek çok bulgu vardır. Literatürde MS ile ilişkili olduğu düşünülen birçok genle ilgili çalışma bulunmaktadır. HLA-DRB1 ve tümör nekroz faktörü reseptör ailesinin bir üyesi olan CD40 bu genlerden bazıları olup, bunların MS için risk faktörü oluşturduğu düşünülmektedir.

Nükleer reseptör koaktivatör 5 (NCOA5) alpha ve beta östrojen reseptörlerinin ve orphan nükleer reseptör NR1D2'nin koaktivatörüdür. Literatürde NCOA5 ile ilgili çalışmalar çok sınırlıdır. Multiple skleroz da otoimmün bir hastalık olup yapılan literatür taramaları sonucunda MS ve NCOA5 ilişkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada amacımız MS ile NCOA5 geni rs2903908 polimorfizmi arasındaki olası ilişkiyi araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Çalışmada MS tanısı almış 153 hasta ve 159 kontrol örneği kullanılmıştır. Gönüllülerden alınan kan örneklerinden elde edilen DNA'lar kullanılarak Real_Time PCR yöntemi ile MIF geni rs2903908 bölgesi için genotiplendirilme yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar SPSS 21.0 programı ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Çalışma sonucunda TT, CT ve CC genotiplerinin sıklıkları hasta ve kontrolde sırasıyla 0.5099, 0.3856, 0.1046 ve 0.4025, 0.5409, 0.0566 olarak bulunmuştur. Genel genotip dağılımı bakımından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.0162$). Ayır ayrı genotipler karşılaştırıldığında özellikle heterozigotların hastalarda anlamlı düzeyde düşük olduğu bulunmuştur ($p=0.007$; OR,95%CI=0.53,0.34-0.84).

Sonuç: Elde ettiğimiz veriler NCOA5 geninin MS hastalığı üzerinde etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

The Investigation of the effect of NCOA5 gene rs2903908 polymorphism on the multiple sclerosis

Aydın Rüstemoğlu¹, Sema Ataserver¹, Kübra Şahin¹, Betül Çevik², Semiha Kurt², Serbülen Yigit¹, Ömer Ateş¹

¹Gaziosmanpasa University Medical Faculty Department of Medical Biology

²Gaziosmanpasa University Medical Faculty Department of Neurology

Objective: MS is an autoimmune disease characterized by demyelination, inflammation, and axon damage, and appears ages between 18-50 years. Genetic and environmental factors are thought to be influential in this disease. There were studies in the literature that are thought to many genes be related to MS. HLA-DRB1, and a member of the tumor necrosis factor receptor family CD40 are some of these genes and are thought to be risk factors for MS.

NCOA5 is the coactivator of alpha and beta estrogen receptors and orphan nuclear receptor NR1D2. Studies in the literature about NCOA5 are very limited. There is no study investigating the relationship between MS and NCOA5. Our aim in this study was to investigate the possible association between MS and NCOA5 gene rs2903908 polymorphism.

Materials-Methods: In the study we were investigated 153 patients with MS and 159 controls. Genotyping was performed for the NCOA5 gene rs2903908 polymorphism using from DNAs, obtained from blood samples from volunteers, using Real_Time PCR method. The obtained results were analyzed by SPSS 21.0 software.

Results: The frequencies of TT, CT and CC genotypes were obtained 0.5099, 0.3856, 0.1046 and 0.4025, 0.5409, 0.0566 respectively in patient and control. There was a significant difference between patient and control groups in terms of general genotype distribution ($p = 0.0162$). Compared with individual genotypes, especially heterozygotes were found to be significantly lower in patients ($p = 0.007$; OR, 95% CI = 0.53, 0.34-0.84).

Conclusion: The data obtained from study, suggest that the NCOA5 gene may have an effect on MS disease.

PS - 087

2 yaşında kompleks genotipli FMF olgusu

Furkan Timur¹, Hüseyin Yüce², Recep Eröz², Önder Kılıçaslan¹, Mustafa Doğan², Emine Dağdelen¹

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Anabilim Dalı, Düzce

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,
Düzce

Ailesel akdeniz ateşi (Familian Mediterranean Fever, FMF), tekrarlayıcı ve kendini sınırlayan ateşin eşlik ettiği, karın ağrısı, artrit ve eripizel benzeri bulgularının olduğu; AA amiloidoz gibi komplikasyonlara yol açabilen bir hastalıktır. Kompleks genotipli FMF'li bir olgu klinik ve moleküler sonuçları eşliğinde literatüre katkı amacıyla sunulmuştur. MEFV geninin kodlayan (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10) tüm ekzonları PCR tekniği ile amplifiye edildi. Sonrasında Sanger Sekanslama ile MEFV geni dizilindi. Rutin biyokimyasal analizler ve idrar tetkikleri yapıldı. FMF tanılı kardeş öyküsü olan 2 yaşında kız çocuğu karın ağrısı etyolojisi açısından değerlendirildi ve yapılan MEFV geni analizinde M694V, K695R ve R202Q varyantlarını heterozigot formda taşıdığı saptandı. Hasta FMF olarak kabul edildi. Kardeşi ise M694V ve R202Q mutasyonları açısından heterozigot idi. Ülkemizde sık görülmesi sebebiyle; yaşı kaç olursa olsun öyküsünde tekrarlayan karın ağrısı olan bireylerde FMF sorgulamak önemlidir. FMF sonucu oluşabilecek komplikasyonlar, erken tanı ve uygun takip ile azalabilmektedir. Olgumuzla aile öyküsünün önemini tekrar vurgulamayı ve nadir görülen FMF gen mutasyonlarına dikkat çekerek literatüre katkı sağlamayı hedefledik.

A 2 years old girl who has FMF with complex genotype

Furkan Timur¹, Hüseyin Yüce², Recep Eröz², Önder Kılıçaslan¹, Mustafa Doğan², Emine Dağdelen¹

¹Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatrics,
Duzce, Turkey

²Duzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Duzce, Turkey

Familial Mediterranean Fever (FMF) is characterized by recurrent and self-limiting fever, abdominal pain, arthritis and eripisel-like findings and can lead to complications such as amyloidosis. A case of FMF who had a complex genotype has been presented with clinical and molecular findings to contribute to the literature. All exons of MEFV gene (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10) were amplified via PCR technic and Sanger sequencing was performed of MEFV gene for the individual. Routine biochemical analyzes and urine examinations were performed. A 2-year-old girl who had a FMF-diagnosed sister was evaluated for the etiology of abdominal pain and the MEFV gene analysis was performed. According to the results, the patient had the M694V, K695R and R202Q variants as heterozygous. The patient was accepted as FMF. It was noted that her sister was heterozygous for M694V and R202Q variants. Because of the frequent occurrence in our country, it is important that to question FMF in individuals with recurrent abdominal pain at any age. The complications that may occur in the FMF can be reduced with early diagnosis and appropriate follow-up. In this study, we aimed to emphasize the importance of the family story at FMF and draw attention to rare FMF gene mutations.

PS - 088

Kompleks genotipli bir Türk FMF vakası

Recep Eröz¹, Hüseyin Yüce¹, Mustafa Doğan¹,
Muhammet Mesut Nezir Engin², Kenan Kocabay²

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,
Düzce

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Anabilim Dalı, Düzce

Ailel Akdeniz Ateşi (FMF) öncelikle Türk, Arap, Yahudi ve Ermeni popülasyonlarını etkileyen otoenflamatuvar ve otozomal resesif geçişli kalıtsal bir hastalıktır. Sekozal membranların yineleyen atakları ile karakterizedir. Nadir görülen kompleks genotipli FMF vakasını sunduk. Klinik olarak FMF tanısı alan Türk hastası araştırılmıştır. MEFV geninin tüm eksonları çoğaltıldı ve sanger dizilim analizi yapıldı. Sekans analizi sonucunda, hastanın intron 8'de c.1759+8C>T değişikliği, ekzon 2'de E148Q mutasyonu, ekzon 3'te P369S mutasyonu ve E480Q varyasyonu taşıdığı bulundu. Tüm bu değişikliklerin heterozigot olduğu tespit edildi. Proband'ın ilk şikayetleri 16 yaşında başladı ve Apandisit ameliyatı oldu. Ameliyat sonrası tekrarlayan karın ağrısı geçmedi. Hastanın aynı zamanda tekrarlayan göğüs ve eklem ağrısı vardı. Aile hikayesinde annede benzer şikayetler bulundu ve bu şikayetlerin FMF ile ilişkili olabileceği söylendi. C.1759+8 C>T heterozigot varyant ilk olarak Vietnamda 2003 yılında tanımlanmıştır, ancak patojenik etki açık olarak belirtilmemiştir. Bu varyasyon L110P, E148Q, P369S, R408Q ve R501R değişiklikleri ile birlikte gözlemlenmiştir ve hastanın özellikle yılda birkaç kez ekstremitelerdeki ağır ağrı atakları hikayesi tespit edilmiştir. Hastamızda bu varyant E148Q, R408Q ve P369S ile birlikte bulunmuştur. Bu nadir varyantı taşıyan vaka sayısı arttıkça, klinik etki hakkında daha fazla veri elde edilebilecektir.

A Turkish FMF Case with A Complex Genotype

Recep Eröz¹, Hüseyin Yüce¹, Mustafa Doğan¹,
Muhammet Mesut Nezir Engin², Kenan Kocabay²

¹Duzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Duzce, Turkey

²Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatrics, Turkey

Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autosomal recessive inherited disease that primarily affects Turkish, Arab, Jewish and Armenian populations. It is characterized by repeated attacks of serosal membranes. We presented the case who had FMF with a rare complex genotype. A Turkish patient clinically diagnosed as FMF is investigated. All exons of MEFV gene were amplified and sanger sequencing analysis was performed. The patient carries c.1759+8 C>T change in intron 8, the E148Q mutation in exon 2, the P369S mutation and the R408Q variation in exon 3. All these changes were found to be heterozygous. Proband's first complaints started at the age of 16, and to be operated for appendicitis. After surgery, recurrent abdominal pain has not passed. The patient also had recurrent chest and joint pain at the same time. In the family story, there were similar complaints in the mother, and these complaints were thought to be related to the FMF. The c.1759+8 C>T heterozygous variant was first described in Vietnam in 2003, but the pathogenic effect is not explicitly stated. This variant had been observed together with L110P, E148Q, P369S, R408Q and R501R changes and that patient especially had a history about heavy pain in limbs several times in a year. In our patient, this variant was found together with E148Q, R408Q and P369S. As the number of the people carrying this rare variant have increased, more data on the clinical effect will be obtained.

PS - 089

Vitiligo hastalığında IL17 genetik varyasyonlarının araştırılması

Sevim Karakaş Çelik¹, Nilgün Solak Tekin², Güneş Çakmak
Genç³, Tuba Edgünlü⁴, Ümmühani Özel Türkçü⁵, Ahmet
Dursun³

¹Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Zonguldak

²Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı, Zonguldak

³Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Zonguldak

⁴Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Muğla

⁵Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Muğla

Amaç: Vitiligo, kutanöz epidermisten kaynaklanan melanositlerin kronik ve progresif kaybına bağlı oluşan depigmente cilt makülleri ile karakterize bir pigmentasyon bozukluğudur. Vitiligo için bugüne kadar önerilen birçok etyolojik hipotez arasında en ilgi uyandırıcı olanı, çevresel ve genetik faktörlerin birlikte otoimmün melanosit yıkımına neden olması üzerinedir. Bu çalışmanın amacı vitiligo ve IL17 geni Glu126Gly, His161Arg ve G197A polimorfizimleri arasında herhangi bir ilişki olup olmadığını belirlemektir.

Gereç-Yöntem: IL17 gen polimorfizmleri, vitiligo hastalarında ve sağlıklı kontrollerde PCR-RFLP (PCR-based restriction fragment-length polymorphism) yöntemi kullanılarak tespit edildi.

Bulgular: Çalışmamızın sonucunda IL17F His161Arg polimorfizmi ile vitiligo hastaları arasında anlamlı bir ilişki saptadık ($p=0.045$).

Sonuç: Bulgularımız IL17F His161Arg gen polimorfizminin vitiligo'ya yatkınlıkta koruyucu bir role sahip olduğunu göstermektedir. Yapılacak ileri araştırmalar vitiligonun patogenezetik mekanizmalarının açıklığa kavuşmasını sağlayabilir.

Investigation of genetic variations of IL17 for vitiligo disease

Sevim Karakaş Çelik¹, Nilgün Solak Tekin², Güneş Çakmak Genç³, Tuba Edgünlü⁴, Ümmühanı Özel Türkçü⁵, Ahmet Dursun³

¹Bulent Ecevit University School of Sciences and Arts,
Department of Molecular Biology and Genetics, Zonguldak

²Bulent Ecevit University School of Medicine, Department of Dermatology, Zonguldak

³Bulent Ecevit University School of Medicine, Department of Medical Genetics, Zonguldak

⁴Mugla Sitki Kocman University School of Medicine, Department of Medical Biology, Mugla

⁵Mugla Sıtkı Kocman University School of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Mugla

Objective: Vitiligo is a disorder of pigmentation characterized by the presence of depigmented skin macules due to a chronic and progressive loss of melanocytes from the cutaneous epidermis. Among many different etiologic hypotheses that have been suggested so far for vitiligo, the most compelling one involves a combination of environmental and genetic factors cause autoimmune melanocyte destruction. The purpose of this study is then to determine whether there is any relationship between vitiligo and IL17 gene Glu126Gly, His161Arg and G197A polymorphisms. Materials-Methods: Genetic polymorphisms of IL17 gene was detected by using PCR-based restriction fragment-length polymorphism at vitiligo patients and healthy controls.

Results: As a result of our study, we have found a significant relation between His161Arg polymorphism of IL17F gene and vitiligo patients (P=0.045). **Conclusion:** Our findings suggest that the IL17F His161Arg gene polymorphism has a protective role in susceptibility to vitiligo. Further investigations may provide the clarification of the pathogenetic mechanisms of vitiligo.

*Bülent Ecevit Üniversitesi tarafından desteklenmiştir
(Proje Numara: 2013-50737594-02).*

PS - 090

GJB1 geninde delesyon mutasyonu olan Charcot-Marie-Tooth'lu bir olgu

Mustafa Doğan¹, Recep Eröz¹, Hüseyin Yüce¹, Kenan Kocabay²

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Düzce

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Ana Bilim Dalı, Düzce

Charcot-Marie-Tooth (CMT) hastalığı bir hereditere duysal ve motor nöropati sendromu olup OD, OR, X'e bağılı olarak kalıtlılabilmektedir. X'e bağılı olan CMT(CMTX) tüm CMT hastalarının %7-15'inden sorumludur. Biz GJB1 geninde delesyon mutasyonu taşıyan X' e bağılı dominant CMT ailesini sunuyoruz. Aile bireylerinde klinik ve elektrofizyolojik incelemeler yapılmıştır. PMP22 geni kodlayan bölgeleri ile ilgili probanda yapılan analizlerde kopya sayısı değişikliği veya mutasyona rastlanmamıştır. GJB1 geni kodlayan ekzonlarını sanger sekanslama ile dizilemeden önce yeterli PCR amplifikasyonu olmaması nedeniyle GJB1 geninde MLPA yöntemiyle analiz yapılmıştır. CMT öntanısı ile takip edilen bir kardeşi olan 10 yaşındaki erkek hasta ayaklarında deformite olması sebebiyle tarafımıza danışıldı. Muayeneler sonrasında hastada alt ekstremitte distallerinde bilateral güçsüzlük ve atrofi olduğu, proximal kaslarda ise belirgin bir durum olmadığı görüldü. Hastanın ayaklarında bilateral yüksek longitudinal ark ve 2-3 sene önce gelişmeye başlayan deformiteler vardı. Distal ekstremitelerde derin tendon reflekslerinde azalma saptandı. Hastanın duysal ve motor sinir iletim hızlarında bir anormallik saptanmadı. CMTX olduğu düşünülen ailede GJB1 geninde tüm genin delesyona uğradığını saptadık. GJB1 mutasyonları ile gelişen CMTX, tüm CMT etyolojisinde ikinci en yaygın sebeptir. 17p11.2 duplikasyonu negatif ve erkekten erkeğe geçiş olmayan CMT tip 1 vakalarında ilk olarak GJB1 geni analiz edilmelidir. Bu durum özellikle erkeklerin dışıere göre daha ağır etkilendiğı ailelerde önem arz etmektedir.

A Case with Charcot-Marie-Tooth Who Had Deletion Mutation in the GJB1 gene

Mustafa Doğan¹, Recep Eröz¹, Hüseyin Yüce¹, Kenan Kocabay²

¹Düzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Düzce, Turkey

²Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatrics,
Duzce, Turkey

Charcot-Marie-Tooth (CMT) is a hereditary motor and sensory neuropathy syndrome inherited as autosomal dominant, autosomal recessive, or X-linked manner. X-linked CMT (CMTX) has frequency of 7% to 15% among all CMT patients. We report X-linked dominant CMT family with deletion mutation in GJB1 gene. Clinical and electrophysiological examination of the family members were done. We did not find any copy number abnormalities or mutations in the coding region of PMP22 gene of the proband. Before sanger sequencing of the coding region containing exons 1–3 of GJB1, MLPA analysis was performed because of insufficient PCR amplification. A 10-year-old boy, his brother was followed-up CMT prediagnosis, was referred to us because of deformity on his feet. Our examination revealed weakness and atrophy in the distal lower limbs bilaterally without obvious involvement of the proximal muscles. He had a bilateral high longitudinal arch and deformity that began to develop 2-3 years ago in his feet. Reduced deep tendon reflexes of distal extremities was detected. There was no abnormality in motor and sensorial nerve conduction velocities of case. The whole gene deletion mutation of GJB1 gene was detected in this family with CMTX. CMTX developed by GJB1 mutations is the second common cause of CMT. GJB1 should be the first gene screened for mutations in all CMT type1 families with negative for the chromosome 17p11.2 duplication and without male to male transmission. This is particularly important in families in which, males are more severely affected than females.

PS - 091

47,XY,+mar karyotipli (15q13.2q13.3-15q11.2q13.2 kromozomal bölgesinde kazançlı) ve farklı klinik bulgulu bir vaka

Recep Eröz¹, Mustafa Doğan¹, Çiğdem Yektaş²

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Düzce

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı Ana Bilim Dalı, Düzce

Daha önce West sendromu, otizm öntanımlıya takipli, ebeveynleri arasında akrabalık öyküsü olmayan Türk kökenli 4 yaşında erkek olguyu sunuyoruz. Literatürde daha önce 15q13.213.3 kromozomal bölgesine ait segmental duplikasyonlar tanımlanmış ve anlama geriliği, epilepsy ve otizm gibi fenotiplerle ilişkilendirilmiştir. Bu vakayı klinik ve moleküler bulgularıyla birlikte literatüre katkı amaçlı sunuyoruz. Hastada karyotip analizi ve array-CGH analizi yapıldı. Mikroarray analizi Cytoscan Optima Assay(Affymetrix) ile çalışıldı. Rutin biyokimyasal analizler ve radyolojik değerlendirmeler yapılmıştır. Hastamız miadında 2130 gr olarak doğmuştur. Antenatal öyküde preeklampsi ve gestasyonel diyabet öyküsü mevcuttu. Şu anda 4 yaşında olan hastada nöromotor gelişimsel gerilik, anlama geriliği, epilepsy ve otizm spektrumu gibi klinik bulgular mevcuttu. Karyotip analizi sonucu 47,XY,+mar olarak tespit edilmiştir. Marker kromozom orijinini ortaya koymak için yapılan array-CGH analizi sonuçlarına göre hastada 15q13.2q13.3 bölgesinde yaklaşık 2 MB'lık, 15q11.2q13.2 bölgesinde ise yaklaşık 7,5 MB'lık bir artış olduğu saptandı. Omim ve Decipher veritabanlarını değerlendirdiğimizde 15. Kromozomun ilgili bölgelerindeki artışla seyreden spesifik bir sendrom bulunmamaktadır; ancak bu bölgelerdeki artışla giden otizm, anlama geriliği, ataksi gibi farklı fenotipik bulgular ortaya konmuştur. Artış olan bölgelerdeki genler ile hastanın kliniğini açıklayabilmek için değerlendirmelerimiz sürmektedir.

A case with 47,XY,+mar karyotype (with gain in 15q13.2q13.3-15q11.2q13.2 chromosomal region) and different clinical findings

Recep Eröz¹, Mustafa Doğan¹, Çiğdem Yektaş²

¹Düzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Düzce, Turkey

²Duzce University Medical Faculty, Department of Child and Adolescent Psychiatry, Duzce, Turkey

We present a 4-year-old male patient of Turkish origin, born of nonconsanguineous parents and who is pre-diagnosed with West syndrome and autism. Partial duplications at 15q13.2q13.3 chromosomal region have been previously described and associated with phenotypes such as mental retardation, epilepsy and autism. We presented this case with clinical and molecular findings for contributing to the literature. Karyotype analysis and array comparative genomic hybridization of the patient were done. Microarray study was performed with Cytoscan Optima Assay (Affymetrix). Routine biochemical analysis and radiological evaluation were performed. Our patient was born at term with a birthweight of 2.13 kg. In the antenatal history, preeclampsia and gestational diabetes mellitus were present. Now he was 4 years old and manifested clinical findings including noromotor developmental delay, intellectual disability, epilepsy and autism spectrum. Conventional cytogenetic analysis revealed a karyotype of 47,XY,+mar. Array comparative genomic hybridization analysis was performed to detect the origin of the marker chromosome and the results showed that the patient had a gain of approximately 2 MB in the 15q13.2q13.3 region and 7.5 MB in the 15q11.2q13.2 region. A specific syndrome was not reported with the increase of related regions of the 15th chromosome when OMIM and Decipher databases were evaluated. But various phenotypic findings such as autism, mental deficiency, ataxia were reported with the increase in these regions. We are still evaluating the genes found in the increased regions to explain our patient's clinic.

PS - 092

infertil erkek bireylerde Y kromozomu mikrodelesyon analizi sonuçları

Selahaddin Tekeş¹, Selda Şimşek¹, Mahir Binici¹, Diclehan Oral¹, Ayşegül Türkyılmaz³, İlyas Yücel¹, Abdullah Gedik², Hilmi İşi¹

¹Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD.
Diyarbakır

³Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü

Amaç: infertilite vakalarının yaklaşık %40-%50'sinden erkek infertilitesi sorumludur. Erkek infertilitesine yol açan nedenlerin bir kısmı sonradan olduğu halde, bir kısmı genetik kökenlidir. Y kromozomunun uzun kolundaki (Yq) genler spermatogenezde rol alırlar. Y kromozomunda bulunan bu genlerin mikrodelsyonlarıyla infertilite arasında bağlantılar bulunmaktadır. Bu çalışmada, Y kromozomunda AZF mikrodelsyonlarının varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Primer infertilite, azospermi, ve oligozoospermi ön tanısı ile D.Ü. Tıp Fak Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarımıza yönlendirilen hastaların Y kromozom mikroddelesyonu multipleks PCR yöntemi ile araştırıldı.

Bulgular: 2 yıl süresince primer infertilite, azospermi, ve oligozoospermi ötanısı ile D.Ü. Tıp Fak Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarımıza yönlendirilen hastaların Y kromozomu mikrodelsiyon analizi sonuçları değerlendirildi. 15 hastada delesyon saptandı.

Sonuç: Y kromozomunun distal bölgesinde (Yq) mikrodelesyonu ilk olarak Tiepolo ve Zufardi adlı araştırmacılar tarafından 1976 yılında rapor edilmiştir. Bu süreden beri yapılan çalışmalar literatür doğrultusunda tartışıldı. Y mikrodelesyonu saptanması infertilite ve infertil çiftlere verilecek genetik danışma için önem taşımaktadır

Results of Y chromosome micro-deletion identification in infertile males

Selahaddin Tekes¹, Selda Şimşek¹, Mahir Binici¹, Diclehan Oral¹, Ayşegül Türkyılmaz³, İlyas Yücel¹, Abdullah Gedik², Hilmi İşi¹

¹Dicle University Medical Faculty Department of Medical Biology and Genetic, Diyarbakir

²Dicle University Medical Faculty Department of Urology,
Diyarbakir

³Mugla Sıtkı Kocman University Health Science Faculty
Department of Nutrition and dietetics

Objective: Male infertility are responsible about 40% - 50% of infertile cases. Some of the causes that lead to male infertility are genetic origin and some of them which subsequently formed. Genes in the long arm (Yq) of the Y chromosome are involved in spermatogenesis. There are links between microdeletions of Y chromosome genes and infertility. In this study, we aimed to investigate the presence of AZF microdeletions in Y chromosome.

Materials-Methods: The Y chromosome microdeletion of patients who were directed to Medical Biology and Genetics Laboratory of Medicine Faculty was investigated by multiplex PCR. Preoperatively diagnosed patients with primary infertility, azoospermia, and oligozoospermia were studied.

Results: The results of microdeletion analysis of Y chromosome of the patients who were directed to the Medical Faculty and Genetic Laboratory were evaluated. Deletions were detected in 15 of those patients.

Conclusion: Microdeletion in the distal region of the Y chromosome (Yq) was first reported by researchers Tiepolo and Zufardi in 1976. The work done since this time has been discussed in the light of the literature. Detection of Y microdeletion is important for infertility and genetic counseling for infertile couples

PS - 093

MEFV geninde K695R mutasyonu tespit edilen nadir bir Türk hasta

Muhammet Mesut Nezir Engin¹, Mustafa Doğan², Recep Eröz², Önder Kılıçaslan¹

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Düzce

Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF); ateşin eşlik ettiği, seröz zarların ağrılı, non-enfeksiyöz enflamasyon nöbetleri ve zamanla amiloidoz gelişimi ile karakterize bir hastalıktır. MEFV geni 16. Kromozomun kısa kolunda (16p13.3) lokalize olmuştur ve 781 amino asitten oluşan bir proteini (pirin) kodlar. Pirin proteinin FMF atakları sırasında inflamasyon yerinde nötrofil aktivitesi ve inflamasyonun inhibe edilmesinde rol aldığı belirtilmektedir. Klinik olarak FMF tanısı alan bir Türk erkek hasta araştırılmıştır. MEFV geninin (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10) tüm ekzonları PCR tekniği ile amplifiye edildi ve dizilendi. MEFV geninin kodlama bölgesinde nadir bulunan tek bir baz mutasyonu tespit edildi. Bu mutasyon K695R (p.Lys695Arg) c.2084A> G heterozigot olarak adlandırılan, mutant bir Pirin / Marenostroin proteini ile oluşmuştur. Hastada tekrarlayan karın ağrısı, ateş, artrit ve eritemli dükküntü bulguları mevcut. Aile hikayesinde babada benzer şikayetler bulundu ve bu şikayetlerin FMF ile ilişkili olabileceği söylendi. Ülkemizde sık rastlanan bir sağlık sorunu olan FMF hastalığında tanının erken konması, hastalığın tedavisi ve oluşabilecek komplikasyonların önlenmesi bakımından önemlidir. MEFV geninin ekzon 10'undaki bu mutasyon nadir raporlanmıştır. Klinik olarak tanımlanan vakaların sayısı arttıkça mutasyon hakkında daha fazla bilgi edinebiliriz. Bu mutasyonun FMF patogenezine üzerine yapılacak daha ileri çalışmalar için önemli bilgiler sağlayabileceğini düşündük.

A Turkish patient who had a rare K695R mutation Identified in the MEFV gene

Muhammet Mesut Nezir Engin¹, Mustafa Doğan², Recep Eröz², Önder Kılıçaslan¹

¹Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatrics, Duzce, Turkey

²Düzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Düzce, Turkey

Familial Mediterranean Fever (FMF) is a disease characterized by painful, non-infectious inflammatory episodes of serous membranes accompanied by fever, and the development of amyloidosis over time. The MEFV gene is located in the short arm of chromosome 16 (16p13.3) and encodes a protein (pyrin) consisting of 781 amino acids. The pyrin plays an important role in the inhibition of neutrophil activity and inflammation during FMF attacks. A Turkish male patient clinically diagnosed as FMF was investigated. All exons of MEFV gene (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10) were amplified via PCR technic and complete exom sequencing analysis of MEFV gene was performed. A rare single base mutation in the coding region of MEFV gene, named K695R (p.Lys695Arg), c.2084A>G heterozygot resulting in a mutated Pyrin/Marenostrin protein was detected and there is a history about recurrent abdominal pain, fever, arthritis and erythema in our proband. In the family story, it was found that there were similar complaints in the father, and these complaints were thought to be related to the FMF. Early diagnosis of FMF disease which is a common health problem in our country is important for the prevention of the complications that may occur. This mutation in exon 10 of the MEFV gene in Turkish population is rarely reported. As the number of clinically identified cases increased, we can learn more about this mutation. We think this mutation may provide important information for further studies on FMF pathogenesis.

PS - 094

EDA geninde yeni bir missens varyant bulunduran hipohidrotik ektodermal displazili bir olgu

Mustafa Doğan¹, Recep Eröz¹, Refika Yıldız², İlknur Arslanoğlu³, Hüseyin Yüce¹

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Düzce

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Ana Bilim Dalı, Düzce

³Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı, Düzce

Hipohidrotik Ektodermal Displazi (HED) otozomal dominant, otozomal resesif ve X'e bağılı olarak kalıtılabilen saçlarda seyrelme, terleme noksanlığı, dişlerde eksiklik ile karakterize bir sendromdur. X'e bağılı olan tipi (XLHED) HED'li olguların büyük çoğunluğunu oluşturmakta ve Xq12-q13.1'de yerleşik tüm HED'li hastaların %65-75'inde tespit edilen EDA (Ektodisplazin) genindeki mutasyonlar sonucu meydana gelmektedir. 3 yaşında hafif hipohidrotik ektodermal displazi bulguları olan bir kız çocuğu sunulmuştur. Hastamızda EDA geninin kodlayan tüm ekzonları çoğaltılmış ve Sanger sekanslama ile dizilenmiştir. Rutin biyokimyasal analizler ve radyolojik görüntülemeleri yapılmıştır. Proband aralarında akrabalık bulunmayan anne babadan miadında sorunsuz bir doğum öyküsü ile doğmuştur. Hastanın boyu 84cm(3-10p), kilosu 10,5kg (<3p)'dı ve anlama geriliği yoktu. Hastanın saçlarında seyreklik ve terleme noksanlığı vardı ancak diş eksikliği yoktu. Hastada EDA geninin 1. ekzonunda'de 344. pozisyonda yeni bir varyant (C>T) saptadık. Bu nükleotid değişikliği sonucu Prolin aminoasidi Lösin'e dönüşmektedir (p.Pro115Leu). Mutation Taster, SIFT, PolyPhen2 bioinformatik programlarına göre bu değişiklik patojenik bir varyanttır. Aile bireylerindeki segregasyon analizleri devam etmektedir. Klinik bulguları hastalıkla uyumlu olan hastamız, XLHED için taşıyıcıydı. P115L (c.344C>T) değişikliği HGMD, ExAC Browser'da ve bildiğimiz kadarıyla literatürde tanımlanmamıştır. Eldeki verilerle bu varyantin patojenik olduğunu düşünmekteyiz. Tanımlanan vaka sayısının artmasıyla bu mutasyonla alakalı daha fazla bilgi elde edebiliriz.

A case with hypohidrotic ectodermal dysplasia and a novel missense variant in the EDA gene

Mustafa Doğan¹, Recep Eröz¹, Refika Yıldız², İlknur Arslanoğlu³, Hüseyin Yüce¹

¹Düzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Düzce, Turkey

²Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatrics, Duzce, Turkey

³Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatric Endocrinology, Duzce, Turkey

Hypohydrotic Ectodermal Dysplasia is a syndrome inherited as autosomal dominant autosomal recessive and X linked characterized with (HED) sparse hair, hypohydrosis and hypodontia. X linked type (XLHED) constitutes more of cases with HED and localized on Xq12-q13.1 region. It is occurred by the mutation in EDA (Ectodysplasin) gene detected in 65-75% of all cases with HED. A 3-year old girl with mild hypohydrotic ectodermal dysplasia was presented. All exons of EDA gene were amplified and sanger sequencing was performed. Routine biochemical and urine analysis were performed and radiological evaluation was performed. The proband was born at full term after an uneventful pregnancy from a non-consanguineous Turkish family. Her height was 84cm (3-10p), weight was 10.5kg (<3p), and had normal intellectual development. She had sparse hair and hypohydrosis but hypodontia was not present. We identified a novel C>T heterozygotes alteration located on exon 1 at nucleotide position c.344 in the EDA gene in our proband. The nucleotide change results in a substitution of proline by leucine (p.Pro115Leu). According to the bioinformatic programs MutationTaster, SIFT, PolyPhen2, this change is pathogenic. Segregation analysis is continuing in family members. Our patient is the carrier for XLHED and her clinical findings were consistent for the disease. To our knowledge, P115L (c.344C>T) change has not been previously described at HGMD, ExAC Browser. Together with these findings, we thought this variant is pathogenic. We may be obtained more information about the mutation when the number of clinically identified cases are increased.

PS - 095

Türk hastada MEFV geninde tespit edilen nadir A744S mutasyonu

Önder Kılıçaslan¹, Recep Eröz², Hüseyin Yüce²,
Muhammet Mesut Nezir Engin¹, Mustafa Doğan²

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatri Ana Bilim Dalı, Düzce

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Düzce

Ailesel Akdeniz Ateşi (FMF) tekrarlayan ve kendine sınırlı sinovit, plörit ve abdominal ağrı ile karakterize otozomal resesif geçişli otoenflamatuvar hastalıktır. Hastalıktan MEJV geni sorumludur ve FMF öncelikle Akdeniz bölgesini, çoğunlukla Türkleri, Arapları, Yahudileri ve Ermenileri etkilemektedir. A744S mutasyonu olan, toplumumuzda nadiren gördüğümüz FMF vakasını sunduk. MEJV geninin (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10) tüm eksonları PCR tekniği ile amplifiye edildi ve hastamızda MEJV geninin sanger dizilimi yapıldı. Rutin biyokimyasal ve idrar analizleri yapıldı. Nadir bir (C.2230G> T), (p.Ala744Ser) heterozigot mutasyonu MEJV geninin ekzon 10'da tespit edildi. Olguda tekrarlayan ateş ve karın ağrısı mevcut. Atakların tekrarlama sıklığı 3 haftada birdir. Proband'a kolşisin tedavisi başlandı, tedaviye yanıt verdi. Ailede benzer şikayetlerin sebebinin FMF olabileceği söylendi. Bugüne kadar 300'den fazla mutasyon ve polimorfizm bildirilmiştir. Türk popülasyonunda MEJV geninin ekzon 10'undaki bu mutasyon nadiren rapor edilmiştir. Yakın tarihli bir çalışmada, Türk nüfusu için A744S mutasyon sıklığı % 0.5 olarak bildirilmiştir. FMF yaygınlığı Anadolu'da 1: 500-1: 1000'dir ve taşıyıcı frekansın Türklerin 1/5'idir. Dolayısıyla uyumlu semptomları olan hastalarda toplumumuzda yaygın olan FMF için moleküler çalışmalar yapılmalıdır.

A Turkish patient who had a rare A744S mutation in the MEFV gene

Önder Kılıçaslan¹, Recep Eröz², Hüseyin Yüce²,
Muhammet Mesut Nezir Engin¹, Mustafa Doğan²

¹Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatrics, Duzce, Turkey

²Düzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Düzce, Turkey

Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autosomal recessive autoinflammatory disease characterized by recurrent and self-limited synovitis, pleuritis and abdominal pain. The MEFV gene responsible for the disease and FMF primarily affects the Mediterranean region, mostly Turks, Arabs, Jews, and Armenians. We presented an FMF case who had A744S mutation rarely seen in our society. All exons of the MEFV gene (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10) were amplified by PCR technique and sanger sequencing of the MEFV gene was performed in our patient. Routine biochemical and urine analysis were performed. A rare (c.2230G>T), (p.Ala744Ser) heterozygot mutation was detected at exon 10 of the MEFV gene. There is recurrent fever and abdominal pain in the case. The recurrence rate of attacks is one in 3 weeks. Proband was treated with colchicine, and response was taken. It was said that the FMF may be the cause of similar complaints in the family. To date, over 300 mutations and polymorphisms have been reported. This mutation in exon 10 of the MEFV gene in a Turkish population is rarely reported. In a recent study, the frequency of A744S mutation was reported as 0.5% for Turk population. The FMF prevalence is 1: 500-1: 1000 in Anatolia and the carrier frequency is 1/5 of the Turks. Therefore Molecular studies for FMF should be performed in patients with compatible symptoms as a disease that is common in our society

PS - 096

Nörogelişimsel bozukluğu olan hastada CLP1 geninde saptanan homozigot missense mutasyon

Tülay Öncü Öner¹, Aycan Ünalp², Sultan Cingöz¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

²Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi, Çocuk Nörolojisi Bölümü, İzmir

tRNA-splicing endonuclease (TSEN) kompleksinin bir bileşenini kodlayan CLP1 geni, ilk keşfedilen memeli RNA kinazıdır. Nakavt farelerde yapılan çalışmalarla genin progresif spinal nöron kaybı ile karakterize olan, nöronal bozukluklar ile ilişkisi olduğu ortaya konmuştur. Bu çalışmada, serebral ve serebellar atrofi, mikrosefali, korpus kallozum incelmeleri, mental motor geriliği, spastik tetraparezi, şaşılık, düşük kulak ve ventriküler genişlemesi olan bir kız çocuğunda tüm genomu kapsayan çalışmalar yapılarak klinik fenotip ile ilişkili genetik değişikliğin saptanması amaçlanmıştır. Hastada sırasıyla, array-CGH, MIPs (Moleküler İnversiyon Problemleri) ve WES (Tüm Exom Dizileme) analizi gerçekleştirilmiştir. WES analizi sonrasında, CLP1 geninde homozigot bir missense mutasyon p.R140H (c.G419A) saptanmıştır. Saptanan mutasyonun segregasyonu ve doğrulanması Sanger dizileme ile gerçekleştirilmiştir. Literatüre göre, mutasyon daha önce aynı coğrafik bölgede yaşayan dokuz Türk ailede saptanmış ve atasal (founder) mutasyon olarak tanımlanmıştır ve de fonksiyonel analizleri yapılmıştır. Sonuç olarak bu çalışma mutasyonun founder olduğunu destekleyici niteliktedir.

A homozygous missense mutation in CLP1 gene in a patient with neurodevelopmental disorder

Tülay Öncü Öner¹, Aycan Ünalp², Sultan Cingöz¹

¹Dokuz Eylül University, School of Medicine, Department of Medical Biology, İzmir

²Dr. Behçet Uz Children's Hospital, Department of Pediatric Neurology, İzmir

CLP1 is the first discovered mammalian RNA kinase, which encodes a component of the tRNA-splicing endonuclease (TSEN) complex. Knockout mice studies showed that CLP1 gene associated with a progressive loss of spinal motor neurons. In this study, we aimed to detect the genetic variation associated with clinical phenotype in a girl with cerebral and cerebellar atrophy, microcephaly, thinning of corpus callosum, mental-motor retardation, spastic tetraparesis, strabismus, low-set ears and ventricular expansion by genome wide studies. Array-CGH, MIPs (Molecular Inversion Probes) and WES (Whole Exome Sequencing) analysis, respectively, were performed in the patient. We identified a homozygous missense mutation p.R140H (c.G419A) in the CLP1 gene by WES. The segregation and validation of the detected mutation were carried out using Sanger sequencing. According to the literature, this mutation was previously identified in nine Turkish families who have resided in the same geographic area and defined as a founder mutation, and also carried out functional analysis of the mutation. As a result, this study supports that p.R140H mutation is founder.

PS - 097

İnfertil erkeklerde sperm protamin eksikliğinin değerlendirilmesi ve sperm parametrelerine etkisi

Dilara Emirzeoğlu¹, Sezgin Güneş², Ramazan Aşçı³

¹Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Türkiye

²Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ondokuz Mayıs Üniversitesi,
Samsun, Türkiye

³Üroloji Anabilim Dalı, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Türkiye

Amaç: Son zamanlarda yapılan çalışmalar sperm protamin eksikliğinin erkek infertilitesiyle ilişkisi olabileceğini göstermektedir. Ancak, erkek infertilitesinin büyük oranda heterojenite göstermesi nedeniyle sperm protamin eksikliğinin semen parametreleriyle ve farklı özellikteki hastalarla ilişkisi tam olarak ortaya konulamamıştır. Dolayısıyla, bu çalışmada amacımız oligoastenoteratozoospermi (OAT) teşhisi konular, normal semen parametrelerine sahip ancak çocuğu olmayan ve fertil erkeklerdeki protamin oranın belirlenmesi ve karşılaştırılmasıdır.

Gereç-Yöntem: Çalışmaya Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine göre 20 oligoastenoteratozpermisi (OAT) tanısı konulan ve 6 normozospermik ancak çocuğu olmayan erkek ve 5 fertil erkek kontrol grubu olarak dahil edildi. Semen örnekleri 1X PBS ile yıkandıktan sonra slide üzerine yayıldı ve anilin mavisi ile boyanıp ışık mikroskobunda incelendi. Koyu mavi renkli olanlar histonca zengin (anilin pozitif), zayıf boyananlar veya boyanmayanlar ise protamince zengin (anilin negatif) olarak kabul edildi.

Bulgular: Bulgularımız, histon-protamin oranlarının OAT teşhisi konulan infertil ve fertil erkekler arasında anlamlı farklılık olduğunu gösterdi ($p = 0.000 < 0.001$). Aynı zamanda, histon-protamin oranı ve motilite arasında da anlamlı korelasyon kuruldu ($P=0,006$). Ancak, normozospermik erkelerle fertil erkeklerin sperm örneklerinin histon-protamin oranları karşılaştırıldığında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ayrıca, protamin eksikliği ile sigara kullanımı ve yaş arasında bir ilişki saptanmadı.

Sonuç: Başlangıç aşamasında olan çalışmamız OAT ve histon-protamin oranları arasında bir anlamlı düzeyde bir ilişki olduğunu göstermektedir.

Evaluation of sperm protamine deficiency in infertile men and their effects on sperm parameters

Dilara Emirzeoğlu¹, Sezgin Güneş², Ramazan Aşçı³

¹Department of Molecular Medicine, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey

²Department of Medical Biology, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey

³Department of Urology, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey

Objective: Recent studies have shown an association between sperm protamine deficiency and male infertility. Male infertility is a heterogeneous disorder; the association with different phenotypes of patients and semen parameters cannot be revealed. Hence, the aim of this study is evaluating protamine ratio and comparing these results in oligoasthenoteratozoospermic (OAT) infertile patients and normozoospermic patients who are not certainly diagnosed with infertility and fertile men.

Materials-Methods: Semen analysis was evaluated according to World Health Organization criteria. In this study, 20 infertile patients with (OAT), 6 normozoospermic men without children and 5 fertile men were included. After washing with 1X PBS, semen samples are spread onto slides, then these slides were stained with aniline blue and examined under light microscope. Light blue sperms were evaluated as protamine rich (histone negative), partial and complete dark blue ones were evaluated as histone rich (histone positive).

Results: Our results have shown a significant association in protamine deficiency between the patients with OAT and fertile controls ($p = 0.000 < 0.001$). However, we have not found a significant relation between normozoospermic men without children and fertile men. In addition, a significant association was shown between sperm motility and protamine deficiency ($P=0.006$). There was no significant relationship among the protamine deficiency, smoking and age.

Conclusion: Our preliminary data has shown a significant association between OAT and fertile groups with respect to protamine deficiency.

PS - 099

**Batı Karadeniz Bölgesinde Düzce Üniversitesi
Araştırma ve Uygulama Hastanesine MODY
diyabeti nedeniyle başvuran hastaların mutasyon
analizi sonuçlarının değerlendirilmesi**

Recep Eröz¹, Mustafa Doğan¹, İlknur Arslanoğlu²,
Hüseyin Yüce¹

¹Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı,
Düzce

²Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı, Düzce

Monogenik diyabet klinik ve genetik açıdan heterojen olup; MODY diyabeti, bebeklikte veya neonatal başlangıçlı diyabeti içerir. Gençlerin erişkin başlangıçlı diyabeti (MODY) monogenik diyabetin en yaygın türüdür. MODY'e neden olduğu bildirilen 13 gendeki mutasyonlar, çalışmamızda yeni nesil dizileme kullanılarak tarandı. NGS için MiSeq platformu kullanıldı. Analiz sonuçlarına göre: 4 hastada (% 10,52) mutasyon tespit edildi ve bunlardan biri yeni bir mutasyon (p.Cys234Gly mutasyonu) idi. Buna ek olarak, 6 hastada, literatürde bir risk faktörü olarak tanımlanan olası bir patojenik varyant vardı (KCNJ11 geninde c.67A>G varyantı). 1 hastada GCK geninde p.Cys234Gly mutasyonu, 1 hastada p.Thr207Met mutasyonu, 1 hastada PAX4 geninde p.Arg133Trp mutasyonu, 1 hastada BLK geninde p.Arg75Trp mutasyonu saptandı.

Evaluation of mutation analysis results of 38 cases who admitted to Duzce University Research and Application Hospital Because of MODY Diabetes in the Western Blacksea Region

Recep Eröz¹, Mustafa Doğan¹, İlknur Arslanoğlu²,
Hüseyin Yüce¹

¹Düzce University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Düzce, Turkey

²Duzce University Medical Faculty, Department of Pediatric Endocrinology, Duzce, Turkey

Monogenic diabetes is clinically and genetically heterogeneous which including maturity onset diabetes of the young, infancy-onset and neonatal diabetes mellitus, Maturity-onset diabetes of the young (MODY) is the most common type of monogenic diabetes. Mutations in 13 genes that already have been reported to cause MODY were screened using by next-generation sequencing(NGS). The MiSeq platform was used for NGS. According to analysis Results: Mutations were detected in 4 patients(10,52%) and one of them is a new mutation (p.Cys234Gly mutation). Additionally 6 patients had a possible pathogenic variant that was identified as a risk factor in the literature(c.67A>G variant in KCNJ11 gene). p.Cys234Gly mutation in GCK gene in 1 patient, p.Thr207Met mutation in GCK gene in 1 patient, p.Arg133Trp mutation in PAX4 gene in 1 patient, p.Arg75Trp mutation in BLK gene in 1 patient were detected.

TCCAGG COTGAA TCCAGG COTGAA
AACGGG AAGGGA AACGGG AAGGGA
AGGTTT AAGGGA AGGTTT AAGGGA
GAGTGA ATTTCAG GAGTGA ATTTCAG
TAAATTA ATTTCAG TAAATTA ATTTCAG
CAGTATATTC CAGTATATTC CAGTATATTC CAGTATATTC
ACACATATTC ACACATATTC ACACATATTC ACACATATTC
GAGTTT GAGTTT GAGTTT GAGTTT
ATAGAGTTG ATAGAGTTG ATAGAGTTG ATAGAGTTG
AAGGTT AAGGTT AAGGTT AAGGTT
AGGTTT AAGGTT AGGTTT AAGGTT
CTGTTA CTGTTA CTGTTA CTGTTA
GAGTGA GAGTGA GAGTGA GAGTGA
GAGTGA GAGTGA GAGTGA GAGTGA

ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK KONGRESİ

26-29 EKİM 2017 ÖLÜDENİZ FETHİYE



HÜCRE BİYOLOJİSİ *CELL BIOLOGY*

PS - 101

PRP'den elde edilen lipid fraksiyonunun yara iyileşme tedavisinde etkisi ve ilişkili genlerin mrna ekspresyon profillerinin değerlendirilmesi

Büşra Özdemir¹, Çilem Ercan¹, Fahri Akbaş¹, Nurten Bahtiyar², Mehmet Can Çakır³, İlhan Onaran³

¹Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

²*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biofizik Ana Bilim Dalı, İstanbul*

³*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Bu çalışmada PRP'nin protein yapılı bileşenlerinden yara bölgesinde bulunan proteaz aktivitesi ile yıkılarak işlevsiz hale geldiği bu sebeple PRP'nin iyileştirici etkisinin protein yapılı bileşenlerinden ziyade lipid yapılı olanların aktivitesi ile gerçekleştiğinin in vivo araştırılması amaçlandı.

Gereç-Yöntem: PRP'den elde edilen lipid fraksiyonunun yara iyileşmesi üzerindeki etkisi makroskopik ve moleküler olarak değerlendirildi. Makroskopik anlamda yara alanlarına bağlı yara kontraksiyon hesaplamaları yapılırken moleküler anlamda ise yara iyileşmesiyle ilişkili olduğunu bildiğimiz 84 tane farklı genin mRNA ekspresyon seviyeleri analiz edildi. Çalışmamızda 20 tane Sprague Dawley türü sıçanların sırt bölgelerinde yaklaşık 1.2 cm çapında dairesel tam kat yaralar oluşturularak 4 grup oluşturuldu. PRP, lipid fraksiyonu, DMSO ve SHAM grublarına ait yaralardan yara iyileşmesinin inflamasyon, proliferasyon ve olgunlaşma evrelerine denk gelen 3, 7. ve 14. günde biyopsi örneği alındı. Alınan biyopsi örneklerinden yararlanılarak PCR array tekniği ile gerçek zamanlı PCR yapıldı ve yara iyileşmesi genlerine ait ekspresyon seviyeleri analiz edildi.

Bulgular: Günlere göre regülasyon gösteren gen sayısı bakımından en fazla sayıda gen regülasyonu proliferasyon evresinde gözlemlendi. PRP ve lipid fraksiyonu tedavi grupları inflamasyon, proliferasyon ve olgunlaşmada benzer regülasyonları gösterse de kat değişimleri açısından PRP daha fazla fark gözlemlendi. Makroskopik değerlendirmelerde lipid fraksiyonu tedavi grubuna ait yaraların PRP'ye göre kapanma hızının daha az olduğu tespit edildi. PRP grubuna ait yara kontraksiyon bulguları T-test ile analiz edildi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Sonuç: PRP tedavi grubu ve lipid fraksiyonu tedavi grubuna ait RT-PCR verileri, moleküler seviyede benzerlik göstermeleri açısından PRP'den elde edilen lipid fraksiyonu, PRP'nin sahip olduğu içeriği ve iyileştirici etkisine sahip olduğu sonucu bulundu.

The effects of lipid fraction obtained from PRP on the wound healing care and to evaluate expression profiles of mrna related genes

Büşra Özdemir¹, Çilem Ercan¹, Fahri Akbaş¹, Nurten Bahtiyar², Mehmet Can Çakır³, İlhan Onaran³

¹Department of Medicine Biology, Medicine Faculty, Bezmialem Vakıf University, Istanbul Turkey

²Department of Biophysics, Cerrahpasa Medicine Faculty, Istanbul University, Istanbul Turkey

³Department of Medicine Biology, Cerrahpasa Medicine Faculty, Istanbul University, Istanbul Turkey

Aim: Protein and lipid structured bioactive biomolecules are components of PRP and they accelerate healing via stimulating wound healing at the molecular level, but during wound healing protein structured components of PRP are being degraded by protease enzymes' activity, therefore healing effect of PRP is going on with lipid structured components of PRP. In this study, to analyze the effects of lipid portion of PRP on the wound healing as macroscopic and molecular level are aimed with 84 different genes related with wound healing.

Materials & Methods: Animal experiments have been completed with 20 Sprague Dawley rats as four different groups with 1.2 diameter circular full thickness wounds were defected on their's back. Groups were PRP, lipid portion, DMSO and SHAM. Then, biopsy samples have been taken from wounds on 3., 7., ve 14. days. After mRNA isolation from biopsy samples and cDNA synthesis from mRNA, real-time PCR, were made to analyse expression levels of genes related with wound healing.

Results & Discussions: The most number of gene expression alterations were seen at proliferation phase. Although PRP and lipid portion treatment groups show similar regulation at the stages of wound healing as inflammation, proliferation and maturation, PRP group's fold changes on some genes were more than lipid portion. According to macroscopic evaluations, rate of wound contraction of lipid portion treatment group's wounds were less than PRP treatment group's wounds. PRP group's wound contraction data were analyzed with T-Test and it was meaningful statistically.

PS - 103

Miyojenik hücrelerde indüklenen mitokondriyal katlanmamış protein cevabının (UPRmt) mitokondri dinamiği ile ilişkisi

Evrin Aksu¹, Beril Talim², Burcu Balcı Hayta¹

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

²Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Pediatrik ve Perinatal Patoloji Ünitesi, Ankara, Türkiye

Amaç: Genetik ve patolojik olarak farklı birçok nöromusküler hastalığın patolojik tablosunda mitokondriyal hasarın kas dejenerasyonuna neden olan faktörlerden biri olduğu saptanmıştır. Mitokondriyal hücre döngüsünden bağımsız olarak gerçekleştirdikleri DNA replikasyonu ve solunum reaksiyonlarının yan ürünü olan ROS birikimi sebebiyle yüksek miktarda strese ve mtDNA hasarına maruz kalmakta ve farklı seviyelerde kalite kontrol mekanizmaları (moleküler, organel ve hücresel seviyede) ile kontrol edilmektedir. Moleküler seviyede bir kalite kontrol mekanizması olan UPRmt, organel yapısında katlanmamış/yanlış katlanmış proteinlerin birikmesi ve mitokondriyal homeostazın bozulması durumunda, mitokondride görevli olan şaperon proteinler ile kalite kontrol proteazların ifade artışlarını gerçekleştiren ve mitokondriden nükleusa uzanan bir sinyal iletim yolağıdır. Mitokondriyal homeostazda saptanmış olan bozukluk ve mitokondriyal strese eşlik eden UPRmt'nin birçok farklı hastalığın patogenezinde etki ettiği bilinmesine rağmen, bu kalite kontrol mekanizmasının organel seviyesinde kalite kontrolün önemli bileşenlerinden olan mitokondriyal füzyon ve fisyon mekanizmaları ile ilişkisi günümüze kadar araştırılmamıştır.

Gereç-Yöntem: Proje çalışmamızda, C2C12 fare miyoblast hücre hattında, mitokondriyal ETZ inhibitörü olan antimisin ile (serumsuz hücre kültür ortamı içine 100 ve 150µM/ 90 dk inkübasyon) UPRmt mekanizmasının uyarıldığı ve kanıtlandığı (Mitotracker Red CMXRos boyaması, MTT analizi, DCFDA boyaması, Hsp60 seviyesi analizi) hücre kültür modeli oluşturulmuştur. UPRmt modelinde mitokondriyal füzyon/fizyon proteinleri Western Blot ve immünfloresan boyama ile analiz edilmiştir.

Bulgular: UPRmt modelinde, kontrole kıyasla mitokondri morfolojisinin değiştiği (küçük/fragmente) gözlenmiş olup, bu hücrelerde mitokondriyal füzyonun azaldığı tespit edilmiştir.

Sonuç: Miyoblast hücrelerinde UPRmt mekanizmasının aktivasyonunun mitokondriyal füzyonda görevli proteinlerinin ifadesinin azalmasına sebep olduğu ve iskelet kasının işlevinin korunmasında temel görevi olan mitokondriyal dinamiğinin bozulmasına bağlı olarak hücresel solunum ve biyoenerjetik işlevlerin etkilendiği sonucuna ulaşılmıştır.

Association between induced mitochondrial unfolded protein response (UPRmt) and mitochondrial dynamics in myogenic cells

Evrin Aksu¹, Beril Talim², Burcu Balcı Hayta¹

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

²Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Pathology Unit, Ankara, Turkey

Objective: Mitochondrial dysfunction/dysmorphology, one of the main causes of muscle degeneration has been recognized in various pathologically and genetically distinct neuromuscular disorders. Mitochondria are exposed to high level of stress and mtDNA damage because of DNA replication independent of cell cycle and accumulation of ROS as a byproduct of respiration and so they are controlled by quality control mechanisms at different levels(molecular, organel, cellular level). UPRmt, a quality control mechanism at molecular level adapts the protein folding capacity of the organelle to the load of unfolded and misfolded proteins in normal physiology and disease states by activating transcription of nuclear-encoded mitochondrial chaperones and quality control proteases. Although UPRmt has been implicated in the pathogenesis of many different kinds of diseases, no study has investigated the relationship between UPRmt and mitochondrial fusion and fission mechanisms as quality control mechanism at organel level yet.

Materials-Methods: UPRmt activation in C2C12 cells was maintained by treating cells with the appropriate non-toxic conditions (100/150 μ M) of antimycin A (AMA), an inhibitor of mitochondrial ETC complex III, in serum-free media at 37°C for 90 minutes and was demonstrated by Mitotracker Red CMXRos staining, MTT analysis, DCFDA staining and analysis of Hsp60 protein level. In UPRmt model, mitochondrial fusion/fission proteins were analyzed by western blot and immunofluorescence staining.

Results: In UPRmt activated C2C12 cells, we observed very small, fragmented mitochondria compared to control cells and decreased level of mitochondrial fusion proteins.

Conclusion: In conclusion, UPRmt activation causes a decrease in mitochondrial fusion which results in mitochondrial dysfunction.

Tübitak tarafından desteklenmiştir. (Proje no:114S876)

PS - 104

Kardiyomiyositlerin kasılma ve tutunma özelliklerinin üç boyutlu protein jellerinde ve kardiyak hücre tabakalarında incelenmesi

Tuğçe Torun¹, Hatice Kibar², Tüba Akgül Çağlar³, Sevilay Şahoğlu Göktaş⁴, Esra Çağavi⁵

¹Tıbbi Biyoloji Programı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Regeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Biyoloji Öğretmenliği Bölümü, Atatürk Eğitim Fakültesi,
Marmara Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

³Sinirbilim Programı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

⁴Mikrobiyoloji Programı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

⁵Tıbbi Biyoloji ABD, Uluslararası Tıp Fakültesi, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Kalp hastalıkları ve neden olabileceği kalp doku hasar ve eksikliklerini iyileştirmeye yönelik terapötik uygulamalar için en uygun rejeneratif seçeneğin belirlenmesi süregelen çalışmalara rağmen halen tartışılmaktadır. Bu nedenle, kardiyomiyositler için fizyolojik ve moleküler en ideal ortamı belirlemek amacıyla kardiyak hücre tabakası (KHT) ve üç boyutlu (3B) kardiyomiyosit kültürleri için mikroskobu, immünohistokimya ve qRT-PCR yöntemleri kullanılarak karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Doğum sonrası 0-4 günlük farelerden disekte edilen kalplerden kollajenaz II enzimi ile kardiyomiyosit hücreleri izole edildi. Kardiyomiyositler, ısıya duyarlı PIPAAm ve/veya fibronektin kaplı petrilere 4-7 gün boyunca kültür edildi. Paralel olarak, kardiyomiyositler kollajen I ve laminin, matrijel veya fibronektin kullanılarak oluşturulan 3B protein jellerine ekildi. Işık mikroskobu ile yapılan morfolojik incelemede, KHT kültürlerinin 3B kültürlerle oranda daha güçlü ve yaygın senkronize atımı gözlemlendi. Oluşturulan 3B matris kombinasyonları arasında, kollajen I ve lamininin kardiyomiyositler için tutunma özelliğinin daha verimli olduğu gözlemlendi. KHT ve 3B hücre kültürleri fikslenerek kardiyak-spesifik Troponin T (cTnT) ve hücreyel bağlantıları gösteren Konneksin 43 (Cx43) ve N-Kadherin (N-Cad) proteinlerine yönelik immün boyaması gerçekleştirildi. Paralel kültürlerden mRNA izole edilerek *cTnT*, *Cx43* ve *N-Cad* gen düzeyleri ölçüldü. KHT'de 3B kardiyomiyosit kültürlerine oranda cTnT, Cx43 ve N-Cad mRNA ve protein düzeyinde gen ekspresyonunda artış gözlemlendi. Verilerimiz, kardiyomiyositlerin KHT'de 3B kültürlerle karşılaştırıldığında hücreler arası bağlantıların daha kuvvetli olduğu ve sinsitium oluşturduğuna işaret etmektedir. Sonuç olarak; 3B hücre kültürlerine göre, KHT'lerin fonksiyonel teröpatik çalışmalar için daha optimal olabileceği düşünülmektedir. KHT'lerin *in vivo* uygulamalarda kullanılmasının yanında doğal ya da sentetik protein bileşenleri ile farklı 3B kardiyomiyosit kültür koşulları fonksiyonel olarak sınanabilir.

Investigation of contractile and adhesive properties of cardiomyocytes in three-dimensional protein gels and cardiac cell sheets

Tuğçe Torun¹, Hatice Kibar², Tüba Akgül Çağlar³, Sevilay Şahoğlu Göktaş⁴, Esra Çağavi⁵

¹Medical Biology Program, Institute of Health Science, Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

²Department of Biology Teacher Education, Atatürk Faculty of Education, Marmara University, Istanbul, Turkey

³Neuroscience Program, Institute of Health Science, Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

⁴Microbiology Program, Institute of Health Science, Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey

⁵Department of Medical Biology, International School of Medicine, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, İstanbul, Turkey

Heart disease continues to cause death worldwide. It is still controversial to select the most suitable regenerative option for basic studies and clinical applications. Therefore, with the aim to determine the optimal adhesive and conductive environment for cardiomyocytes; cardiac cell-sheets (CCS) and three-dimensional (3D) cardiomyocyte cultures were comparatively evaluated by immunocytochemistry and qRT-PCR. First, mouse neonatal hearts were dissected and cardiomyocytes were isolated via Collagenase II treatment. Cardiomyocytes were cultured on temperature-responsive polymer PIPAAm-coated and/or fibronectin-coated dishes for 4-5 days. In parallel, cardiomyocytes were seeded in 3D protein gels containing collagen I and laminin, matrigel or fibronectin. Overall, CCS cultures showed more and stronger synchronously beating cardiomyocytes as well as higher viability compared to 3D cultures. Among 4 matrices, Collagen I in combination with Laminin showed higher adhesive properties for cardiomyocytes. After light microscope observation, both CCS and 3D cultures were immune-stained for Connexin43 (Cx43), N-Cadherin (N-Cad), Cardiac Troponin T (cTnT) proteins and DAPI. From parallel cultures, mRNA was isolated and Cx43, *N-Cad* and cardiac specific gene expressions were measured significantly higher in CCS compared to 3D cultures. This implies cardiomyocytes in CCS demonstrated higher number of cell junctions than 3D cultures. Our observations suggest CCS as a more suitable form to study cardiac function and may be a better therapeutic tool compared to 3D cultures. Constructing 3D scaffolds with synthetic or natural protein components and adjusting pore size may improve functionality.

*TÜBİTAK tarafından 2209-A programı kapsamında
1919B011500282 numaralı proje olarak desteklenmiştir.
This project was funded by TÜBİTAK 2209-A under Project
No: 1919B011500282.*

PS - 106

CHO hücre hattına ait plazma membran proteinlerinin jel tabanlı kütle spektrometrik yaklaşımlar kullanılarak araştırılması: Karşılaştırmalı proteomiks çalışması

Kübra Karaosmanoğlu¹, Gürler Akpınar², Murat Kasap²

¹Kocaeli Üniversitesi Teknoloji Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Kocaeli

²Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD., Kocaeli

Amaç: Hücrelerin biyolojik fonksiyonelliği, hücrel proteomun %30'unu oluşturan plazma membran proteinleri (PMP) tarafından yürütülmektedir. Sahip oldukları öneme rağmen, hidrofobik karakterleri, hücrede görece olarak az miktarda sentezlenmeleri ve plazma membranı (PM) proteomunun dinamik yapısı, PMP'lerin proteomiks yaklaşımlar kullanılarak tanımlanmasını oldukça zorlaştırmaktadır. PMP'leri elde etmedeki zorluklar zenginleştirme metodları arayışına girilmesine yol açmakta ve bu bağlamda ciddi çaba gösterilmektedir.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada CHO hücrelerine ait PMP'leri zenginleştirebilmek için sıcaklığa bağlı faz ayrımı (T-dPP) ve yoğunluk gradyanlı ultrasantrifüjasyon (D-gUC) adı verilen iki farklı izolasyon yöntemi kullanılmıştır. Kullanılan yaklaşımlar PMP tanımlamasının etkinliğini belirlemek için jel tabanlı proteomiks yaklaşımlar ile entegre edilmiştir. MALDI-TOF/TOF'tan elde edilen MS/MS verisi SwissProt veritabanına karşı araştırılmış ve proteinler tanımlanmıştır.

Bulgular: Tanımlanan proteinlerin hücresel lokalizasyonları UniProt databankası kullanılarak belirlenmiştir. T-dPP metodu kullanılarak yapılan izolasyonda tanımlanan proteinlerin %12,5'u PM'na ait proteinler ve %20'si PM ile ilişkili proteinler (PMAPler)dir. D-gUc metodu kullanıldığında tanımlanan PMP'lerinde artış olmuştur (%28,6). Ek olarak, tanımlanan proteinlerden bazıları PMAP'ler (%28,6), bazıları ise endoplazmik reticulum (ER) ve ER membranına ait proteinler olarak tanımlanmıştır (%9,5).

Sonuç: Sonuç olarak, D-gUc metodu membran proteinlerini zenginleştirmede T-dPP metoduna göre daha etkili olmasına rağmen, metodun iyileştirilmesi gerekmektedir.

Investigation of plasma membrane proteins of CHO cells using gel-based mass spectrometric approaches: A comparative proteomic study

Kübra Karaosmanoğlu¹, Gürler Akpınar², Murat Kasap²

¹Kocaeli University Technology Faculty Dept. of Biomedical Engineering, Kocaeli

²Kocaeli University Medical School Dept. of Medical Biology,
Kocaeli

Objective: Biological functionality of the cell is mainly carried out by plasma membrane proteins (PMPs) and these crucial proteins constitute the 30% of the cellular proteome. Despite of their importance, characteristics like hydrophobicity, relative low abundance and the dynamic nature of the plasma membrane (PM) proteome make PMPs extremely difficult to identify via proteomic approaches. Challenges in identifying PMPs have led to the search for enrichment methods and serious efforts have been placed in this context.

Materials-Methods: In this study, two different isolation methods, namely temperature-dependent phase partition (T-dPP) and density-gradient ultracentrifugation (D-gUc) were used to enrich PMPs from Chinese Hamster Ovary (CHO) cells. The approaches were integrated into the gel-based proteomic workflows to assess the efficiency of PMP identification. MS/MS peaks created by MALDI-TOF/TOF was searched against SwissProt database for identification.

Results: Cellular localization of the identified proteins by were determined using UniProt database. When T-dPP method was used 12,5% of the identified proteins were belonged to PM and 20% were PM-associated proteins (PMAPs). When D-gUc method was used, there was an increase in the percentage of PMPs (28.6 %). In addition, some of the identified proteins were PMAPs (28.6%) and some of them belonged to the ER and ER membrane (9.5%).

Conclusion: In conclusion, D-gUc method is more effective in enrichment of PMPs than T-dPP method, although there is still a space for improvement.

113S868 numaralı TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir.

PS - 107

Selenometiyoninin insan periodontal ligament mezenkimal kök hücrelerinde oksidatif stres enzimlerinin mRNA ekspresyonlarına etkisi

Serife Buket Bozkurt¹, İlknur Tuncer Gökdağ², Sema Sezgin Hakkı²

¹Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya

²Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji

Amaç: Selenoproteinlerin oksidatif strese karşı koruyucu etkisinden dolayı, selenyum ile ilgili araştırmalar artmıştır. Oksidatif stres enflamatuvar karakterli periodontal hastalık sürecinde önemli bir rol oynar. Bu çalışmanın amacı seleno-l-metiyonin (s-met)'nin, *Porphyromonas gingivalis* lipopolisakkarit (Pg-LPS)'i ile indüklenen insan mezenkimal periodontal ligament kök hücreleri (iPDL-MKH)'nin oksidatif stres enzimleri olan süperoksiz dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPX) mRNA ekspresyonları üzerine etkisini araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: iPDL-MKH hücreleri ortodontik tedavi amaçlı çekilen premolar dişlerin PDL'sinden izole edildi. Hücreler önce Pg-LPS (1000 ng/ml) ile muamele edildi ve hücrelerin LPS ile uyandırılmasından 8 saat sonra kültür koşullarına s-met (1, 10, 100, 1000 ng/ml) eklendi. Total RNAlar, iPDL-MKH'nden 16, 24 ve 72.saatlerde izole edilerek SOD ve GPX ekspresyonları qPCR kullanılarak incelendi.

Bulgular: Pg-LPS (1000 ng/ml) ve s-met (10 ng/ml and 100 ng/ml) uygulamalarının iPDL-MKH hücrelerinin SOD ve GPX mRNA ekspresyonlarını artırdığı izlendi. S-met'in LPS ile indüklenen iPDL-MKH'nin oksidatif stres enzimlerini belirgin bir şekilde tüm izlem saatlerinde tetiklediği tespit edildi.

Sonuç: Sonuçlar s-met'in, iPDL-MKH'nin LPS ile indüklenmiş oksidatif enzimlerini artırdığını ve bu esansiyel elementin periodontal hastalık tedavisi sürecinde periodontal doku hasarını azaltılabileceğini düşündürmektedir.

Effects of selenomethionin on the mRNA expressions of oxidative stress enzymes in human mesenchymal periodontal ligament stem cells

Şerife Buket Bozkurt¹, İlknur Tuncer Gökdağ², Sema Sezgin Hakkı²

¹University of Selçuk Faculty of Medicine Department of Medical Biochemistry

²University of Selcuk Faculty of Dentistry Department of Periodontology

Objective: Due to the protective effect of selenoproteins on the oxidative stress, selenium related research has increased. Oxidative stress plays an important role in the process of inflammatory mediated periodontal diseases. The aim of this study is to investigate the effects of seleno-L-methionin (s-meth) on the gene expressions of oxidative stress enzymes; superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX) in the *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide (Pg-LPS) induced human periodontal ligament mesenchymal stem cells (hPDL-MSCs).

Materials-Methods: hPDL-MSCs were isolated from PDL from premolar teeth extracted for orthodontic treatments. Cells were first treated with Pg-LPS (1000 ng/ml) and then s-meth (1, 10, 100, 1000 ng/ml) was added to the culture conditions after 8 hrs of LPS induction. Total RNAs were isolated from hPDL-MSCs at 16, 24 and 72 hrs and expressions of SOD and GPX were examined using qPCR.

Results: Pg-LPS (1000 ng/ml) or s-meth (10 ng/ml and 100 ng/ml) increased mRNA expressions of SOD and GPX enzymes in hPDL-MSC. S-meth treatment apparently triggered oxidative stress enzymes of LPS induced hPDL-MSCs at all time points.

Conclusion: These results suggested that s-meth up-regulated LPS induced oxidative stress enzymes of hPDL-MSC and this essential element can be used to reduce periodontal tissue damage during the treatment of periodontal diseases.

PS - 108

Tekrarlayan gebelik kayıpları olan çiftlerde gözlenen translokasyonların on yıllık değerlendirmesi

Şengül Yüksel, Serap Saliha Savacı, Elçin Latife
Kurtoğlu, Selcen Korkmaz

*İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,
Malatya*

Tekrarlayan gebelik kayıplarının önemli nedenlerinden biri ebeveynlerin dengeli translokasyon taşıyıcılığıdır. Dengeli translokasyon taşıyıcıları fenotipik olarak normal, ancak kromozomal olarak dengesiz gamet üretme ve progeni yönünden anlamlı oranda artmış riske sahiptirler. Bu çalışmada, tekrarlayan gebelik kayıpları olan 20-48 yaş aralığındaki çiftlerdeki translokasyon tipleri ve görülme sıklığı araştırılmıştır. Bu amaçla 2007 ve 2017 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'ne refere edilmiş yaklaşık 188 çiftin sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Tüm olgulardan 19'unda (%10.11) translokasyon saptanmıştır. Vakaların 13'ü (%6.91) resiprokal translokasyon taşıyıcısı iken 6'sının (%3.19) Robertsonian tip translokasyon taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar literatür verileri ile uyumluluk göstermektedir. Sonuç olarak, erken tanı ile translokasyon taşıyıcılığının belirlenmesi, çiftlerin yardımcı üreme teknikleri ile sağlıklı gebeliklerinin sağlanması bakımından önem taşımaktadır.

Ten-year evaluation of translocations observed in couples with recurrent pregnancy losses

Şengül Yüksel, Serap Saliha Savacı, Elçin Latife
Kurtoğlu, Selcen Korkmaz

**Inonu University, School of Medicine, Department
of Medical Biology and Genetics, Malatya, Turkey**

One of the important reasons for repetitive pregnancy losses is the balanced translocation of the parents. Balanced translocation carriers are phenotypically normal but chromosomally unbalanced gametes have a significantly increased risk of producing and progeny. In this study, the types of translocations and frequency of recurrence in couples aged 20-48 years with recurrent pregnancy losses were investigated. For this purpose, the results of approximately 188 couples referred to the Inonu University Medical Faculty Genetic Diseases Diagnosis Center between 2007 and 2017 were evaluated retrospectively. In all cases 19 (10.11%) translocations were detected. Thirteen of the cases (6.91%) were recipients of reciprocal translocation, while 6 (3.19%) were Robertsonian translocation carriers. The results obtained are consistent with the literature. In conclusion, determination of translocation carrier with early diagnosis is important for providing couples with assisted reproductive techniques and healthy pregnancies.

PS - 109

Pediyatrik hastalarda sitogenetik sonuçların on yıllık değeri

Şengül Yüksel, Selcen Korkmaz, Serap Saliha Savacı, Elçin Latife Kurtoğlu

*İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,
Malatya*

Kromozomal düzensizlikler kromozoma spesifik gen lokuslarını etkileyebildiği için belirli fenotiplerle ilişkili olabilmektedir. Bu çalışmada, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi, Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'ne, değişik klinik ön tanıları ile başvurmuş olan pediatri hastaları major kromozomal anomaliler yönünden retrospektif değerlendirilmiştir.

On yıllık değerlendirme sonucu toplam 3184 olgunun 354'ünde sayısal (%11.11) ve 50'sinde (%1.57) yapısal olmak üzere toplam 404'ünde (%12.69) kromozom aberasyonu saptanmıştır. En sık gözlenen kromozom anomalileri sırasıyla; 311 vakada trizomi 21 (%9.76), 2 vakada trizomi 13 (%0.06), 5 vakada trizomi 18 (%0.15), 17 vakada 45,XO (%0.53), 19 vakada 47,XXY (0.59), 40 vakada inv(9) (p11q13) (%1.25), 2 vakada inv12(p11.2q15) (%0.06), 4 vakada 45,XX,t(13;14)(0.12), 4 vakada 46,XX,9qh+ (0.12) olarak belirlenmiştir. Pediatrik hastalardan alta yatan etiyolojik faktörü belirlemek açısından sitogenetik analizler büyük önem taşımaktadır.

Ten year evaluation of cytogenetic results in pediatric patients

Şengül Yüksel, Selcen Korkmaz, Serap Saliha Savacı, Elçin Latife Kurtoglu

Inonu University, School of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Malatya, Turkey

Chromosomal aberrations may be associated with certain phenotypes as they may affect chromosome-specific gene loci. In this study, pediatric patients who were admitted to İnönü University Medical Faculty Turgut Özal Medical Center, Genetic Diseases Diagnosis Center with different clinical preliminary diagnoses were evaluated retrospectively for major chromosomal anomalies.

Chromosome aberration was detected in 404 (15.69%) of the 3184 individuals with 10 years of evaluation, 354 of which were numerical (11.11%) and 50 (1.57%) structural. The most common chromosomal anomalies are; In 311 cases, trisomy 21 (9.76%), trisomy 13 in 2 cases (0.06%), trisomy 18 in 5 cases (0.15%), 45 cases in 17 cases, XO (0.53%), 47 cases in 19 cases, 9) (p11q13) (1.25%), inv12 (p11.2q15) (0.06%) in 2 cases, 45, XX, t (13; 14) (0.12) in 4 cases, 46, XX, 9qh + It has been identified.

Cytogenetic analysis is of great importance in determining the underlying etiologic factor in pediatric patients.

PS - 110

Prenatal tanıda kantitatif floresan polimeraz zincir reaksiyonu ile konvansiyonel sitogenetik bulgularının restrospektif değ erlendirmesi

Şengül Yüksel, Elif Yeşilada, Serap Saliha Savacı, Selcen Korkmaz, Gonca Gülbay

*İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD,
Malatya*

Bu çalışmada, 2007- 2017 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi Genetik Tanı merkezinde yapılmış olan amniosentez (AS) ve koryon villus örnekleme (CVS) ile elde edilen sitogenetik analiz sonuçları ile kantitatif floresan polimeraz zincir reaksiyonu (QF-PCR) verileri retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

Merkezeimize yönlendirilen 1002 olguya ait 875 amniyon sıvısı ve 127 koryon villus örneğine ait hücreler kültüre edilerek metafaz plakları oluşturuldu. Kromozomlarda görülen bozukluklar Uluslararası İnsan Sitogenetik İsimlendirme Sisteminde (ISCN) göre isimlendirilerek kaydedildi. Sonuçlar aynı hastaların QF-PCR verileri ile karşılaştırıldı.

Değerlendirmeler sonucunda, AS olgularında %5.94 ve CVS olgularında %25,6 oranında sayısal kromozom anomalisi saptandı. Sıklıkla trizomi 21 (%3.65), trizomi18 (%0.95), trizomi 13 (%0.34) ve gonozomal anomaliler (%1.03) sayısal anomaliler olarak belirlenirken yapısal anomaliler için bu değerler AS için %1.71 ve CVS için %12.12 oldu. Aynı hastaların 5 kromozom için (13,18,21, X ve Y) yapılan QF-PCR sonuçları sitogenetik bulgularla uyumlu bulundu. Kromozom anomalisi saptanan olgularda anomali ile endikasyon ilişkisi değerlendirildiğinde ileri anne yaşı ve patolojik ultrason endikasyonu ile uyumluluk ortaya konuldu. Bulgularımıza göre; kromozom anomali oranının yüksek olması doğum öncesi genetik tanının önemini vurgulamaktadır.

Restrospective evaluation of conventional cytogenetic findings by quantitative fluorescent polymerase chain reaction in prenatal diagnosis

Şengül Yüksel, Elif Yeşilada, Serap Saliha Savacı, Selcen Korkmaz, Gonca Gülbay

Inonu University, School of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Malatya, Turkey

In this study, between 2007 and 2017 in Turgut Özal Medical Center Genetic Diagnosis Center of Inonu University Medical Faculty, cytogenetic analysis results of amniocentesis (AS) and chorionic villus sampling (CVS) and quantitative fluorescence polymerase chain reaction (QF-PCR) data retrospectively performed.

Metaphase areas from 875 amniotic fluid and 127 chorionic villus samples from a total of 1002 cases were evaluated. Anomalies of chromosomes were named according to the International Human Cytogenetic Naming System (ISCN). The results were compared with the QF-PCR data of the same patients.

As a result of the evaluations, numerical chromosome anomalies were detected in 5.92% of AS cases and 25.6% of CVS cases. For structural abnormalities, these values were 1.71% for AS and 12.12% for CVS, while trisomy 21 (3.65%), trisomy 18 (0.95%), trisomy 13 (0.34%) and gonosomal anomalies. QF-PCR results for 5 chromosomes (13,18,21, X and Y) of the same patients were found to be consistent with cytogenetic findings. When anomalies and indications related to chromosomal anomalies were evaluated, compatibility with advanced maternal age and pathological ultrasonography was determined.

According to our findings; emphasizes the importance of prenatal genetic recognition for the high proportion of chromosomal anomalies.

PS - 111

in vitro palmitik asit uygulanan rat pankreatik beta hücrelerinde endoplazmik retikulum - mitokondriyal katlanmamış protein yanıtı

Hasibe Verdi¹, Pınar Baysan Çebi¹, Yaprak Yılmaz Yalçın¹,
Erkan Ermiş³, Tülin Özkan⁴, Sibel Tulgar Kınık¹, Mehtap
Akçil OK², Asuman Sunguroğlu⁴, Fatma Belgin Ataç¹

¹Başkent Üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Ankara

²Baskent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara

³Baskent Üniversitesi Tıp fakültesi Farmakoloji AD, Ankara

⁴Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Ankara

Endoplazmik retikulum (ER) içinde yanlış katlanmış proteinlerin birikmesi, katlanmamış protein yanıtını(KPY) harekete geçirir. KPY, endoplazmik retikulum ilişkili degradasyon (ERAD), otofaji ve mitokondriyal fonksiyonlar ER stres cevabının (ERSC) bileşenleridir. ERSC üyelerinin hassas dengelerini bozan patolojik koşullar, tüm hücrel homeostazı ciddi şekilde etkiler. ER-KPY'da olduğu gibi mitokondriyonun KPY'da mitokondrial şaperonlar ve mitokondriyal peptidazların ifadenmesi rol oynar. Bu iki organel birbiriyle mitokondriyal ilişkili membran noktasında temas halindedir (MiM).

Bu çalışmada palmitik asitin in vitro koşullarda rat pankreatik beta hücrelerinde (INS-1E) mitokondriyel stres cevabını üzerindeki etkisini ve ER-KPY'nın mitokondriyal KPY üzerindeki etkisini araştırdık. Hücrelere farklı saatlerde 0,5mM PA uygulandı. Hücre canlılığı MTT testi ile ölçüldü. ER stres, mitokondriyal stress, Mİm, otofaji ve apoptoz genleri QRT-PCR ile saptandı. Sitosolik CA²⁺ konsantrasyonları ve insülin seviyeleri eliza ile ölçüldü. Apoptoz oluşumu flow sitometri ile otofaji ve ER stres proteinleri western blot ile gösterildi. Hücre canlılığının 24. saatte azaldığı (p < 0.05), otofajinin 12. saatte, apoptozun 24. saatte gerçekleştiği saptandı. Glikozun stimüle ettiği insülin salgılanması ve sitosolik CA²⁺ miktarı zamana bağlı olarak değişim gösterdi (p < 0.05).

PA uygulanan INS-1E hücrelerinde ER-KPY yolu mitokondriyal KPY yolagından önce aktive olmaktadır. Otofaji lipotoksik etkiye karşı hücre hayatta kalımını desteklemektedir. Stres süresi uzadığında hücreler apoptoz ile ölmektedir. MİM strese verilen bu cevapta önemli bir rol oynamaktadır.

Endoplasmic reticulum –mitochondrial unfolded protein response in palmitic acid induced in vitro rat pancreatic beta cells

Hasibe Verdi¹, Pınar Baysan Çebi¹, Yaprak Yılmaz Yalçın¹,
Erkan Ermiş³, Tülin Özkan⁴, Sibel Tulgar Kınık¹, Mehtap
Akçıl Ok², Asuman Sunguroğlu⁴, Fatma Belgin Ataç¹

¹Baskent University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, Ankara

²Baskent University Faculty of Health Sciences Department of Nutrition and Dietetics, Ankara

³Baskent University Faculty of Medicine Department of Pharmacology, Ankara

⁴Ankara University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, Ankara

Accumulation of unfolded/misfolded proteins in endoplasmic reticulum (ER) and mitochondria (MT) play a key role in several disease. MT and ER are tightly coupled both physically and functionally with a special lipid raft called mitochondria-associated ER-membrane (MAM) crucial for Ca^{2+} signalling and metabolic regulation of the cell. Although the impairment of ER-MT interplay was reported as a common mechanism of different neurodegenerative diseases it is a debate for diabetes.

In this study rat pancreatic beta cells (INS-1E) were treated with 0,5mM palmitic acid (PA). After MTT assay expressions of ER,MT stress, MAM, autophagy, apoptotic genes were determined by QRT-PCR. Cytosolic Ca²⁺ concentrations and insulin levels measured by colorimetric methods. Apoptosis induction was monitored by flow-cytometric analysis. Stress and autophagy proteins expression was demonstrated by western blot analysis. Cell viability was reduced at 24 th hour ($p < 0.05$), induction of autophagy was detected at 12th hour and induction of apoptosis detect at 24 th hour. The glucose-stimulated insulin secretion was time dependently decreased in the INS-1E while treating with PA ($p < 0.05$). Depending on the time of the PA application, changes of cytosolic Ca²⁺ concentrations were statistically significant ($p < 0.05$).

In PA-administered INS-1E cells, the ER-UPR pathway is activated prior to MT-UPR pathway. Autophagy supports cell survival against lipotoxic effect. Cells die by apoptosis when the stress period is prolonged. MAM plays an important role against the lipotoxicity.

TÜBİTAK tarafından desteklenmektedir (proje no: 115S554)

PS - 112

İntrauterin ve anne sütüyle beslenme dönemlerinde düşük doz civa maruziyetinin follikülogenez üzerine etkileri

Fatma Kaya Dağıstanlı¹, Merve Anapalı¹, Ayşe Seda Akdemir¹, Gamze Tanrıverdi², Deniz Şahin³, Sabriye Karadenizli³, Nurbay Ateş³

¹*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı*

²*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı*

³Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fiziyoloji Anabilim Dalı

Amaç: Civa (Hg) çevrede yaygın bulunan kalıcı bir ağır metaldir.Civanın anneden fetusa plasenta, yeni doğana ise anne sütü yoluyla geçebildiği bilinmektedir.Ovaryum foliküllerinin büyüme ve gelişmesi, granüloza hücreleri aktif rol alırlar.Memeli yumurta hücreleri zona pellusida (ZP) denilen ince ekstrasellüler bir kılıfla sarılmıştır.ZP, oogenez, fertilizasyon ve implantasyon öncesi gelişim süresince önemli bir rol üstlenir.Bu çalışmanın amacı gebelik ve laktasyon dönemlerinde civaya maruz bırakılan sıçanların yavrularında geç dönemde civanın ovaryum dokusuna etkilerini araştırmaktır.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda 8 gebe sıçan rastgele 2 gruba ayrıldı: kontrol grubuna serum fizyolojik uygulanırken diğer grup gebeliğin ilk gününden itibaren (21 gün) başlayıp laktasyon dönemi boyunca (30 gün) ilk doğ 4.6 µg /kg, diğer günlerde 0,07 µg /kg HgCl₂ olacak şekilde içme suyu ile civa maruziyetine bırakıldı. Çalışmaya dışı yavrular dahil edildi. Postnatal 5. ayda, eter anestezisi altında perfüzyon uygulanarak hayvanlar sakrifiye edildi. Deney sonunda ovaryum dokuları %4'lük paraformaldehit içerisinde alınarak tespit edilip, parafine gömüldü. Doku kesitleri ZP2, ZP3 ve PCNA antikoriarı kullanılarak immünhistokimya yöntemi ile boyandı.

Bulgular: Kontrol grubunda, primer, sekonder ve tersiyer follikül aşamalarında ZP2 ve ZP3 immün işaretleme yoğunluğunun benzer olduğu, civa maruziyetine bırakılan grupta ise anlamlı olarak azaldığı saptandı. Hücre proliferasyon bulguları değerlendirildiğinde; ovaryumda, hem oositin gelişiminde hem de follikülogenezis sürecinde büyüme faktörlerini sentezleyerek ve östrojen üretimini sağlayarak önemli rol oynayan granuloza hücrelerinin düşük doz civaya maruz kaldıklarında mitotik kapasitelerinde önemli bir düşüş meydana geldiği görülmüştür.

Sonuç: Bu sonuçtan yola çıkarak, intrauterin ve postnatal dönemde düşük doz civa maruziyetinin ovaryum follikül gelişiminde ve zona pellusida da yapısal değişikliklerin görülmesine neden olduğu, bunun sonucunda normal follikülogenez ve fertilizasyon sürecinin bozabileceği düşünülmüştür.

Effects of low dose mercury exposure on folliculogenesis during the intrauterin and the sucking periods

Fatma Kaya Dağıstanlı¹, Merve Anapalı¹, Ayşe Seda Akdemir¹, Gamze Tanrıverdi², Deniz Şahin³, Sabriye Karadenizli³, Nurbay Ateş³

¹*Istanbul University, Cerrahpasa Faculty of Medicine,
Department of Medical Biology,*

²*Istanbul University, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology Cerrahpasa*

³Kocaeli University, Faculty of Medicine, Department of Physiology

Objective: The aim of this study is to investigate the effect of mercury on the ovary tissues of late-stage offspring of rats who are exposed to mercury during the intrauterin and the sucking periods.

Materials-Methods: In our study, 8 pregnant rats were randomly divided into 2 groups: The control group was given physiological saline solution and other group was exposed to mercury with drinking water as the first dose was 4.6 µg/kg and 0.07 µg/kg HgCl₂ on other days during intrauterine period and the sucking period. Female offsprings were included in the study. At postnatal 5th month, the animals were sacrificed by perfusion under ether anesthesia. At the end of the experiment, ovary tissues were removed, fixed in 4% paraformaldehyde and embedded in paraffin wax. The tissue sections were stained immunohistochemically with ZP2, ZP3 and PCNA antibodies.

Results: The intensities of ZP2 and ZP3 immunostaining in primary, secondary, and tertiary follicle stages were found to be similar in the control group, and decreased significantly in the group exposed to mercury. When cell proliferation findings are evaluated; Granulosa cells, which play an important role in the ovary both in the development of oocytes and in the folliculogenesis process by synthesizing the growth factors and providing estrogen production, showed significant decrease in mitotic capacities when exposed to low dose of mercury.

Conclusion: This result suggests that low dose mercury exposure during the intrauterin and the sucking periods causes changes in development of ovarian follicle and structure of zona pellucida, resulting in impairment of normal folliculogenesis and fertilization process.

PS - 113

Yenidoğan STZ-diyabetik sıçan karaciğerinde TGF- β ekspresyonu ve rejenerasyon üzerine Vildagliptin'in etkileri

Melek Öztürk¹, Fatma Kaya Dağıstanlı¹, Gamze Argün
Kürüm¹, Ayşe Seda Akdemir¹, Merve Anapalı¹, Gamze
Tanrıverdi²

¹*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı*

²*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı*

Amaç: Tip-2 diyabet ve dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4), kronik karaciğer hastalıklarının ve glikoz intoleransının ortaya çıkmasında önemli rol oynarlar. DPP-4 inhibitörü olan Vildagliptin (VG) plazma glikozu seviyelerini düzenler. Fibrozis gelişiminde TGF- β etkisi olduğu bilinir. Bu çalışmada, yenidoğan STZ-diyabetik (yd2-STZ) sıçanlarda, VG tedavisinin diyabete bağlı karaciğer hasarında fibrozis ve rejenerasyon üzerine olan etkisini araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada Wistar albino sıçanlardan 4 grup oluşturuldu; (1) Kontrol, (2) Yenidoğan diyabetik (yd2-STZ) (doğumdan sonra 2.gün 100mg/kg STZ enjeksiyonu i.p. yapıldı), (3) VG-uygulanan yenidoğan diyabetik grup (yd2-STZ+VG) (VG; 60mg/kg/gün, oral 28 gün), ve (4) Sadece VG uygulaması (VG; 60mg/kg/gün, oral 28 gün). Vücut ağırlıkları ve kan glukoz düzeyleri ölçüldü. Karaciğer doku kesitleri H&E, Masson ve PAS ile boyandı. TGF- β ve PCNA antikorları kullanılarak immünohistokimyasal boyama uygulandı.

Bulgular: Kan glukoz değeri yd2-STZ grubunda diğer gruplara göre yüksek idi, VG uygulaması ile azaldığı saptandı. Diyabetik grupta lenfosit infiltrasyonu ve kolajen artışı ayrıca çoğu hepatositte sitoplazmik vakuolizasyon, ayrıca azalan glikojen ve artmış binükleer morfoloji saptandı. Diyabetik grupta TGF- β ekspresyonu ve fibrosis artmıştı. VG uygulaması ile diyabetik grupta bu dejenerasyon belirtilerinin önemli ölçüde azaldığı saptandı. yd2-STZ grubuna kıyasla yd2-STZ+VG ve VG gruplarında proliferasyon indeksi (PCNA) önemli derecede artmıştı.

Sonuç: Sonuçlarımız DPP-4 inhibitörü olan VG uygulamasının hiperglisemiye ve TGF- β ekspresyonunu azaltarak fibrozisin engellenmesinde rolü olduğu, hepatosit proliferasyonunu uyarak rejenerasyona katkıda bulunduğunu gösterdi.

The effects of Vildagliptin on TGF- β expression and regeneration in liver of neonatal STZ-diabetic rats

Melek Öztürk¹, Fatma Kaya Dağıstanlı¹, Gamze Argün
Kürüm¹, Ayşe Seda Akdemir¹, Merve Anapalı¹, Gamze
Tanrıverdi²

¹*Istanbul University, Cerrahpasa Faculty of Medicine,
Department of Medical Biology*

²*Istanbul University, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology*

Objective: Type-2 diabetes and dipeptidyl-peptidase-4 (DPP-4) are key player in chronic liver diseases and glucose intolerance. Vildagliptin (VG) as a DPP4 inhibitor, regulates plasma glucose levels. TGF- β play a role in development of fibrosis. In this study, we aimed to examine the effects of VG treatment on fibrosis and liver regeneration in neonatal rats after diabetic liver injury.

Materials-Methods: Four groups were performed using Wistar albino rats; (1) control, (2) diabetic (n2-STZ) (STZ: 100mg/kg, injected i.p. second day after birth), (3) VG-treated diabetic (n2-STZ+VG) (VG; 60mg/kg/day, orally during 28 days), and (4) only VG (VG; 60mg/kg/day, orally during 28 days). Body weights and blood glucose levels were measured. The liver tissue sections were stained with H&E, Masson-three-chrome and PAS, also performed immunohistochemistry using TGF- β and PCNA antibodies.

Results: Blood glucose levels significantly increased in n2-STZ groups compared to the other groups but decreased after treatment with VG. In diabetic group, there was lymphocytic infiltration and increased collagen, also cytoplasmic vacuolization, depleted glycogen and increased binuclear morphology in most hepatocytes. TGF-beta expression and fibrosis were prominently increased in the n2-STZ group. After VG treatment in the diabetics all these degenerations were significantly decreased whereas the proliferation (PCNA) index was significantly increased in n2-STZ+VG and only VG groups versus the n2-STZ group.

Conclusion: Our results showed that VG prevents liver degenerations and fibrosis by reducing hyperglycemia and TGF- β expression, contributes to regeneration by stimulating hepatocyte proliferation and in neonatal STZ diabetic rats.

PS - 114

Meme kanserinde pentamidin izetiyonat'ın sitotoksik, genotoksik ve apoptotik etkilerinin araştırılması

Halil Özkol¹, Hakeem Hussein Besoky¹, Gökhan Görgişen¹, İsmail Koyuncu², Yasin Tülüce¹, Zehra Kaya¹

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Van

²Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ş. Urfa

Amaç: Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser tipi olup, ölüme sebebiyet veren kanserler arasında ikinci sırada bulunmaktadır. Pentamidin izetiyonat (PI)' ın apoptozda indüklemesi temeline dayandırılarak, bu çalışmada PI' ın, MCF7 hücre hattı üzerindeki genotoksik, sitotoksik ve apoptotik etkileri incelenmiştir.

Gereç-Yöntem: Bu amaçla PNT1-A ve MCF7 hücre hatları farklı konsantrasyonda PI ile muamele edilmiş olup, bileşiğin MCF7 hücreleri üzerindeki apoptotik, genotoksik ve sitotoksik etkileri tek hücre jel elektroforezi (Comet analizi), akridin-orange boyama ve ELISA teknikleri aracılığı ile saptanmıştır. Bu analizlere ek olarak PI'nın, oksidatif stres üzerindeki etkileri total antioksidan seviyesi (TAS), total oksidan seviyesi (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) hesaplanarak belirlenmiştir.

Bulgular: Çalışmamızın sonuçları, PI'nın MCF7 hücrelerinde DNA hasarına neden olarak hücreleri apoptoza yönlendirdiğini göstermektedir.

Sonuç: Bu nedenle PI kompleksinin meme kanseri hücre hattında apoptozu indüklediği ve gelecek çalışmalar için uygun bir aday olduğu sonucuna varılmıştır.

Investigation of the cytotoxic, genotoxic and apoptotic effects of pentamidine isethionate in breast cancer

Halil Özko¹, Hakeem Hussein Besoky¹, Gökhan
Görgişen¹, İsmail Koyuncu², Yasin Tülüce¹, Zehra Kaya¹

¹Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Van

²Harran University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ş. Urfa

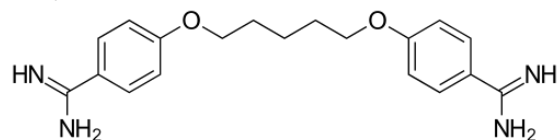
Objective: Breast cancer is the most common types of cancer in women and it's considered to be the second reason of death among other cancers. Based on the potential of Pentamidine Isethionate (PI) for the induction of apoptosis, in this study the cytotoxic, genotoxic and apoptotic activity of Pentamidine Isethionate on MCF-7 cells were examined.

Materials-Methods: For this purpose, PNT1-A and MCF-7 cell lines were treated with various concentrations of PI, and, cytotoxic, genotoxic and apoptotic effects of this substance were determined through single cell gel electrophoresis (comet assay), acridine orange dye test and ELISA techniques. In addition on this analysis, the influences of PI on oxidative stress were defined by measuring total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI).

Results: The results of our study showed that PI lead to DNA damage in MCF-7 cells resulted in apoptosis.

Conclusion: Therefore, it is concluded that PI complex induces apoptosis of breast cell lines and is possible candidate for further studies.

**Pentamidin izetiyonatin kimyasal yapısı (Zsila, 2015).
Chemical structure of pentamidine isethionate (Zsila, 2015).**



PS - 115

İntrauterin ve anne sütüyle beslenme dönemlerinde düşük doz civa maruziyetinin testis dokusu üzerine etkileri

PS - 145

Pristimerin'in meme kanseri hücreleri üzerine *in vitro* ve *in vivo* sitotoksik etkisi

Buse Cevatemre¹, Merve Erkisa¹, Nazlihan Aztopal¹, Didem Karakaş¹, Pınar Alper¹, Chrisiida Tsimploulou², Evangelia Sereti¹, Konstantinos Dimas², Elif I. Ikitimur Armutak³, Ebru Gurel Gurevin⁴, Ayca Uvez³, Mattia Mori⁵, Simone Berardozi⁵, Cinzia Ingallina⁶, Bruno Botta⁶, Engin Ulukaya⁷

¹*Uludağ Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
Bursa*

²Thessaly Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Bölümü,
Larissa, Yunanistan

³*İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Bölümü, İstanbul*

⁴*İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, İstanbul*

⁵Center for Life Nano Science@Sapienza, Istituto Italiano di Tecnologia, viale Regina Elena 291, Roma, Italy

⁶Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco, Sapienza University of Roma, piazzale Aldo Moro 5, Roma, Italy

⁷İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Bölümü, İstanbul

Amaç: Birçok doğal bileşik meme kanseri için etkin ajanlar olarak önerilmiştir ve meme tümörijenезi ve progresyonunda KKH'lerin (Kanser Kök Hücreleri) önemi göz önüne alındığında, pristimerinin, KKH'leri (MCF-7s) ve parental hücre hattı (MCF-7) ve MDA-MB-231 hücreleri üzerindeki etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Pristimerin'in, meme kanseri hücre soyları üzerine sitotoksik etkisi ATP testi ile belirlenmiştir (MCF-7 hücrelerinde ayrı olarak, xCELLigence kullanılmıştır). Hücre ölüm şeklinin belirlenmesi amacıyla; TEM, floresan mikroskopi (Hoechst 33342+propidyum iyodür kullanımıyla, sırasıyla hücre çekirdeği ve membran bütünlüğü; JC-1 yöntemi ile $\Delta\Psi_m$ analiz edilmiştir), western blotlama (otofaji, apoptoz, endoplazmik retikulum stresi ilişkili belirteçlerin analizi) ve akım sitometri (annexin-v boyamasi, kaspaz 3/7 aktivitesi, Bcl-2 ve PI3K ifadelerinin analizi) kullanılmıştır.

Bulgular: Pristimerin, hücre canlılıklarını doza bağlı azaltmıştır. IC50 değerleri MCF-7, MCF-7s ve MDA-MB-231 hücrelerinde sırasıyla, 0.75 μ M, 1.75 μ M ve 0.38 μ M bulunmuştur. Pristimerin, sfer-oluşumunu düşük dozlarda inhibe etmiştir (<1.56 μ M). Hücre ölüm şekli; tedavi sonrası gözlenen piknotik çekirdek varlığı, annexin-v boyanması, kaspaz 3/7 aktivitesi, Bcl-2 defosforilasyonu ve PARP kırılması neticesinde apoptoz olarak belirlenmiştir. Ek olarak, her iki hücrede yoğun sitoplazmik vakuolizasyon gözleendiğinden, otofajik belirteçler (p62 ve LC3-II) incelenmiş ve otofajik akışın engellendiği gözlenmiştir. Ayrıca, apoptotik hücre ölümünün endoplazmik retikulum stresi ve katlanmamış protein yanıtı içerdği saptanmıştır. Son olarak, pristimerin, MCF-7 ve MDA-MB-231 xenograftlarının büyümesini inhibe etmiş ve bu tümörlerde, AKT ifadeleri azalmış; PARP kırılması, PTEN seviyesi, aktif kaspaz 3

ve/veya 7 ve TUNEL boyamalarının artmış olduğu bulunmuştur.

Sonuç: Pristimerin'in, meme kanseri hücrelerinde in vitro ve in vivo büyüme baskılayıcı ve apoptoz uyarıcı etkisi gösterilmiştir. Ayrıca, bulgularımız pristimerinin anti-kanser bir ajan olarak işlev gördüğü bir mekanizma belirlemiştir.

The Cytotoxic effect of pristimerin on breast cancer cells in vitro and in vivo

Buse Cevatemre¹, Merve Erkisa¹, Nazlıhan Aztopal¹,
Didem Karakaş¹, Pınar Alper¹, Chrisiida Tsimplouli²,
Evangelia Sereti², Konstantinos Dimas², Elif I. Ikitimur
Armutak³, Ebru Gurel Gurevin⁴, Ayca Uvez³, Mattia
Mori⁵, Simone Berardozi⁵, Cinzia Ingallina⁵, Bruno
Botta⁶, Engin Ulukaya⁷

¹Uludag University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Bursa

²Thessaly University, Medical Faculty, Department of Pharmacology, Larissa, Greece

³*Istanbul University, Faculty of Veterinary Science, Department of Histology and Embryology, Istanbul*

⁴*Istanbul University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Istanbul*

⁵Center for Life Nano Science@Sapienza, Istituto Italiano di Tecnologia, viale Regina Elena 291, Rome, Italy

⁶Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco, Sapienza University of Rome, piazzale Aldo Moro 5, Rome, Italy

⁷Istinye University, Medical Faculty, Department of Medical Biochemistry, Istanbul

Objective: Several natural products have been suggested as effective agents for the treatment of cancer. Given the important role of CSCs (Cancer Stem Cells) in cancer, which is a trendy hypothesis, it is worth investigating the effects of pristimerin on CSCs as well as on the other malignant cells (MCF-7 and MDA-MB-231) of breast cancer.

Materials-Methods: The anti-growth activity of pristimerin against MCF-7 and MCF-7s (cancer stem cell enriched population) cells was investigated by real time viability monitorization (xCELLigence System®) and ATP assay, respectively. Mode of cell death was evaluated using electron and fluorescence microscopies, western blotting (autophagy, apoptosis and ER-stress related markers) and flow cytometry (annexin-V staining, caspase 3/7 activity, BCL-2 and PI3K expressions).

Results: Pristimerin showed an anti-growth effect on cancer cells and cancer stem cells with IC50 values ranging at 0.38 - 1.75 μM . It inhibited sphere formation at relatively lower doses ($< 1.56 \mu\text{M}$). Apoptosis was induced in MCF-7 and MCF-7s cells. In addition, extensive cytoplasmic vacuolation was observed, implying an incompleated autophagy as evidenced by the increase of autophagy-related proteins (P62 and LC3-II) with an unfolded protein response (UPR). Pristimerin inhibited the growth of MCF-7 and MDA-MB-231-originated xenografts in NOD.CB17-Prkdcscid/J mice. In

mice, apoptosis was further confirmed by cleavage of PARP, activation of caspase 3 and/or 7 and TUNEL staining.

Conclusion: Taken together, pristimerin shows cytotoxic activity on breast cancer both in vitro and in vivo. It seems to represent a reboust promising agent for the treatment of breast cancer.

değerlendirilmesi ile desteklenebilir. Çalışmamızın bu aşaması bir ön çalışma niteliğinde olup, projemizin geriye kalan kısmında Bcl-2, Bik, Bid gibi intrinsik yolak ilişkili diğer genlerin ekspresyon seviyeleri de değerlendirilecektir.

The effect of oxidative stress on apoptosis and cell proliferation

Hasret Ecevit¹, Meral Urhan Küçük¹, Haluk Uluca², Duygu Tap², Abdullah Arpacı³

¹Mustafa Kemal University, Medical Faculty, Department of Medical Biology, Hatay, Turkey

²Mustafa Kemal University, Health Sciences Institute,
Department of Molecular Biochemistry and Genetics, Hatay,
Turkey

³Mustafa Kemal University, Medical Faculty, Department of Biochemistry, Hatay, Turkey

Oxidative stress is known to be associated with many diseases. There are studies showing that increased ROS production causes mitochondrial dysfunction and consequently induces apoptosis pathway. However, there isn't enough study that evaluates the gene expression levels of the parameters of these pathways (intrinsic / extrinsic) together to find out the related pathway of apoptosis with increased ROS. The aim of this study is to evaluate the effect of oxidative stress on apoptosis in BEAS-2B cells and in which pathway the effects are performed.

In our study, BEAS-2B cells were exposed to different dose of (0-500 μ M) hydrogen peroxide (H_2O_2) and cell viability was evaluated with MTT assay. Confirmation of the oxidative damaged cell model was determined by the spectrophotometric measurement of malondialdehyde (MDA) and catalase (CAT). (MDA 250 μ M $p < 0.01$, 300 μ M $p < 0.001$; CAT $p < 0.05$). Caspase-3, caspase-8, caspase-9 and p53 gene expression levels were evaluated.

In our study caspase-3 and caspase-9 levels were found to be higher in exposure group (caspase-3 250 μM $p < 0.01$, 300 μM $p < 0.05$; caspase-9 250 μM $p < 0.05$, 300 μM $p < 0.01$). There wasn't any significant difference for caspase-8 and p53. Our results suggest that increased levels of ROS stimulate the apoptotic pathway through the intrinsic pathway. However, this hypothesis can be supported by the assessment of expression levels of different genes associated with the intrinsic pathway. Therefore, this stage of our study is a preliminary study and the expression levels of other intrinsic pathway-related genes will be evaluated in the remainder of our project.

Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından 16745 no'lu proje olarak desteklenmektedir.

PS - 146

Oksidatif stresin apoptozis ve hücre proliferasyonu üzerine olan etkisi

Hasret Ecevit¹, Meral Urhan Küçük¹, Haluk Uluca², Duygu Tap², Abdullah Arpacı³

¹Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Hatay, Türkiye

²Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyokimya ve Genetik AD, Hatay, Türkiye

³Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya AD, Hatay, Türkiye

Oksidan moleküller ile antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması sonucu meydana gelen oksidatif stres; kanser, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Artmış ROS üretiminin mitokondriyal disfonksiyona sebep olduğu ve bunun neticesinde apoptozis yolağını uyardığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak, ROS'un apoptozisi hangi yolak üzerinden (intrinsik/ ekstrinsik) uyardığı ile ilgili bu yollara ait parametrelerin gen ekspresyon düzeylerinin bir arada değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmadaki amacımız, oksidatif stresin BEAS-2B hücrelerinde apoptozisi nasıl etkilediğini ve etkililerini hangi yolak üzerinden (intrinsik/ ekstrinsik) gerçekleştirdiğini değerlendirmektir.

Çalışmamızda, oksidatif stresli hücre modeli oluşturmak için, BEAS-2B hücreleri farklı dozlarda (0-500 μM) hidrojen peroksit (H₂O₂) maruz bırakılarak, MTT yöntemiyle hücre canlılığı değerlendirildi. Modelin oluşturulduğu, oksidatif stres parametrelerinden malondialdehit (MDA) ve katalaz (CAT) düzeylerinin spektrofotometrik olarak ölçümü ile belirlendi. (MDA 250 μM $p<0.01$, 300 μM $p<0.001$; CAT $p<0.05$). Daha sonra apoptotik parametreler olan cas-3, cas-8 ve cas-9 ile hücre döngüsü ve apoptozis yollarında kavşak rol oynayan p53 gen ekspresyon seviyeleri değerlendirildi. Çalışmamızda, cas-3 ve cas-9 gen ekspresyon seviyeleri, maruziyet grubunda yüksek bulundu (cas-3 geni için, 250 μM dozda $p<0.01$, 300 μM dozda $p<0.05$; cas-9 geni için 250 μM dozda $p<0.05$, 300 μM dozda $p<0.01$). cas-8 ve p53 gen ekspresyon değerlendirmesinde ise anlamlı bir fark gözlenmedi. Sonuçlarımız artan ROS seviyesinin, apoptotik yolu intrinsik yol üzerinden uyardığını düşündürmektedir. Ancak bu hipotez, intrinsik yolak ilişkili farklı genlerin de ekspresyon seviyelerinin

PS - 147

Dasatinib ile muamele edilen K562 hücrelerinde AURK A ve AURK B gen ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi

Sezgi Kıpçak, Buket Özel, Cumhur Gündüz, Nur Selvi
Günel

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Amaç: Kronik miyeloid lösemi (KML), 9. ve 22. kromozom arasındaki resiprokal translokasyon ile karakterize edilen kronik bir kan hastalığıdır. Gerçekleşen translokasyon sonucu yapısal tirozin kinaz aktivitesini kodlayan bir kimerik gen oluşur ve BCR-ABL füzyon proteini kodlanır. Hastalar genellikle tirozin kinaz inhibitörleri (TKI) ile tedavi edilmektedir. Dasatinib, Bcr-Abl'nin inhibisyonu için kullanılan ikinci kuşak tirozin kinaz inhibitörüdür. Mitotik katastrofi, hatalı mitoz sırasında veya hemen sonrasında ortaya çıkan bir hücre ölümü tipidir. Aurora kinaz ailesi genlerine(AURKA ve AURKB) ait proteinlerin, mitoz sırasında kromozom diziliminde, ayrışmasında ve sitokinezde önemli işlevleri vardır. Ayrıca BCR-ABL1 aktivasyonu AURKA ve AURKB genlerinin ekspresyonunu indükler ve bu moleküllerin inhibisyonu mitotik katastrofi ile ilişkilendirilir. Amacımız, dasatinibin KML hücrelerinde mitotik katastrofiye katkıda bulunup bulunmadığını değerlendirmektir.

Gereç-Yöntem: Dasatinib'in K562 hücre dizisi üzerindeki sitotoksik etkisi, WST-1 analizi ile değerlendirilmiştir. Dasatinib'in K562 hücre dizisinde AURKA ve AURKB genlerinin mRNA ekspresyonları üzerindeki etkisi ise qRT-PCR ile belirlenmiştir.

Bulgular: K562 hücre hattındaki Dasatinib'in IC_{50} değeri 4.6 nM olarak belirlenmiştir. Dasatinib'in IC_{50} değeri ile 48 saatlik muamele sonrasında, K562 hücrelerinin mitotik katastrof ile ilgili AURKA ve AURKB genlerinin ekspresyon seviyelerinin kontrol grubu ile kıyaslandığında sırasıyla 2.1 ve 2.3 kat azaldığı belirlenmiştir.

Sonuç: Dasatinib'in K562 hücrelerinin apoptoz indüksiyonunda etkili olduğu gibi mitotik katastrofide da etkili olabileceğini saptadık. Bu nedenle Dasatinib'in Aurora kinaz inhibitörleri ile birlikte kullanılmasının klinik yarar sağlayacağını düşünmekteyiz.

Determination of AURK A and AURK B expression levels in dasatinib-treated K562 cells

Sezgi Kıpçak, Buket Özel, Cumhur Gündüz, Nur Selvi
Günel

Ege University, Medical School, Department of Medical Biology

Objective: Chronic myeloid leukemia (CML) is a chronic blood disorder characterized by a reciprocal translocation between chromosomes 9 and 22; leading to the creation of a chimeric gene encoding BCR-ABL fusion protein with a constitutive tyrosine kinase activity. Patients generally treated by tyrosine kinase inhibitors (TKIs). Dasatinib is the second-generation tyrosine kinase inhibitor that is used for inhibition of Bcr-Abl.

Mitotic catastrophe is the type of cell death that occurs during or immediately after an erroneous mitosis. Aurora kinases (AURKA and AURKB) have important function in chromosome alignment, segregation and cytokinesis during mitosis. In addition BCR-ABL1 activation induces AURKA and AURKB expression and inhibition of these molecules are associated with mitotic catastrophe. Our aim is to evaluate whether dasatinib contributes mitotic catastrophism on CML cells. Materials-Methods: The cytotoxic effect of Dasatinib on K562 cell line was assessed by WST-1 assay. The effect of Dasatinib on gene expression levels of AURKA and AURKB in K562 was determined by quantitative RT-PCR relatively.

Results: The IC₅₀ value of the Dasatinib in K562 cell line evaluated 4.6 nM. After the 48 hours treatment with IC₅₀ value of the Dasatinib, expression levels of mitotic catastrophe related AURKA and AURKB genes were downregulated 2.1 and 2.3 fold in K562 cells, respectively.

Conclusion: We have found that Dasatinib may be effective in mitotic catastrophe as K562 cells are effective in induction of apoptosis. Therefore, we believe that the use of dasatinib in combination with Aurora kinase inhibitors will be of clinical benefit.

PS - 148

Deneysel diyabetik nefropatide quercetin'in renoprotektif etkisi: antiapoptotik ve antioksidan etkilerinin değerlendirilmesi

Matem Tunçdemir¹, Eda Büyükçolpan Mirzataş¹, Hafize Uzun²

¹*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

²*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Güçlü bir biyoflavonoid olan quercetin'in insan sağlığı üzerinde birçok faydalı etkisi olduğu bildirilmiştir (1,2,3). Çalışmamızda quercetin'in sıçanlarda diyabetin neden olduğu böbrek hasarının ilerlemesine katkıda bulunan apoptoz düzenleyici genlerin ekspresyonunu değerlendirerek, renoprotektif ve anti-apoptotik etkilerini araştırdık.

Gereç-Yöntem: 32 adet Wistar albino sıçan 8 gruba ayrıldı; Kontrol, STZ diyabetik (50 mg/kg, ip., tek doz), STZ diyabetik (50 mg/kg, ip., tek doz)+Quercetin (20 mg/kg/gün,% 4 etanol ile seyreltilmiş, 30 gün), ve Quercetin kontrol grubu (20 mg/kg/gün). Açlık kan glukozu, vücut ağırlığı ve idrar mikroalbüminüri değerleri ölçüldü. Böbrek doku kesitlerinin morfolojik olarak değerlendirilmesi için PAS boyaması, bax, bcl-2, kaspaz-3 antikorları kullanılarak immünohistokimyasal boyama ve apoptoz tespiti için TUNEL yöntemi yapıldı. Böbrek dokularında İleri Oksidasyon Protein Ürünleri (AOPP), Protein Karbonil Oksidasyon (PCO), Malondialdehit (MDA) ve Süperoksit Dismutaz (SOD) aktivitesi ölçüldü.

Bulgular: Çalışmanın sonunda, kan glukozu ve mikroalbuminüri düzeyleri diyabetik grupla karşılaştırıldığında, quercetin uygulanan diyabetik grupta anlamlı olarak azalmış olarak saptandı. Quercetin uygulanan diyabetik grupta MDA, AOPP ve PCO düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı ancak SOD aktivitesinin arttığı tespit edildi. Bcl-2, bax ve kaspaz-3 immünboymasının diyabetik grupla karşılaştırıldığında azalmış olduğu gözlemlendi. Apoptotik hücreler özellikle diyabetik gruptaki böbrek tübüllerinde artmış olarak gözlenirken quercetin uygulanan diyabetik grupta belirgin bir azalma gözlemlendi.

Sonuç: Bulgularımız deneysel diyabetik nefropatide quercetin uygulamasının böbrek doku hasarını önleme ve apoptoz ile ilişkili proteinlerin ekspresyonunu azaltmada etkili ve yararlı olduğunu göstermektedir.

Renoprotective potential of quercetin in experimental diabetic nephropathy: assessing the antiapoptotic and antioxidant effects

Matem Tunçdemir¹, Eda Büyükçolpan Mirzataş¹, Hafize Uzun²

¹Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey

²Department of Medical Biochemistry, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey

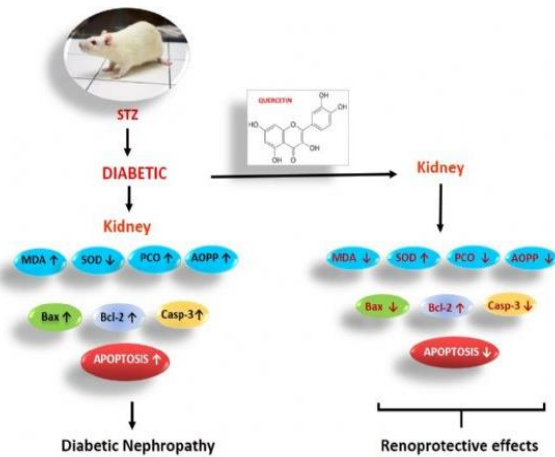
Objective: Quercetin, a potent bioflavonoid, has been reported to have many beneficial effects on human health(1,2,3). We investigated the renoprotective and anti-apoptotic effects of quercetin by evaluating the expression of apoptosis-regulatory genes that contribute to the kidney damage caused by diabetes in rats.

Materials-Methods: 32 Wistar albino rats were divided into 4 groups of 8 each; Control, STZ-diabetic (50mg/kg,ip,single dose), STZ-diabetic (50mg/kg,ip.,single dose) + Quercetin (20 mg/kg/day, diluted in 4% ethanol,30 days) and Quercetin control group(20mg/kg/day). The values of fasting blood glucose, body weight and urine microalbuminuria measured. Immunohistochemistry was performed for morphological evaluation of the renal tissue sections by PAS staining and using bax,bcl-2,caspase-3 antibodies and TUNEL method applied. Advanced Oxidation Protein Products (AOPP), protein carbonyl oxidation(PCO), malondialdehyde(MDA) and superoxide dismutase(SOD) activity will be measured in homogenized renal tissues.

Results: At the end of study, blood glucose and microalbuminuria levels were significantly decreased in quercetin treated diabetic group compared to the untreated diabetic group. The MDA,AOPP and PCO levels were significantly decreased, however SOD activity were found to increase in quercetin-treated diabetic group. Immunostaining of bcl-2, bax and caspase-3 was decreased compared to the untreated diabetic group. Apoptotic cells especially increased in the kidney tubuli of untreated diabetic group and on the contrary, a significant decrease was observed in the group that received a quercetin treatment.

Conclusion: Overall our results show that treatments of quercetin are effective and efficient in preventing renal tissue injury and reducing the expression of apoptosis related proteins in experimental diabetic nephropathy.

Resim / Figure:



Sıçanlardaki diyabetik nefropatide quercetin'in koruyucu etkileri.

Protective effects of quercetin on diabetic nephropathy in rats.

Bulgular: Zeolit doz bağımlı olarak Beclin-1 ve BCL-2 protein seviyelerini düşürmüştür. Zeolit bu deneyse modelde LC3B protein seviyelerini değiştirmemiştir. **Sonuç:** Sonuçlar oksidatif stres altında Zeolitın otofajiyi inhibe ettiğini göstermektedir. Aynı zamanda BCL-2 proteinlerindeki değişiklik Zeolitın apoptozu da etkileyebileceğini düşündürmektedir.

An investigation of effects of zeolite in oxidative stress induced with H₂O₂ on autophagy and apoptosis in Thp-1 cell line

Günnur Demircan¹, Ata Onur Kepenek², Şule Beyhan
Özdaş¹, Demet Akın²

¹*Istanbul Bilim University, Faculty of Medicine, Basic Sciences Division, Department of Medical Biology and Genetics, Istanbul, Turkey*

²Bahcesehir University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Istanbul, Turkey

PS - 149

H2O2 ile oluşturulan oksidatif stres koşullarında zeolit'in Thp-1 hücre soyunda otofaji ve apoptoz üzerine etkisinin araştırılması

Günnur Demircan¹, Ata Onur Kepenek², Şule Beyhan
Özdaş¹, Demet Akın²

¹*İstanbul Bilim Üniversitesi, Tıp fakültesi, Temel Bilimler, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

²Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amacı: Klinoptilolit (Zeolit) volkanik hidrate mikro porlu doğal kil kristalleridir. Tıbbi olarak detoks mekanizmalarında ve küçük molekülleri (oksijen, nitrik oksit) ayrıca iyonları yakalama özellikleriyle bilinmektedir. Bu çalışmadaki amacımız Zeolit'in hücre içi LC3B, Beclin1 ve Bcl-2 protein seviyelerini tespit ederek apoptoz ve otofaji üstüne etkilerini araştırmaktır. Gereç-Yöntem: İnsan lösemi monosit hücreleri (THP-1), ATCC (TIB-202) 'den temin edilmiştir. Monositler artan konsantrasyonlarda Zeolit ile inkübe edilmiştir (10-5, 5x10-5, 10-4, 5x10-4, ve 10-3) ve inkübasyon sonrası oksidatif stres oluşturmak için H2O2 ile 1 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrası protein ekstraksiyonları yapılmış ve western blot yöntemiyle LC3B, Beclin1 ve Bcl-2 protein analizleri yapılmıştır. Elde edilen protein bantları Image J programı ile analiz edilmiş ve Graph Pad Prizm programı ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Objective: Clinoptilolite (Zeolite) is a natural clay mineral which has a structure of vulcanic hydrated micro porous crystal. In the medical area they are involved in detoxification mechanisms capturing ions and molecules (oxygen, nitric oxide) into their holes. Our intention in this research is to investigate the Zeolite's effect on autophagy and apoptosis by the levels of LC3, Beclin1 and Bcl-2.

Materials-Methods: Human monocyte leukemia cells (THP-1) from ATTC (TIB-202) was used in the study. Monocytes were incubated with increasing concentrations of zeolite (10-5, 5x10-5, 10-4, 5x10-4, and 10-3) for 24 hours than incubated with H2O2 for 1 hour to provide oxidative stress conditions. After incubation, protein extracts were made and LC3B, Beclin1 and Bcl-2 protein analyzes were performed by western blot method. For statistics Image J & Graph Pad was used.

Results: In oxidative stress conditions, no correlation was found with zeolite LC3B levels but Dose-dependent decreases in autophagic Beclin1 and apoptotic Bcl-2 protein levels.

Conclusion: When the effect of zeolite on the oxidative stress in cells treated with zeolite at the highest dose and only in H₂O₂ treated cells, There was a statistically significant difference between the two groups ($p < 0.001$). It has been observed that in oxidative stress conditions, zeolitin has an inhibitory effect on apoptosis and autophagy.

PS - 150

İnsan fibroblast primer hücre kültüründe
İsotretinoin'in otofaji üzerine etkisinin
araştırılması

Ata Onur Kepenek¹, Behiye Begüm Önlen¹, Berna Aksoy², Demet Akın¹

¹Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Isotretinoin (13-cis retinoid) akne tedavisinde en sık tercih edilen ilaçlardan biridir. Birçok yolak aracılığıyla yağ bezi hipertrofisi, hiperkeratinizasyon ve inflamasyon gibi süreçleri engeller. Bu yolakların bir kısmı çeşitli çalışmalarda incelenmiş olsa da ilacın otofaji üzerine olan etkisi daha önce hiç incelenmemiştir. Açlıkla ilişkili otofaji, hücre içi LC3B seviyeleriyle ilişkilendirilmektedir. Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda isotretinoinin insan fibroblast primer hücre kültüründe otofaji üzerine olan etkisi incelenmiştir.

Gereç-Yöntem: Çalışmada kullanılan primer insan fibroblast hücreleri deri biyopsilerinden elde edilmiştir. Çalışmada üç deney grubu yer almıştır. Bunlar sırasıyla şu şekildedir: (1) kontrol grubu (DMEM ile beslenmiş fibroblastlar) (2) 1 saat boyunca 200 μ M H₂O₂'ye maruz bırakılmış fibroblastlar (3) 24 saat 10-4 M isotretinoin'e maruz bırakıldıktan sonra 1 saat H₂O₂'ye maruz bırakılan fibroblastlar. Bu aşamadan sonra, protein ekstraksiyonu yapılmıştır. Western blot ve immünitokimya teknikleri ile LC3B protein ekspresyon düzeyleri incelenmiştir.

Bulgular: Oksidatif stres oluşturulduktan sonra LC3B seviyeleri artmıştır. 10-4 M isotretinoine maruz bırakılan hücrelerde ise bu artışın önemli oranda tersine çevrildiği gözlemlenmiştir.

Sonuç: Yapılan ön deney sonuçlarında, isotretinoinin otofajik proteinler ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu sonuçların isotretinoinin insan fibroblastları üzerinde etkilerinin aydınlatılmasına ve yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesine yardımcı olabilmesi öngörülebilir.

The Effects of isotretinoin on autophagy in human fibroblast primer cell culture

Ata Onur Kepenek¹, Behiye Begüm Önlü¹, Berna Aksoy², Demet Akın¹

¹Bahcesehir University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Istanbul, Turkey

²Bahcesehir University, Faculty of Medicine, Department of Dermatology, Istanbul, Turkey

Objective: Isotretinoin (13-cis retinoid) is one of the most used drugs in acne treatment. Through several pathways, the drug interferes with sebaceous gland hypertrophy, hyperkeratinization and inflammation. Although some of these pathways are investigated in previous researches, none of them focused on the effects of isotretinoin on autophagy. Starvation-related autophagy is demonstrated with lysosomal turnover of microtubule-associated protein 1A/1B-light chain (LC3). In this study we investigate possible effect of isotretinoin on autophagy in human fibroblasts primer cell culture.

Materials-Methods: Primary human dermal fibroblasts were obtained from skin biopsy. Three experiment groups were studied including the following (1) control group (fibroblasts only treated with DMEM) (2) fibroblasts treated with 200 μ M H₂O₂ for 1h. (3) fibroblasts treated with 10⁻⁴ M isotretinoin for 24 h then with H₂O₂ for 1 h. After these processes, proteins were extracted and LC3B protein expression levels were evaluated by western blot and immunocytochemistry.

Results: In oxidative stress conditions, we observed elevated LC3B levels. By contrast, the elevation was reversed with 10⁻⁴ isotretinoin treatment.

Conclusion: According to the results of this preliminary experiment isotretinoin is involved in autophagic processes and this may enlighten the unknown pathway of isotretinoin's effect on human fibroblasts.

PS - 151

Kahve özütlerinin insan umbilikal ven endotel hücre soyunda apoptoz üzerine etkisinin oksidatif stres koşullarında incelenmesi

Demet Akın¹, Esin Arslan¹, Umut Diremsizoglu¹, Şule Beyhan Özdaş², Günnur Demircan²

¹Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²*İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

Amaç: Kafeik asit, klorojenik asit, p-kumarik asit, izoferulik asit hidroksisinamik asit grubundan; trigonellin niasinin metilasyonundan elde edilen, kafein is metilksantin grubundan organik bileşenlerdir. Bu bileşenler özellikle kahvede olmak üzere doğada yaygın olarak bulunur. Önceki çalışmalarda kahve özütlerinin anti inflamatuvar, antioksidatif ve kanser hücrelerinin bölünmesini önleyici etkisi gösterilmiştir. Ancak, bu bileşenlerin endotel hücreleri üzerinde apoptaza etkisi gösterilmemiştir. Bu deneyde kahve özütlerinin apoptoza etkisi araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: Çalışmada ATCC'den alınan insan Umbilikal Ven Endotel Hücreleri(CRL-1730) kullanılmıştır. Deney 7 grup içerir. (1) sadece DMEM uygulanan hücreler (2) 1 saat 200 μ M H₂O₂ de bekletilen hücreler (3-7) her kahve özütünün artan konsantrasyonları. Hücreler 24 saat her bir kahve özütünde bekletildi. Sonrasında 200 μ M H₂O₂ de 1 saat inkübe edildi. Kahve özütlerinin hücre canlılığı üzerine etkisi MTT ile değerlendirildi. Elde edilen proteinlerin BCL-2 ekspresyon düzeyleri Western Blot ve immünsitokimyasal yöntemler ile ölçüldü. Veriler ImageJ programı ile densitometrik olarak analiz edildi. İstatistiksel analiz için GraphPad Prism programı kullanıldı.

Bulgular: Oksidatif stres şartlarında BCL-2 protein düzeylerinde azalma saptandı. Kafeinde 5X10-4, 2,5X10-4, 10-4 konsantrasyonlarında, Kafeik asitte 5X10-5 konsantrasyonunda, klorojenik asitte 5X10-4 konsantrasyonunda BCL-2 düzeyinde azalma ölçüldü. İzofeulik asit grubunda doz bağımlı BCL-2 düzeyi azalması saptandı. Trigonellin ve P-kumarik asit gruplarında için BCL-2 düzeyi üzerinde anlamlı bir etki saptanmadı.

Sonuç: Bu çalışmalar kahve özütlerinin anti-apoptotik süreçte etkili olduğunu göstermiştir. Kahve özütlerinin endotel hücrelerinde saptanan hasar önleyici etki aterosklerozda koruyucu etkisi olduğunu düşündürebilir.

Evaluation of coffee extracts on apoptosis in human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) in oxidative stress conditions

Demet Akın¹, Esin Arslan¹, Umut Diremsizoglu¹, Şule Beyhan Özdaş², Günnur Demircan²

¹Bahcesehir University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Istanbul, Turkey

²*Istanbul Bilim University Medical Faculty, Medical Biology and Genetics, Istanbul, Turkey*

Objective: Caffeic acid, chlorogenic acid, p-coumaric acid, isoferulic acid are organic compounds which are classified as hydroxycinnamic acid. Whereas, trigonelline is an alkaloid formed by methylation of niacin (vit. B3) and caffeine is from the methylxanthine class. These compounds are found abundantly in nature, especially in coffee. Previous researches have demonstrated that coffee extracts may play an important role as anti-inflammatory, antioxidant and cancer cell anti-proliferative effect. However, there is no study about their effect on apoptosis in HUVEC. In this study possible effects of coffee extracts on apoptosis were investigated in HUVEC.

MaterialsMethods: Human Umbilical Vein Endothelial Cell from ATCC (CRL-1730) was used in the study.Seven experiment groups were used including the following:(1)cells treated only with medium (DMEM),(2)cells treated with 200 μ M H2O2 for 1 hour, groups 3,7 are increasing concentrations of each coffee extract.Cells were treated for 24h in each coffee extract. After 24h, cells were incubated in 200 μ M H2O2 for 1 hour.Effects of coffee extracts on cell viability were evaluated by MTT.BCL-2 protein expression levels were measured by western blot and immunocytochemistry. Obtained data were analyzed by ImageJ program. GraphPad Prism program was used for statistical analysis.

Results: Decreased protein levels(BCL-2)in oxidative stress conditions were found.Decreased BCL-2protein levels were measured in 5X10-4,2,5X10-4,10-4concentrations of caffeine, 5X10-5concentration of caffeic acid, 5X10-4concentration of chlorogenic acid.Constant decrease in BCL-2 levels suggested a dose dependent effect in isoferulic acid group.No significant decrease in BCL-2levels was detected trigonelline and P-coumaric acid groups.

Conclusion: Our preliminary studies showed that various coffee extracts are involved in apoptotic process. This effect of coffee extracts on endothelial cell damage may suggest a protective effect towards atherosclerosis.

PS - 152

Trigonellinin insan monositleri üzerindeki apoptotik ve antiotofajik etkilerinin araştırılması

Demet Akın¹, Selim Can Berk¹, Yusuf Şener¹, Şule Beyhan
Özdaş², Günnur Demircan²

¹Bahçeşehir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²*İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul*

Amaç: N-metilnikotinik asit (C7H7NO2), daha iyi bilinen adıyla trigonellin(TRG), kahvenin ana birleşenlerinden biridir ve B6 vitamininin bitkilerde bulunan alkaloid türevidir. TRG'nin antihiperglisemik, antihiperlipidemik, antioksidan aktiviteleri olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda TRG'nin hepatosellüler karsinom, kolorektal kanser ve diyabet üzerindeki etkisi hakkında çalışmalar yapılmıştır. Ancak, TRG'nin monositlerde apoptoz ve otofaji üzerindeki etkisi hakkında herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, trigonellinin insan monositleri üzerindeki otofaji ve apoptoz ile ilgili olası etkileri incelenmiştir.

Gereç-Yöntem: Çalışmada ATCC'den (TIB-202) alınan insan monosit lösemisi hücreleri (THP-1) kullanıldı. Aşağıdakileri içeren yedi deney grubu değerlendirmeye alındı: (1) Besi yeri(RPMI-1640) ile muamele edilmiş kontrol grubu, (2) 200 μ M H₂O₂ ile 1 saat süreyle muamele edilmiş hücre grubu, (3/4/5/6/7) 24 saat boyunca 10⁻⁵ / 5x10⁻⁵ / 10⁻⁴ / 2,5x10⁻⁴ / 5x10⁻⁴ M TRG ile muamele edilmiş ve daha sonra 1 saat süreyle 200 μ M H₂O₂ ile muamele edilmiş hücre grubu (anti-otofajik ve anti-apoptotik etkilerini test etmek için uygulandı). Son aşamada, Beclin1 ve Bcl-2 protein ekspresyon seviyeleri western blot ile ölçüldü.

Bulgular: TRG'nin, H₂O₂ ile artmış olan beclin1 protein ekspresyon düzeylerini 5x10⁻⁵ ve 2,5x10⁻⁴ dozlarında anlamlı olarak (sırasıyla P:0,0165 ve P:0,0184) azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca TRG'nin, H₂O₂ ile artmış olan Bcl-2 protein ekspresyon düzeylerini verilen tüm dozlarında anlamlı olarak (P:0,0017 ve 0,0410 arasında) azalttığı gözlenmiştir.

Sonuç: Ön deneylerin sonuçları, otofajiye ve apoptoz sürecine katılan trigonellinin etkilerini ortaya koymaktadır. Trigonellinin, monositlerdeki oksitatif stresin önlenmesinde ve tedavisinde potansiyel bir rolü olabileceği saptanmıştır.

Apoptotic and anti-autophagic effects of trigonelline on human monocytes

Demet Akın¹, Selim Can Berk¹, Yusuf Şener¹, Şule Beyhan
Özdaş², Günnur Demircan²

¹Bahcesehir University, Medical Faculty, Department of Pharmacology, Istanbul, Turkey

²*Istanbul Bilim University Medical Faculty, Medical Biology and Genetics, Istanbul*

Objective: N-methylnicotinic acid (C7H7NO2), commonly known as trigonelline (TRG), is one of the main constituents of coffee and is an alkaloid derivative of vitamin B6 in plants. TRG has been reported to have antihyperglycemic, antihyperlipidemic, and antioxidant activities. At the same time studies of TRG on hepatocellular carcinoma, colorectal cancer and the effect on diabetes have been done. However, there is no study of the effect of TRG on apoptosis and autophagy in monocytes. In this study, the possible effects of trigonelline on autophagy and apoptosis on human monocytes were examined.

Materials-Methods: Human monocyte leukemia cells(THP-1)from ATCC (TIB-202) were used in the study. Seven experimental groups were evaluated: (1) the control group treated with the medium (RPMI-1640), (2) the cell group treated with 200 μ M H₂O₂ for 1 hour, (3/4/5/6/7) The cell group treated with 10-5 / 5x10-5 / 10-4 / 2,5x10-4/5x10-4M TRG for 24 hours and then treated with 200 μ M H₂O₂ for 1 hour (anti-autophagic and anti- Apoptotic effects).Finally,Beclin1 and Bcl-2 protein expression levels were measured by western blot.

Results: It was observed that TRG significantly reduced beclin1 protein expression levels increased by H2O2 at doses of 5×10^{-5} and 2.5×10^{-4} (P: 0.0165 and P: 0.0184, respectively). It was also observed that TRG significantly reduced Bcl-2 protein expression levels increased by H2O2 (P: 0.0017 and 0.0410) at all doses given.

Conclusion: The results of preliminary experiments reveal the effects of trigonelline, which is involved in autophagic and apoptotic processes. It has been indicated that trigonelline may have a potential role in the prevention and treatment of oxidative stress in monocytes.

PS - 153

Bulk-fill kompozitlerin fibroblast hücreler üzerindeki sitotoksik etkisinin ICELLigence sistemi ile belirlenmesi

Gürkan Gür¹, Fatma Funda Kaya Demirsoy², Gülbike Demirel¹, Evrin Güneş Altuntaş², Burcu Yener İlçe², Burcu Türkmen², Mehmet Ali Kılıçarslan³

¹Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Bölümü, Ankara, 06500 Türkiye

²Ankara Üniversitesi Sistem Biyoteknolojisi İleri Araştırma Enstitüsü, Ankara, 06100, Türkiye

³Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Klinik Bilimler Bölümü, Ankara, 06500, Türkiye

Amaç: Yeni 10 düşük büzülmeli bulk-fill kompozitin L-929 insan gingival fibroblast hücreleri üzerine olası sitotoksik etkisi gerçek zamanlı hücre analizi yöntemi olan ICeLLigence Sistemi ile değerlendirilmiş ve eş zamanlı olarak restoratif materyallerin biyofilm oluşumuna yatkınlık düzeyleri tespit edilmiştir.

Gereç-Yöntem: Sitotoksik etkinin araştırıldığı denemede ICCELLigence sistemi tercih edilmiştir. Kompozit üzerinde bakteriyal biyofilm üretiminin tespiti için ise 12 kuyucuklu plaka yöntemi uygulanmıştır. Çalışmada daha önce diş yüzeyinden izole edilmiş olan ve biyofilm üretme yeteneğinde olan 8 bakteri ve *Streptococcus mutans* ATCC 25175 kullanılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyon ardından materyaller yıkanmış ve fosfatlanmış tamponlu tuz çözeltisi (PBS) ile seyreltilmiştir. Tutunan bakteri sayısı Tryptic Soy Agar (TSA) besiyeri ile sayılmıştır.

Bulgular: Bu çalışmada, optimum hücre yoğunluğu 300 μ L besiyortamında 2500 hücre olarak gözlenmiş olup, tüm kompozitlerin hücreler üzerinde sitotoksik etkisinin olduğu belirlenmiştir. "GC everx posterior" diğerlerine oranla en fazla sitotoksik etkiye sahip kompozit iken "Filltek Bulk-fill" daha düşük sitotoksik etki sergilemiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre her bir materyale tutunan bakteri sayısı 10^4 - 10^6 kob (koloni oluşturan birim) arasındadır. Materyal yüzeyi 50 mm² olarak hesaplanmış olup, biyofilm oluşum düzeyi $2 \times (10^2$ - $10^4)$ kob/mm² olarak hesaplanmıştır.

Sonuç: Literatüre sağladığı katkının yanı sıra, bu çalışmadan elde edilen sonuçların, klinisyenlerin materyal seçiminde faydalı olacağı düşünülmektedir.

The evaluation of cytotoxic effect of bulk-fill dental composites on fibroblast cells with ICELLigence system

Gürkan Gür¹, Fatma Funda Kaya Demirsoy², Gülbike Demirel¹, Evrin Güneş Altuntaş², Burcu Yener İlçe², Burcu Türkmen², Mehmet Ali Kılıçarslan³

¹Faculty of Dentistry Department of Restorative Dentistry, Ankara University, Ankara, 06500, Turkey

²Ankara University Biotechnology Institute System
Biotechnology Advanced Research Unit, 06100, Ankara-Turkey

³*Faculty of Dentistry Department of Prosthetic Dentistry, Ankara University, Ankara, 06500, Turkey*

Objective: The cytotoxic effect of novel 10 low contraction bulk-fill composites on L-929 fibroblast cells were evaluated with ICCELLigence system which is a real time cell analyse method, and simultaneously the biofilm formation tendency of the restorative material was determined.

Materials-Methods: ICeLLigence system was chosen for the cytotoxic assay. The bacterial biofilm formation on these tested 10 novel composites was determined by 12-well plate technique. Eight bacteria from tooth surfaces previously isolated and the standard strain *Streptococcus mutans* ATCC 25175 were used for this assay. After incubation at the 37°C for 24 hours, the materials were washed, then diluted with phosphate buffered saline (PBS). Finally the microorganisms were counted on Tryptic Soy Agar (Merck) then the microbial adhesions were calculated.

Results: In this study, the optimal cell density was screened as 2500 cells in 300 μ l medium and the results showed that all the composites incorporated to the study had cytotoxic effect on the cells. While the composite “GC evero posterior” was found the most cytotoxic one, “Filltek Bulk-fill” showed the minimal cytotoxic effect on the fibroblast cells. According to the results of this experiment the bacterial counts were determined between 10^4 - 10^6 cfu (colony forming unit) for each bulk-fill material which surface area was approximately 50 mm². So it can be declared that the average of the biofilm formation on the materials was $2 \times (10^2$ - $10^4)$ cfu/mm².

Conclusion: Finally besides the contribution to literature, the results of this study may be beneficial for material selection criteria of the clinicians.

PS - 154

**Yeni flor boron hibrit kompleksinin [L(BF₂)₂]
kolorektal kanser hücre hattı üzerindeki
apoptotik, sitotoksik ve genotoksik etkisi**

Yasin Tülüce¹, Hawro Dlawar Ismael Masseh¹, İsmail Koyuncu², Ahmet Kılıç³, Mustafa Durgun³, Halil Özkol¹

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Van

²Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ş. Urfa

³*Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Ş. Urfa*

Amaç: Kolorektal kanser (CRC), her iki cinsiyette en sık görülen kanser türlerinden biridir; diğer kanserler arasında önde gelen üçüncü ölüm nedeni olarak değerlendirilmiştir. Schiff bazı komplekslerin apoptozu indüklemeye potansiyeline dayanan bu çalışma, HT-29 hücrelerinde yeni florin bor hibrid kompleksinin [L(BF2)2] sitotoksik, genotoksik ve apoptotik aktivitesini incelemeyi amaçlamıştır.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada, HELA, DU-145, PS3, DLD-1, ECC, PNT1-A ve HT-29 olmak üzere yedi farklı hücre dizisinde [L(BF2)2] incelendi ve kompleksin, HT-29 hücreleri üzerinde güçlü bir baskılayıcı etkiye sahip olduğu bulundu. Buna bağlı olarak daha sonra [L(BF2)2]'nin insan kolorektal adenokarsinoma hücre dizisi üzerindeki apoptotik, sitotoksik ve genotoksik özellikleri araştırıldı. Bunun için de Tek hücreli jel elektroforez testi (comet testi), DNA fragmentasyon laddering, DNA hasarı için akridin orange testi ve apoptotik ölçüm için ELISA gibi standart apoptotik ve sitotoksik testleri [L(BF2)2] farklı konsantrasyonlarda HT-29'un üzerinde uygulanmıştır. Ayrıca toplam antioksidan durum (TAS) ve toplam oksidan durum (TOS) değerlendirilerek oksidatif statü ölçülmüştür. Oksidatif stres indeksi (OSI) de ayrıca hesaplanmıştır.

Bulgular: Mevcut çalışma, [L(BF2)2]'nin HT-29 hücrelerinde etkisini özellikle DNA'larına yapmış olduğu hasarla ortaya çıkarmış ve apoptozise yol açan bir dizi reaksiyona neden olduğunu bulmuştur.

Sonuç: Sonuçlar, [L(BF2)2] kompleksinin kolon kanseri hücrelerinin apoptozunu indükleyebildiğini ve gelecekteki kanser çalışmalarında potansiyel bir aday olduğunu ortaya koymaktadır.

The apoptotic, cytotoxic and genotoxic effect of novel fluorine boron hybrid complex [L(BF₂)₂] on colorectal cancer cell line

Yasin Tülüce¹, Hawro Dlawar Ismael Masseh¹, ismail Koyuncu², Ahmet Kılıç³, Mustafa Durgun³, Halil Özko¹

¹*Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Van*

²Harran University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ş. Urfa

³Harran University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Chemistry Ş.Urfa

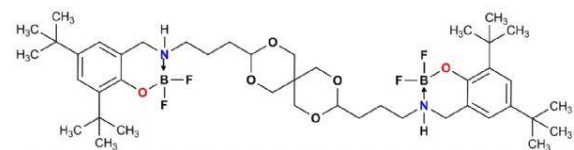
Objective: Colorectal cancer (CRC) is one of the most common types of cancer in both sexes; it considered to be the third leading death factor among other cancers. Based on the potential of Schiff based complexes for the initiation of apoptosis, this study meant to examine the cytotoxic, genotoxic and apoptotic activity of a novel fluorine boron hybrid complex [L(BF₂)₂] on HT-29 cells.

Materials-Methods: In this study [L(BF2)2] was examined in seven different cell lines, HELA, DU-145, PS3, DLD-1, ECC, PNT1-A and HT-29, and complex applied was found to have a potent suppressive effect on HT-29 cells. Based on this data, later investigated its apoptotic, cytotoxic, and genotoxic properties on human colorectal adenocarcinoma cell line HT-29 in different concentrations, by using standard apoptotic and cytotoxic tests such as single cell gel electrophoresis assay (comet assay), DNA fragmentation laddering, acridine orange test for DNA damage, and ELISA for apoptotic measuring. We also measured the oxidative status by evaluating total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS). Oxidative stress index (OSI) was calculated too.

Results: The present study has found a tremendous effect of [L(BF2)2] on HT29 cells, particularly with damage to cancer cells' DNA, and consequently caused a series of reactions leading to apoptosis.

Conclusion: The results suggest that the [L(BF2)2] complex is able to induce the apoptosis of colorectal cancer cells and is a possible candidate for future cancer studies.

**Yeni florin boron hibrid kompleksi [L(BF₂)₂]
Novel fluorine boron hybrid complex [L(BF₂)₂]**



[L(BF₂)₂]'nin moleküler yapısı
Molecular structure of [L(BF₂)₂]

PS - 155

Albino sıçanlarda ultraviyole a ile indüklenmiş deri hasarı modelinde kafeik asit fenetil ester ve erdosteinin antiapoptotik, antigenotoksik ve antioksidan etkilerinin araştırılması

Halil Özkol¹, Esmâ Zeren², Yasin Tülüce¹, Murat Çetin Rağbetli³, Hatice Uce Özkol⁴, İsmail Koyuncu⁵, Necat Koyun²

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Van

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Anatomi Anabilim Dalı, Van

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Van

⁴Yüzüncü Yıl Üniversitesi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dermatoloji
Anabilim Dalı, Van

⁵*Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Anatomi Anabilim Dalı, Şanlıurfa*

Amaç: Bu çalışmada, sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan Ultraviyole A (UVA) hasarına karşı kafeik asit fenetil ester (CAPE) ve erdostein (ERD)'in tedavi etkinliği ilk kez araştırıldı. Bu amaçla hayvanların düzenli traş edilmiş dorsal deri dokusunda oksidatif stres, genotoksisite ve apoptoz stereolojik inceleme ile birlikte belirlenerek araştırıldı.

Gereç-Yöntem: Herbiri 6 Wistar türü albino erkek sıçandan oluşan toplam 4 grup oluşturuldu. Bu gruplar kontrol (K), UVA, UVA+ERD ve UVA+CAPE olarak adlandırıldı. UVA, UVA+ERD ve UVA+CAPE gruplarındaki hayvanlar 30 gün boyunca günde 2 saat süreyle UVA ışınına maruz bırakıldı. UVA+ERD grubundaki hayvanlara her UVA uygulamasından 30 dk önce 10 mg/kg ERD oral yolla, UVA+CAPE grubundaki hayvanlara ise 10 µmol/kg CAPE intraperitonol yolla uygulandı. Bütün hayvanlar 30. günde sakrifiye edildi.

Bulgular: UVA grubunun TOS seviyesi bütün gruplar arasında en yüksekti. TAS seviyesinin düşüşü özellikle UVA+CAPE grubunda önlenmiştir. OSI değeri UVA grubunda K grubuna göre anlamlı olarak artmış ancak UVA+ERD ve UVA+CAPE gruplarında ise UVA grubuna göre anlamlı olarak düşmüştür. Apoptoz yönünden, K grubunda DNA kırığının az olduğu UVA hasarı oluşturulan gruplarda ise DNA kırıklarının arttığı görülmüştür. ERD ve CAPE uygulamaları DNA kırıklarını belirli bir dereceye kadar azaltmıştır. UVA grubuna ait comet assay analiz sonucu (genotoksisite değeri), K grubuna göre anlamlı derecede yüksek ancak UVA+ERD ve UVA+CAPE gruplarına göre ise anlamlı düzeyde düşük görülmüştür. Stereoloji (hacim fraksiyonu) sonuçları değerlendirildiğinde UVA grubunda, K grubuna göre dramatik bir artış olduğu görülmüştür.

Sonuç: Bu çalışma ERD ve CAPE'nin UVA hasarını önlemede faydalı olabildiğini ortaya çıkarmıştır.

Investigation on the antiapoptotic, antigenotoxic and antioxidant effects of erdosteine and caffeic acid phenethyl ester in ultraviolet a-induced skin damage model of albino rats

Halil Özkol¹, Esmâ Zeren², Yasin Tülüce¹, Murat Çetin Rağbetli³, Hatice Uce Özkol⁴, İsmail Koyuncu⁵, Necat Koyun²

¹Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Van

²Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Medical Anatomy, Van

³Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Medical Histology and Embryology, Van

⁴Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Dermatology, Van

⁵Harran University, Faculty of Medicine, Department of Medical Anatomy, Sanliurfa

Objective: In this study, treatment effectiveness of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and erdostein (ERD) were researched against experimentally formed UVB damage for the first time. For this purpose oxidative stress, genotoxicity and apoptosis were investigated together with stereological examination in regularly shaved dorsal skin tissue of rats.

Materials-Methods: Four equal groups of rats (n=6) were constituted. Control (C), UVA, UVA+ERD and UVA+CAPE. The animals of UVA, UVA+ERD and UVA+CAPE groups were exposed to UVA radiation for 2 hours once a day during 30 days. ERD was orally and CAPE was intraperitoneally given to animals at a dose of 10 mg/kg and 10 μ mol/kg respectively 30 min before each UVA application. All animals were sacrificed on the 30th day.

Results: TOS level of UVA group was the highest among all groups. Decrease of TAS was protected in especially UVA+CAPE group. OSI value significantly increased in UVA group compared to C but markedly decreased in UVA+ERD and UVA+CAPE groups compared to UVA. With regard to apoptosis, less DNA fracture was seen in C group compared with groups in which UVA was administered. Treatment of ERD and CAPE decreased somewhat DNA fracture. Comet assay analyze result (genotoxicity value) of UVA group was significantly higher than C but this result was markedly lower in UVA+ERD and UVA+CAPE groups. When results of stereological values (volume fraction) were compared, dramatical increment was seen in UVA group compared to C.

Conclusion: This study revealed that ERD and CAPE could be beneficial in protection of UVA damage

PS - 156

Albino sıçanların ultraviyole b ile indüklenmiş deri hasarı modelinde arı sütünün antiapoptotik, antigenotoksik ve antioksidan etkilerinin araştırılması

Halil Özko¹, Burcu Zorer², Yasin Tülüce¹, Murat Çetin
Rağbetli², Hatice Uce Özko³, İsmail Koyuncu⁴

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Van

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Van

³Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı, Van

⁴*Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa*

Amaç: Bu çalışmada, sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan UVB hasarına karşı arı sütünün (AS)'nin farklı dozlardaki tedavi etkinliği literatüre göre ilk kez incelendi. Bu amaçla hayvanların düzenli traş edilmiş dorsal deri dokusunda oksidatif stres, genotoksisite ve apoptoz stereolojik inceleme ile birlikte belirlenerek araştırıldı.

Gereç-Yöntem: Herbiri 6 Wistar türü albino erkek sıçandan oluşan 5 grup oluşturuldu. Bu gruplar (1)Kontrol=K, (2)UVB, (3)AS150, (4)UVB+AS100 ve (5)UVB+AS200 olarak isimlendirildi. 2, 4 ve 5. gruptaki hayvanlar 30 gün boyunca günde 2 saat süreyle UVB ışınına maruz bırakıldı. 3,4 ve 5. gruptaki hayvanlara ise bu sürede gün aşırı olarak sırasıyla 150, 100 ve 200 mg/kg AS verildi.

Bulgular: AS verilen gruplarda (özellikle 3 ve 5. gruplar) UVB grubuna göre total oksidan statü (TOS) seviyesinde ve oksidatif stres indeksi (OSI) değerinde anlamlı derecede düşüşler, total antioksidan statü (TAS) seviyesinde (özellikle 3. grup) artışlar saptandı. Apoptoz yönünden, 1 ve 3. gruplardaki DNA fragmentlerinin, UVB uygulanan gruplardakilere (2, 4 ve 5.grup) göre daha az olduğu görülmüştür. Ayrıca 4 ve 5.gruplardaki kırıkların ise hiç AS verilmemiş 2.gruba göre azaldığı tesbit edilmiştir. UVB grubuna ait comet assay analiz değeri (genotoksosite değeri) diğer bütün gruplara göre anlamlı derecede yüksekti. Bu analizin sonucu AS'nin uygulandığı bütün gruplarda çarpıcı şekilde düşmüştür. Stereoloji değerleri (hacim fraksiyonu) bakımından gruplar karşılaştırıldığında 2. grupta 1'e göre dramatik bir artış görülmüştür.

Sonuç: Bu çalışma, AS'nün UVB hasarına karşı faydalı olabildiğini ortaya çıkarmıştır.

Investigation on the antiapoptotic, antigenotoxic and antioxidant effects of royal jelly in ultraviolet b-induced skin damage model of albino rats

Halil Özkol¹, Burcu Zorer², Yasin Tülüce¹, Murat Çetin
Rağbetli², Hatice Uce Özkol³, İsmail Koyuncu⁴

¹Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Van

²Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Medical Histology and Embryology, Van

³Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Dermatology, Van

⁴*Harran University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Sanliurfa*

Objective: In this study, treatment effectiveness of royal jelly (RJ) in different doses were researched against experimentally formed UVB damage. For this purpose oxidative stress, genotoxicity and apoptosis were investigated together with stereological examination in regularly shaved dorsal skin tissue of rats.

Materials-Methods: Five equal groups of male rats (n=6) were constituted. These groups were (1)Control (C), (2)UVB, (3)RJ150, (4)UVB+RJ100 and UVB+RJ200. Animals of groups 2, 4 and 5 were exposed to UVB radiation for 2 hours once a day during 30 days. RJ was given to rats of groups 3,4 and 5 at doses of 150, 100 and 200 mg/kg respectively every other day during foregning time.

Results: In RJ treated groups (especially in groups 3 and 5), significant decreases of total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI) and increase of total antioxidant status (TAS) (particularly in group 3) were determined. With regard to apoptosis, less DNA fracture was observed in groups 1 and 3 comparing to groups in which UVB was administrated (groups 2, 4 and 5). Moreover, decrease of DNA fracture was determined in groups 4 and 5 compared to group 2 where no RJ treatment was performed. Comet assay analyze value (genotoxicity value) of UVB was significantly higher than all other groups. This value decreased markedly in RJ administrated groups. When stereological values (volume fraction) of groups were compared, a dramatical increment was seen in group 2 compared to group 1.

Conclusion: This study revealed that RJ could be beneficial against UVB damage.

İMMÜNOBİYOLOJİ
IMMUNOBIOLOGY

PS - 157

TNFR1 tirozin fosforilasyonu TNF- α -indüklü Stat3 aktivasyonunu farklı şekillerde düzenlemektedir

Fatma Zehra Hapil, Fatma Ece Copuroglu, Osman Nida
Ozes

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik
Anabilim Dalı

Stat3, birçok farklı kanser tipinde aktivasyonu gösterilmiş bir onkogen olup, farklı sitokinler, interferonlar ya da büyüme faktörleri tarafından aktive edilebilmektedir. Stat3 aktivasyonuna yol açan sitokinlerden biri de TNF- α olduğu halde, TNFR1 reseptörü aracılığıyla gerçekleşen bu aktivasyonun mekanizması bilinmemektedir. Stat3'ün, transkripsiyon faktörü görevi görmesi için dimerizasyonu, dimerizasyonu içinse Y705 noktasından fosforilasyonu elzemdir. TNFR1, JAK2 ve c-Src tirozin kinazlarla fiziksel etkileşim kurabilmekte ve bu kinazlar tarafından fosforile edilmektedir. Bu fosforilasyonlar, TNFR1 ile SH2 bölgesi barındıran proteinler arasında fiziksel bağlantı oluşmasına imkan tanımaktadır. Bu nedenle biz de, TNFR1'in tirozin fosforilasyonunun TNFR1 ve Stat3 arasında fiziksel etkileşim sağlayabileceğini ve bu fiziksel etkileşimin Stat3 Y705 fosforilasyonunu düzenleyebileceğini öngördük.

TNFR1'in tirozin fosforilasyon noktaları olan Y360 ve Y401 aminoasitlerinin fosforilasyonu taklit eden aspartik asit(D) ve fosforilasyonu engelleyen alanin(A) mutantları ile transfekte ettiğimiz 293T hücrelerinden, ektopik ekspresyonu sağlatılan TNFR1 reseptörlerini His-probe antikoru ile çöktürüp, Stat3 antikoru ile western blot gerçekleştirdiğimizde, yabani tip TNFR1'in 30 dakika TNF- α muamelesinden sonra Stat3 ile fiziksel etkileşime girdiğini, Y401D mutantında ise TNF- α muamelesi yapılmaksızın çok yüksek Stat3 bağlantısı oluştuğunu gözlemledik. TNF- α muamelesi sonrasında ise, Stat3-TNFR1Y401D bağlantısı zayıflamaktaydı. Öte yandan, Y360D mutantında zayıflamış, Y360A mutantında ise kuvvetlenmiş Stat3 bağlantısı söz konusuydu. TNFR1 mutantları ile transfekte hücrelerde Stat3 aktivasyon seviyelerini incelediğimizde, beklediğimiz aksine, Y401 fosforilasyonunun Stat3 aktivasyonunu engelleyici, Y360 fosforilasyonunun ise Stat3 aktivasyonunu artırıcı etki gösterdiğini belirledik. Öte yandan, her iki tirozin fosforilasyonunun birden taklit edildiği Y360D/Y401D mutantında, Stat3 tirozin fosforilasyonu ciddi bir şekilde baskılanmaktaydı. Dolayısıyla, TNFR1 ve Stat3 arasındaki fiziksel etkileşim TNFR1'in Y401'den fosforilasyonu ile sağlanmakta, Y360'dan fosforilasyonu ile engellenmekte ve TNFR1-Stat3 bağlanması, Stat3 aktivasyonu ile değil, Stat3 tirozin fosforilasyonunun engellenmesi ile sonuçlanmaktadır. Bu durum, TNFR1'in tirozin fosforilasyonu sonucu SOCS proteinlerinin de bölgeye çekiliyor olmasından kaynaklanabilir.

TNFR1 tyrosine phosphorylation differentially regulates TNF- α -Induced Stat3 activation

Fatma Zehra Hapil, Fatma Ece Copuroglu, Osman Nidai Ozes

Akdeniz University School of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics

Stat3 is an oncogenic transcription factor which can be activated by different cytokines, interferones or growth factors. One of those cytokines activating Stat3 is TNF- α , however, the exact mechanism of TNF-mediated Stat3 activation is not exactly unveiled. To function as a transcription factor, Stat3 should be dimerized, and Y705 phosphorylation is prerequisite for this dimerization. As TNFR1 can interact and become phosphorylated by JAK2 and c-Src tyrosine kinases, we proposed that tyrosine phosphorylated TNFR1 could provide a docking site for Stat3, and this interaction between Stat3 and TNFR1 could regulate Stat3 Y705 phosphorylation. To test this hypothesis, on TNFR1 gene cloned into pcDNA3.1a plasmid backbone, we substituted Y360 and Y401 residues with phosphorylation-mimicking aspartate(D) and unphosphorylatable alanine(A) aminoacids. To study TNFR1-Stat3 interaction, we transfected 293T cells with these mutant TNFR1 vectors, immunoprecipitated ectopically expressed receptors with His-probe antibody and western blot labeled for Stat3. We observed that wild type TNFR1 interacted with Stat3 following 30min treatment with TNF- α . Y401D mutant strongly interacted with Stat3 without a need for TNF- α treatment. Y360D mutant had diminished, while Y360A mutant had enforced binding capacity for Stat3. Intriguingly, when we investigated Stat3 Y705 phosphorylation levels in 293T cells transfected with TNFR1 mutants, we observed decreased and increased Stat3 tyrosine phosphorylation in Y401D and Y360D mutants, respectively. Therefore, tyrosine phosphorylation of TNFR1 at Y401 mediates but Y360 inhibits the physical interaction of receptor with Stat3. Surprisingly, this physical interaction leads to decreased tyrosine phosphorylation, thus decreased activation of Stat3. This unexpected situation may be due to recruitment of SH2 domain-bearing SOCS proteins to TNFR1 signalosome following tyrosine phosphorylation.

SBAG113s335 proje numarası ile Tübitak tarafından desteklenmiştir.

PS - 160

Makrofaj İnhibitor Faktör gen varyantı (MIF-173C*) / rs755622) sağlıklı yaşlılık için biyobelirteç olabilir mi?

Rüştü Oğuz¹, Yeliz Öğret², Kürşat Özdiilli³, Mustafa Pehlivan⁴, Fatma Savran Oğuz², Filiz Aydın¹, Sacide Pehlivan²

¹Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik
Anabilim Dalı, İstanbul

²*Istanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, İstanbul*

³Medipol Hastanesi, Pediatrik Hematoloji Ünitesi, İstanbul

⁴Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı,
Gaziantep

Makrofaj inhibitör Faktör doğal immünitenin önemli bir düzenleyicisidir. Genin promotor bölgesinde yer alan rs755622 nolu SNP (MIF-173C*)'nin protein miktarının artışına neden olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmanın amacı bu fonksiyonel SNP'nin sağlıklı yaşlanma ile ilişkisini olup-olmadığını araştırmaktır. Aynı zamanda, elde edilen sonuçların fonksiyonel biyoinformatik yardımcı olan Haploreg4 ve rVarBase tabanlarında araştırılarak sonuçların karşılaştırılmasıdır. Populasyonumuzdaki yaş ortalamaları TÜİK verilerine göre değerlendirildikten sonra, 123 birey içeren (20-46 yaş.ort.:43 /cinsiyet: 55K, 68E) sağlıklı genç kontrol grubu ile 245 sağlıklı yaşlı (65-102 yaş.ort.:83.5 /cinsiyet: 98E, 147K) kendi içinde gruplandırılarak çalışmaya alınmıştır. Bu varyanta ait genotiplerin analizi PCR-RFLP yöntemi ile yapılarak gruplar karşılaştırılmıştır. Artan MIF protein miktarı ile ilişkili olan CC genotipi ve C allel sıklığı yaşlılarda özellikle 90 yaş ve üstü; anlamlı oranda yüksektir (p: 0.009 ve 0.001, sırasıyla). Ancak, cinsiyete bağlı bir fark yoktur. Bu varyant rVarBase tabanında araştırıldığında; Kromatin yapısında (Aktif TSS – Flanking, aktif TSS – ZNF gen ve tekrarları), ilişkili düzenleyici elementlerle (TF bağlanma bölgesi-CpG adası-Kromatin bölgesi ve lncRNA varlığı) ve 19 hedef gen ile etkileşimde olduğu görülmüştür. Haploreg4 tabanında araştırıldığında; Avrupa ve Asya populasyonu ile genotip ve allel sonuçlarımız benzerlik gösterirken Afrika populasyonundan farklı dağılım oranının olduğu gösterilmiş ve özellikle 24 dokuda promotor histon markırı - 27 proteinle ilişkili olabileceği görülmüştür.

Sonuç olarak, MIF (-173C*) varyantı ve sağlıklı yaşlılık ilişkisi bu çalışma ile literatürde ilk kez araştırılmıştır ve 90 yaş üstü grupta sağlıklı yaşam kalitesinin dört kat artışı ile ilişkili bu varyantın sağlıklı yaşlılık için bir biyobelirteç olabileceği gösterilmiştir.

Could macrophage inhibitory factor gene variant (MIF-173C*) / rs755622) be an biomarker for healthy longevity?

Rüştü Oğuz¹, Yeliz Öğret², Kürşat Özdilli³, Mustafa Pehlivan⁴, Fatma Savran Oğuz², Filiz Aydın¹, Sacide Pehlivan²

¹Bilim University Medical School, Department of Medical Biology and Genetic, İstanbul

²*Istanbul University Medical Faculty of Istanbul, Department of Medical Biology, Istanbul*

³Medipol Hospital, Pediatric Hematology Unit, İstanbul

⁴Gaziantep University, Medical Faculty, Department of Hematology, Gaziantep

MIF protein is a regulator of natural immunity. It was reported to cause the protein increase of rs755622 (MIF-173C*) located in promotor region. The aim of the present study was to investigate whether this functional variant was associated with healthy longevity. A total of 123 healthy young individuals (mean age: 43 years, 55F/68M) 245 healthy older people (mean age: 83.5, 98M/147F) were included in the study after classification within their groups after the evaluation of mean age in Turkish population (in accordance with Turkish Statistical Institute). The genotype analysis of this variant was performed using PCR-RFLP method, and the group comparisons were performed. The frequency of CC genotype and C allele were significantly higher particularly between 90 years and above (p : 0.009 and 0.001, respectively). Investigation of this variant in rVarBase; demonstrated an interaction with chromatin structure (Active TSS-Flanking active TSS-ZNF gene and repetitions), with associated regulatory elements (TF attachment region-CpG island-Chromatine region and presence of lncRNA), and 19 target genes. In Haploreg4; although genotype and allele results of Turkish people had similarities with European, and Asian, a different distribution rate was demonstrated with African population.

In conclusion, the association of MIF variant, and healthy longevity was investigated first time in the present study in the literature. It was demonstrated that this variant associated with the 4 folds increased quality of life in the group aged above 90 years might be a biomarker for healthy longevity.

PS - 162

BRCA1/2 mutasyonu taşımayan yüksek riskli Türk meme kanseri ailelerinde P53, CHEK2 ve PTEN genlerinin germline mutasyonlarının tanımlanması

Asef Moballegh¹, Ayşe Esra Manguoğlu¹, Mustafa Özdoğan², Cumhuri Arıcı³

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Antalya, Türkiye

²*Antalya Medstar Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Ana Bilim Dalı, Antalya, Türkiye*

³Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, Antalya, Türkiye

Amaç: Türkiye'de ve dünyada meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen malignansidir. Meme kanserlerinin yaklaşık % 5-% 10'u kalıtsaldır. BRCA1/2 mutasyonları Türk toplumunda kalıtsal meme kanserinin % 10'undan daha azını oluşturmaktadır. Bu sebeple BRCA1/2 dışında meme kanseri yatkınlık genlerinin rolünün incelenmesi gereklidir. Farklı meme kanseri yatkınlık genleri arasında P53, PTEN ve CHEK2 daha ön plana çıkmaktadır.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada, 12 BRCA1/2 mutasyonunu taşımayan ve aile hikayesi güçlü olan 12 meme kanseri hastası seçildi. Genomik DNA, periferal kandan izole edildi. P53 ve PTEN genlerinde hotspot bölgeleri içeren ekzonlar (PTEN için: 2., 3., 5., 6., 7. ve 8. Ekzonları ve P53 için, 4., 5., 6., 7., 8. Ve 9. ekzonları) amplifiye edildi. CHEK2 geninin ise bütün kodlayıcı ekzonları (ekzon 2-ekzon 15) amplifiye edildi.PCR ile amplifiye edilmiş ekzonlar kapılar jel elektroforez ile dizileme cihazı ile dizileri okundu ve mutasyon ya da değişim açısından kontrol edildi.

Bulgular: Çalışmanın sonucunda 12 hastanın tümünde P53 geninde c.215 C>G (p.Pro72Arg) polimorfizminin homozigot olarak varlığı saptanmıştır. 12 olgudan 1 olgunun P53 geninde, 6. ekzonunda c.638G > A (p.Arg213Gln) mutasyonu heterozigot olarak bulunmuştur. Oniki olgunun tümünde PTEN genlerinde c.802-4_802-3delTT delesyonu saptanmıştır. CHEK2 geninde ise bir olguda c.470T (p.I157T) mutasyonu heterozigot olarak bulunmuştur.

Sonuç: sonuç olarak Türk popülasyonunda P53: c.215C>G (p.Pro72Arg) ve c.638G >A (p.Arg213Gln) ve CHEK2: c.470T > C (p.I157T) değişiklikleri, meme kanserin riskini etkileyebilmektedir. Ama bu değişimlerin frekansları, meme kanserinin üzerindeki etkisi ve meme kanserinin riskini ne kadar etkilediğinin bilinebilmesi için daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır.

Identification of the germline mutations of P53, CHEK2 and PTEN genes in non-BRCA1/2 mutation carrier high-risk Turkish breast cancer families

Asef Moballegh¹, Ayşe Esra Manguoğlu¹, Mustafa Özdoğan², Cumhur Arıcı³

¹Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Antalya, Turkey

²*Antalya Medstar Hospital, Department of Medical Oncology, Antalya, Turkey*

³Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Antalya, Turkey

Objective: Breast cancer is the most common malignancy in Turkey and worldwide. Approximately 5-10% of breast cancers are hereditary. In Turkish population BRCA1/2 mutations compose less than 10% of the hereditary breast cancer. For this reason studying the role of breast cancer susceptibility genes, in addition to BRCA1/2 is necessary. Among different breast cancer susceptibility genes P53, PTEN and CHEK2 are more stressed.

Materials-Methods: In this study, 12 non-BRCA1/2 Turkish patients whose pedigrees are strong were chosen. Genomic DNA samples were isolated from peripheral blood. In P53 and PTEN genes, exons contain mutation hotspots that are exons 2, 3, and 5-8 in PTEN gene and exons 4-9 in P53 gene were amplified by PCR. In the case of CHEK2 gene whole coding exons (1-14) were amplified by PCR. All amplified exons were sequenced by capillary gel electrophoresis and screened for any possible mutation.

Results: As a result all of the 12 patients harbor the c.215C>G (p.Pro72Arg) polymorphism in heterozygous state on P53 gene. In 1 out of 12 patients c.638G>A (p.Arg213Gln) mutation in exon 6 of P53 gene was detected as heterozygous. All patients were found to have heterozygous intronic c.802-4_802-3delTT deletion in PTEN gene. Lastly, in one patient c.470T>C (p.I157T) mutation in the CHEK2 gene was detected in heterozygous state.

Conclusion: In conclusion, in Turkish population these mutations may take part in breast cancer predisposition. But specifying their frequency and their amount of influence on breast cancer in Turkish population need more studies including more cases and control group.

PS - 164

Çocukluk çağı akut lösemilerde görülen sitogenetik anomaliler

Süreyya Bozkurt¹, Şule Ünal², Mualla Çetin², Fatma Gümrük²

¹*Istinye Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, Ankara

Amaç: Çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemi (ALL) ve akut myeloid lösemi (AML) hastalarında çeşitli sayısal ve yapısal kromozom anomalileri görülmektedir. Bu çalışmada, pediatrik AML ve ALL hastalarının sahip olduğu sitogenetik anomalilerin belirlenmesi hedeflenmiştir. Sitogenetik analizler, 24 saatlik uyarılmamış kemik iliği kültür hücrelerinin analizi ile yapılırak, 2013 International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN)'e göre karyotipler oluşturulmuştur.

Olgu: Bu çalışmaya 2011 ve 2015 yılları arasında takip edilen 16 ALL ve 10 AML hastası dahil edildi. Yaş aralığı ALL tanılı hastalarda 18-180 ay, AML tanılı hastalarda ise 2-204 ay idi.

Sonuç: ALL tanıılı hastalarda hem sayısal hem de yapısal olmak üzere çeşitli kromozom anomalileri tespit edildi. Sayısal anomalilere sahip karyotipler hiperdiploid'di. Bir hastada 7q delesyonu bulundu. T- ALL'li bir hastada T-hücre ALL'de spesifik olarak görülen t(10;14) tespit edildi. B-ALL'li iki hastada ise sırasıyla t(4;11)(q21;q23) ve kromozom 1 dublikasyonu ile beraber t(8;14)(q24;q32) gözlemlendi. Ayrıca iki hastada az sıklıkla görülen translokasyonlar olan t(7;9)(p15;p22) ve t(12;21)(p13;q21) tespit edildi. Bunların yanında 6q, 9p ve 12p delesyonları, 9p anomalileri, derive 16 ve 14, monozomi 8, 19, 21 ve marker kromozomlar bulundu. 10 AML hastasının 7'si ise kompleks karyotipe sahipti ve bu hastalarda 1q, 22q, 3p, 8q, 4p delesyonları, derive 10, 6, 2, 1, 17, monozomi 14, 22, 19, 7, trizomi 8, 19, 2 ve marker kromozomları tespit edildi. Hastalarda belirlenen sitogenetik anomaliler literatür ile uyumlu bulunmuştur. ALL'li hastalarda tespit ettiğimiz t(7;9)(p15;p22) ve t(1;21)(p13;q21) nadir görülen sitogenetik anomalilerdendir. AML'li bir vakada tespit ettiğimiz t(1;11)(p32;q23) ise oldukça nadir görülen bir anomali olup günümüze kadar yalnızca 36 vakada tespit edilmiştir.

Cytogenetic anomalies in childhood acute leukemia

Süreyya Bozkurt¹, Şule Ünal², Mualla Çetin², Fatma Gümrük²

¹Istinye University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, Istanbul

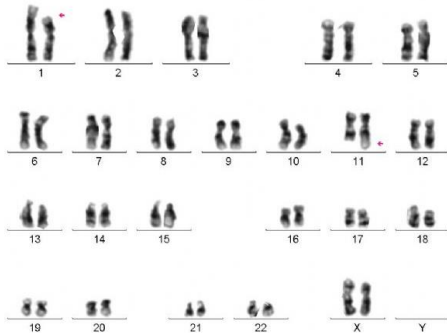
²Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Pediatric Hematology, Ankara

Objective: Childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) and acute myeloid leukemia (AML) patients could have structural and numerical chromosomal abnormalities. In this study we investigated cytogenetic anomalies of pediatric AML and ALL patients. Cytogenetic analysis was performed on metaphase cells from 24-h bone marrow cultures.

Case: 16 ALL patients and 10 AML patients who were diagnosed between 2011 and 2015 were included to this study. Age range was 18-180 months in ALL group and 2-204 months in AML group.

Conclusion: Numerical and structural chromosomal abnormalities were detected in ALL patients. Karyotypes with numerical abnormalities were hyperdiploid. Deletion of 7q was found in one patient. t(10;14) which is specific to T-cell ALL was defined in patient with T-cell derived ALL. In two B-cell derived ALL patients t(4;11)(q21;q23) and t(8;14)(q24;q32) with duplication of chromosome 1 were observed, respectively. Moreover two uncommon translocations including t(7;9)(p15;p22) with deletion of 9p and t(12;21)(p13;q21) were detected in two patients. Besides them deletions of 6q, 9p, and 12p, 9p abnormalities, derive 16 and 14, monosomy 18, 20, 21 and marker chromosomes were also found. 7 of 10 AML patients had complex karyotypes and included deletion of 1q, 22q, 3p, 8q, 4p, derivative 10, 6, 2, 1, 17, monozomi 14, 22, 19, 7, trizomi 8, 19, 2 and marker chromosomes. Cytogenetic anomalies found in patients were concordant with literature. t(12;21)(p13;q21) and t(7;9)(p15;p22) which are rare translocations were found in two ALL patients. In one AML patient we detected t(1;11)(p32;q23) which have been seen in 36 cases to date.

Karyotip görüntüsü
Image of karyotype



46,XX,t(1;11)(p32;q23)[19]/46,XX[1]
46,XX,t(1;11)(p32;q23)[19]/46,XX[1]

PS - 165

t(3;16)(q21;q22) anomalisine sahip Multipl Myelom tanılı hastaya ait olgu sunumu

Müfide Okay¹, Süreyya Bozkurt²

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Hematoloji Bilim Dalı, Ankara

²*İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Multipl Myelom (MM) hastalarında birçok sitogenetik anomali görülebilmektedir. t(3;16)(q21;q22) günümüze kadar MM’da daha önce rapor edilmemiş, tanısal ve prognostik önemi bilinmeyen bir sitogenetik anomalidir.

Olgu: t(3;16)(q21;q22)'ye sahip MM tanısı almış 56 yaşında erkek hastayı sunuyoruz. Sırt ve omuz ağrısı, yürüyememe nedeniyle dış merkeze başvuran hastaya çekilen MR sonucu torakal 1 ve torakal 7 vertebra düzeyinde kiteller saptanmıştır. Sonrasında merkezimize başvuran hasta MM tanısı almıştır. immunohistokimyasal analizler neoplastik hücrelerin CD38, MUM-1 ve kappa pozitif, lambda negatif olduğunu göstermiştir. Hastaya 22 gün radyoterapi verildi. Kemoterapi sonrasında pnömoni tablosuyla servise yatırılan hasta sepsis nedeniyle kaybedildi.

Hastanın kemik iliği örneği 24 saat kültüre edilerek ardından Giemsa-Tripsin (GTG) bantlama yapıldı ve 50 metafaz incelendi. Karyotip; 44,X,-Y,dcl(1)(p13p35),+der(1),t(3;16)(q21;q22),-4,-13,-14,+mar[8]/46,XY[42] olarak bulundu. 50 metafazın 42'sinde 46,XY bulundu. Kompleks karyotip tespit edilen 8 metafazda ise sırasıyla; Y kromozomunun klonal kaybı,1.kromozomun kısa kolunda delesyon, derive 1, t(3;16) (q21;q22), monozomi 4, 13 ve 14 ile bir marker kromozom tespit edildi.

Sonuç: Bu hastada rapor ettiğimiz t(3;16)(q21;q22) araştırdığımız veri tabanlarına göre (<http://atlasgeneticsoncology.org/>)

<http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>)

günümüze kadar sadece 3 erişkin ve bir çocuk vakada rapor edilmiştir. Daha önce rapor edilen vakaların hiçbirisi MM tanılı değildir. Biz bu vakada ilk defa bir MM tanılı hastada t(3;16)(q21;q22) anomalisini rapor etmekteyiz. t(3;16)(q21;q22)'nın prognostik etkisi bilinmemektedir. Vakamızda t(3;16)(q21;q22) progresif hastalık ve kısa hayatta kalım belirteçleri olan, 1p delesyonu ve monozomi 13 ile beraber bulunduğundan, bu translokasyonun direkt prognostik etkisinden söz etmek de vakamızın klinik seyri, taşıdığı kötü prognosis belirteçleri ile uyumlu bir şekilde gelişmiştir. Vakamız t(3;16)(q21;q22) translokasyona sahip ilk MM vakası olması açısından literatüre katkı sağlamaktadır.

Case presentation with Multiple Myeloma patient who have t(3;16)(q21;q22) abnormality

Müfide Okay¹, Süreyya Bozkurt²

¹Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Internal Disease Division of Hematology, Ankara

²Istinye University Faculty of Medicine Department of Basic Oncology, Istanbul

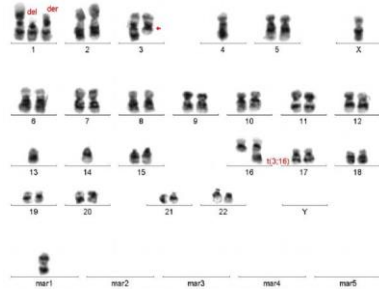
Objective: In Multiple Myeloma patients there are lots of cytogenetic anomalies. t(3;16)(q21;q22) is a cytogenetic anomalies which is not reported to date in Multiple myeloma and is not known about its diagnostic and prognostic significance.

Case: We present 56 years old man patient with MM who have t(3;16)(q21;q22). At the level of thoric 1 and 7 bulks were detected in patients MR. Patint diagnosed as MM in our center. Radiotherapy was given to patient 22 days. Patient died due to severe sepsis. Cytogenetic analysis was performed on metaphase cells derived from 24-h bone marrow cultures and 50 metaphasis were analysed. Karyotype was; 44,X,-Y,del(1)(p13p35),+der(1),t(3;16)(q21;q22),-4,-13,-14,+mar[8]/46,XY[42]. In 8 metaphasis, the clonal loss of Y chromosome, deletion of p arm of chromosome 1, derive 1, t(3;16) (q21;q22), monosomi 4, 13 and 14 and one marker chromosome were detected.

Conclusion: t(3;16)(q21;q22) which we reported in this patient was reported only 3 adult and 1 child case to date according to the database <http://atlasgeneticsoncology.org/> <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman> data base. None of these cases reported before were MM. We reported for the first time t(3;16)(q21;q22) in MM patient. Prognostic effect of t(3;16)(q21;q22) is not known. In our case t(3;16)(q21;q22) existed together with deletion of 1p and monosomy 13 which are biomarker of progressive disease and short survival, for his reason we could not able to explain directly diagnostic effect of this translocation. But clinical course

of the patient was compatible with these unfavourable biomarkers. Our case contribute to the literature as first MM patient which have t(3;16)(q21;q22) translocation.

Karyotip görüntüsü
Image of karyotype



44,X-Y,del(1)(p13p35),+der(1),t(3;16)(q21;q22),-4,-13,-14,+mar[8]/46,XY[42]

PS - 166

Yeni bir sitogenetik anomaliye sahip Multiple myelom tanılı hastaya ait olgu sunumu

Süreyya Bozkurt¹, Müfide Okay²

¹*İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Hematoloji Bilim Dalı, Ankara

Amaç: Multipl myelom (MM) klinik ve genetik heterojeniteye sahip klonal B-hücre hastalığıdır. Hastalarda görülen sitogenetik anomaliler prognostik önem taşımaktadır. Bu sebeple Multipl myelom'da sitogenetik anomalilerin doğru bir şekilde tespit edilmesi, yeni prognostik ve diagnostik belirteçlerin bulunması açısından oldukça önemlidir.

Olgu: 48 yaş erkek hasta, siyah renkte dışkılama nedeniyle hastanemizin acil polikliniğine başvurdu. Hastaya yapılan analizler sonucu multipl myelom teşhisi kondu. Velcade-deksametazon 2.kür kemoterapisinden sonra öksürük ve balgam çıkarma şikayeti ile pnomoni kliniğine yatırılan hasta sepsis tablosunun gelişmesi ile kaybedildi. Hastanın kemik iliği örneği 24 saat kültüre edilerek ardından GTG (Giemsa-Tripsin) bantlama yapıldı. Analiz edilen 20 metafazda da kompleks karyotip tespit edildi. **Karyotip:**46,XY,+dic(1;21)(p11;p11),del(3)(q25q29),del(6)(q24q26),t(11;14)(q13;q32),del(13)(q14q21)[20] idi. Analiz edilen tüm metafazlarda 1 ve 21. kromozomları kapsayan disentrik kromozom, 3, 6 ve 13. kromozomlarda delesyon ile 11 ve 14.kromozomlar arasında translokasyon belirlendi.

Sonuç: Vakamızda, araştırdığımız veri tabanlarına göre (<http://atlasgeneticsoncology.org/> <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>) daha

Önce rapor edilmemiş bir sitogenetik anomali olan $dic(1;21)(p11;p11)$ 'i rapor etmekteyiz. Hastanın taşıdığı diğer anomaliler açısından değerlendirme yapıldığında $t(11;14)(q13;q32)$ prognostik açıdan nötr veya iyi sayılabilecek bir belirteçtir. $del(3)(q)$ ise önemli bir prognostik faktör olup, hastalar kısa hayatta kalım ve kısa remisyonda kalım sürelerine sahiptir. Bir diğer anomali olan $del(6)(q)$ ise MM hastalarının %2-5'i arasında görülmektedir. 1 ve 21.kromozomların dahil olduğu bu disentrik kromozom oluşumu ilk defa bir MM vakasında rapor edilmektedir. Vakamızda bu anomali kompleks karyotip içerisinde yer aldığı ve eşlik eden anomaliler hem iyi hem de kötü prognostik belirteçler olduğu için direkt olarak bu anomalinin prognostik etkisinden bahsetmek zordur. Ancak hastanın klinik tablosuna bakıldığında kötü prognoza sahip bir hastada tespit edildiğini söyleyebiliriz.

Multiple myeloma case with a new cytogenetic abnormality

Süreyya Bozkurt¹, Müfide Okay²

¹*Istinye University Faculty of Medicine Department of Basic Oncology, Istanbul*

²Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Internal Disease Division of Hematology, Ankara

Objective: Multiple myeloma (MM) is a clonal B-cell disease which have clinical and genetic heterogeneity. Cytogenetic anomalies seen in patients have prognostic significance. For this reason, detection of new cytogenetic anomalies accurately in Multiple myeloma is important in terms of finding new prognostic and diagnostic biomarkers.

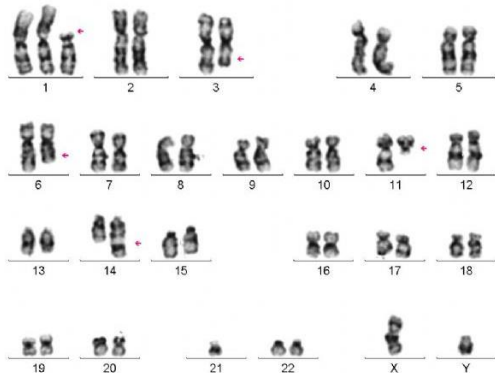
Case: 48 years old man patient consulted to our emergency clinic due to black colour defecation. He was diagnosed as MM. After second cure chemotherapy, patient which was hospitalized to pneumonia clinic because of cough and mucus complaint was died.

Cytogenetic analysis was performed on metaphase cells derived from 24-h unstimulated bone marrow cultures and 20 metaphases were analysed. Karyotype was 46,XY,+dic(1;21)(p11;p11),del(3)(q25q29),del(6)(q24q26),t(1;14)(q13;q32),del(13)(q14q21)[20]. Dicentric chromosome which include 1 and 21, deletion of the q arm of chromosome 3, 6,13 and t(11;14)(q13;q32) were detected In all analysed metaphases.

Conclusion: In this case we report a new cytogenetic anomalies according to <http://atlasgeneticsoncology.org/> and <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman> data base. Patient have also t(11;14)(q13;q32) which is neutral or good prognostic biomarker. Del(13)(q) is a significant prognostic biomarker which patient have short survival and remission time. Del(6)(q) is seen 2-5% in MM patient.

We report dic(1;21)(p11;p11) for the first time which is not reported before in a MM case. Because of this anomaly was presented in complex karyotype with other good and poor prognostic biomarker, we could not interpret about prognostic significance of this new translocatoin directly in this case. But we could say that this new dic(1;21)(p11;p11) was detected in patient with poor prognosis.

Karyotip görüntüsü
Image of karyotype



46,XY,dic(1;21)(p11;p11),del(3)(q25q29),del(6)(q24q26),t(11;14)(q13;q32),del(13)(q14q21)[20]

PS - 167

Glikopeptid bazlı nanopartiküllerin hedefli ilaç taşıma sistemleri olarak kanser tedavisinde etkinliğinin araştırılması

Aydan Dağ¹, Sezen Atasoy², Pinar Sinem Omurtag³

¹Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul

²*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

³*İstanbul Medipol Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Hücre membranının gliko yapısı normal ve kanser hücreleri arasında önemli bir farklılık göstermektedir. Bu farklılık sayesinde antineoplastiklerin kanser hücrelerinde spesifik bir hedef olarak kullanılması sağlanabilir. Sunulan çalışmanın amacı, metal bazlı antineoplastik ilaç taşıyan farklı yapılarıdaki glikopeptidlerle oluşturulmuş nanopartiküllerin, kontrollü ve hedefli salınımı için etkinliğinin incelenmesi ve kanser tedavisinde uygulama potansiyellerinin araştırılmasıdır.

Gereç-Yöntem: Çalışmada antineoplastik olarak sisplatin yüklenmiş 3 farklı şeker ünitesi içeren NP1 glikoz bazlı, NP2 mannoz bazlı, NP3 fukoz bazlı glikopeptit nanopartiküller hazırlanmıştır. Bunların hücre içine alımları ve sitotoksiteleri meme kanserleri (MCF-7, MDA-MB-231), prostat kanseri (PC3), renal kanser (769-P) ve sağlıklı yumurtalık hücreleri (CHO) hücre hatlarında incelenmiştir. Nanopartiküllerin hücre içine alımları floresan mikroskopu ve akım sitometri analizleri ile incelenmiştir. Hücre ölümünün belirlenmesi Annexin V

yöntemi ile, hücre proliferasyonunun ölçümü MTT testi ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Akım sitometrisinden elde edilen histogramlara göre en fazla hücre içine alım NP3 nanopartikül numunesinde gerçekleşmiştir. Daha sonra NP2 ve en son NP1 gelmektedir. En fazla nanopartikül alımı MCF-7 hücre hattında, onun takibinde PC3 hücre hattında gerçekleşmiştir. Floresan mikroskobu ile akım sitometrisi ölçümleri karşılaştırıldığında benzer sonuçlar elde edilmiştir. NP2 hücre içine alımı, NP1 ve NP3'den daha azdır ve kullanılan hücre hatları içinde maksimum hücre içi alım NP3 nanopartikülleri kullanıldığında gözlenmiştir. Sonuç: Elde edilen sonuçlara göre, sentezlenen glikozeptid bazı nanopartiküllerle sadece ilaç tek başına kullanıldığında nanopartiküllerin daha hızlı ve daha yüksek oranda hücreleri erken apoptoza götürdüğü belirlenmiştir.

Investigation of the effectiveness of glycopeptide-based nanoparticles in cancer therapy as targeted drug delivery systems

Aydan Dağ¹, Sezen Atasoy², Pinar Sinem Omurtag³

¹Bezmialem Vakıf University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Istanbul, Turkey

²*Istanbul University, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, İstanbul, Turkey*

³*Istanbul Medipol University, Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry, Istanbul, Turkey*

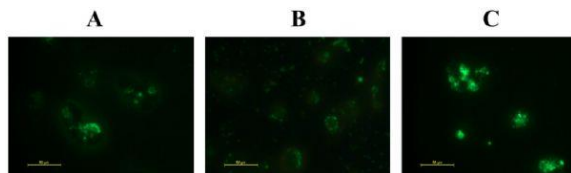
Objective: The glycogen structure of the cell membrane shows a significant difference between normal and cancer cells. With this difference, antineoplastics can be used as a specific target in cancer cells. The aim of the present study is to investigate the efficacy of nanoparticles formed with different glycopeptides bearing metal-based antineoplastic drugs for controlled and targeted release and to investigate their application potential in cancer treatment.

Materials-Methods: Glucose-based NP1, mannose-based NP2, fucose-based NP3 glycopeptide nanoparticles containing 3 different sugar units loaded with cisplatin as antineoplastics were prepared. Their intracellular uptake and cytotoxicity have been investigated in breast cancers (MCF-7, MDA-MB-231), prostate cancer (PC3), renal cancer (769-P) and healthy ovarian cell (CHO) cell lines. Intracellular uptake of nanoparticles was examined by fluorescence microscopy and flow cytometry analyzes. Determination of cell death was performed by the Annexin V method and the measurement of cell proliferation was performed by MTT assay.

Results: According to the histograms obtained from flow cytometry, the most intracellular uptake occurred at NP3 nanoparticle, then comes NP2 and NP1. The most uptake of nanoparticles occurred in the MCF-7 cell line, followed by the PC3 cell line. Similar results were

obtained when comparing fluorescence microscopy and flow cytometry measurements. NP2 intracellular uptake is less than NP1 and NP3 and maximum intracellular uptake in the used cell lines was observed when NP3 nanoparticles were used. **Conclusion:** According to the results obtained, it has been determined that synthesized glycopeptide-based nanoparticles induce early apoptosis of the cells faster and higher than the drugs alone.

Glikoz bazlı NP1, Mannoz bazlı NP2, Fukoz bazlı NP3 nanopartiküllerin PC3 hücre hattındaki hücre içi alımlarının floresan mikroskop görüntüleri
Fluorescence microscopy images of intracellular uptake of glucose-based NP1, mannose-based NP2, fucose-based NP3 nanoparticles in the PC3 cell line



Rasim 1: Glikoz bazlı NP1 (A), Mannoz bazlı NP2 (B), Flakoz bazlı NP3 (C) nanopartiküllerin PC3 hücre hatındaki hücre içi alınımlarının floresans mikroskop görüntüleri

PS - 168

Yeni bir kumarin tiyazol bileşiği "3,5-disersiyerbütilsalisilaldehitkumarintiyazol" ile bu bileşiğin palladyum(II) ve platin(II) komplekslerinin prostat ve meme kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesinin araştırılması

Buse Vatansever¹, Ümmühan Özdemir Özmen², Hale Şamlı³, Esra Bakan², Ömer Şahin², Zeynel Seferoğlu²

¹Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Bursa

²Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Ana Bilim Dalı, Ankara

³Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Genetik Ana Bilim Dalı, Bursa

Türkiye'de insidans ve mortalite oranları bakımından erkekler arasında en yaygın ikinci kanser türü prostat kanseri iken,kadınlar arasında en sık görülen ve en fazla ölüme yol açan malignite ise meme kanseridir. Günümüzde klinikte bu kanser türlerini tedavi etmek için platin(Pt)-tabanlı kemoterapötik ajanlar kullanılmaktadır.Ancak,tedavi sırasında karşılaşılan yan etkiler ve/veya tedaviye direnç gelişmesi gibi nedenlerden dolayı bu kemoterapötik ajanlardan beklenen tedavi başarısı sağlanamamaktadır.Bundan dolayı; kansere karşı mücadelede ana çözümler,daha etkili ve hedefe yönelik yeni anti-kanser ilaçların

geliştirilmesi fikri altında birleşmektedir. Çalışmamızda Özdemir-Özmen ve arkadaşları tarafından yeni sentezlenen Kumarin Tiyazol Ligandı (3,5-ditersiyerbütülsalisilaldehitkumarintiyazol) (L) ile Palladyum(II)(PdL2) ve Platin(II)(PtL2) komplekslerinin androjen bağımsız prostat kanseri hücre hattı DU145 ve meme kanseri hücre hattı MCF-7 üzerindeki sitotoksik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.Yeni sentezlenmiş 3 bileşiğin stok solüsyonunun kültür ortamında dilüe edilmesiyle çalışma dozları (1-100 µM) hazırlandı.Plazma membranı bütünlüğünü analiz eden Tripan Mavisi Boyası Testiyle hücrelerin canlılıkları ve sayıları belirlendi.Bileşiklerin ve kemoterapötik ajanlar olan Sisplatin ve Karboplatin'in (meme kanseri tedavisinde aktif olarak kullanılmaktadır) çalışma dozları hücrelere uygulandı ve 72 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda,bileşikler ile Sisplatin ve Karboplatin'in hücreler üzerindeki sitotoksik etkileri, MTT (Dimethylthiazoltetrazolium) testiyle belirlendi.Her iki hücre hattı için de elde edilen IC50 dozları incelendiğinde; L, PdL2 ve PtL2 bileşiklerinin DU145 ve MCF-7 hücre canlılıklarını doza bağlı olarak azalttığı tespit edildi (Şekil 1).Dahası,ligandın ve PtL2 bileşiklerinin MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerinde Karboplatin'den daha etkili olduğu bulundu (Tablo 1).Sonuç olarak; yeni sentezlenen Kumarin Tiyazol ligandı(L) ile Palladyum(II) ve Platin(II) komplekslerinin etkili tedavi rejimlerinin geliştirilmesi adına sitotoksik etki mekanizmalarının daha iyi aydınlatılması için ileri analizlerin yapılması gerektiği kanısındayız.

Bu çalışma Tübitak tarafından 214Z152 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

The investigation of cytotoxic activity of a new coumarin thiazole compound "3,5-ditertiarybutylsalicylaldehydecoumarinthiazole" and palladium(II) and platinum(II) complexes of this compound on prostate and breast cancer cells

Buse Vatansever¹, Ümmühan Özdemir Özmen², Hale Şamlı³, Esra Bakan², Ömer Şahin², Zeynel Seferoğlu²

¹Department of Biology, Institute of Sciences, University of Uludağ, Bursa

²Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Gazi, Ankara

³Department of Genetics, Faculty of Veterinary Medicine, University of Uludağ, Bursa

The second most common type of cancer among men is prostate cancer, while the most frequent malignancy among women is breast cancer in terms of incidence-mortality rates in Turkey. Currently, platinum (Pt)-based chemotherapeutic agents are used clinically to treat these cancers. However, treatment successes expected

from these chemotherapeutic agents aren't achieved due to reasons,such as side effects and/or development of treatment resistance.Hence,the main solutions in the fight against cancer focus on the development of more effective and targeted new anti-cancer drugs.In our study,it is aimed to determine cytotoxic effects of Coumarin-Thiazole Ligand(3,5-ditertiarybutylsalicylaldehydecoumarinthiazole)(L),and Palladium(II)(PdL2)-Platinum(II)(PtL2) complexes of this compound,which is newly-synthesized by Ozdemir-Ozmen et al.,on androgen independent prostate(DU145) and breast cancer(MCF-7) cell lines.Working doses(1-100 μ M)were prepared by diluting the stock solution of newly-synthesized compounds in culture medium.The viabilities and numbers of cells were determined by the Trypan-Blue Dye Assay,which analyzes plasma membrane integrity.Working doses of the compounds and chemotherapeutic agents Cisplatin-Carboplatin(used actively in breast cancer treatment)were applied to the cells and incubated for 72 hours.Then,cytotoxic effects of the compounds and Cisplatin and Carboplatin on cells were determined by MTT (Dimethylthiazoltetrazolium)assay.According to IC50 doses for both cell lines, L, PdL2 and PtL2 compounds decreased DU145 and MCF-7 cell viabilities in dose-dependent manner(Figure 1).Furthermore,ligand and PtL2 compounds were found to be more effective than Carboplatin on MCF-7 cells(Table 1).In conclusion,we believe that further analyzes should be done to better elucidate the mechanisms of cytotoxic effect of Palladium(II) and Platinum(II) complexes in order to develop effective therapeutic regimens.

This study was supported by Tubitak within the scope of the project numbered 214Z152

Tablo 1. 72 saat süreyle Ligand ile Pd ve Pt kompleksleri uygulanan DU145 ve MCF-7 hücrelerinin IC50 değerleri

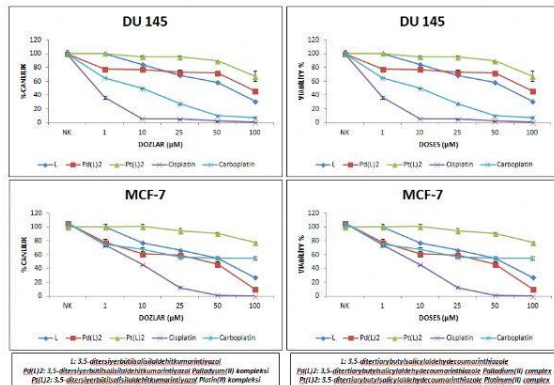
Bileşikler	Hücre Hattı	Hücre Hattı
IC50 (μ M)	DU 145	MCF-7
L	65,7	58,7
Pd(L)2	93,5	43,6
Pt(L)2	>100	>100
Sisplatin	<1	8,7
Karboplatin	10,1	>100

Table 1. IC50 values of DU145 ve MCF-7 cells, applied Ligand and Pd and Pt complexes for 72 hours

Complexes	Cell Line	Cell Line
IC50 (μ M)	DU 145	MCF-7
L	65,7	58,7
Pd(L)2	93,5	43,6
Pt(L)2	>100	>100
Cisplatin	<1	8,7
Carboplatin	10,1	>100

Şekil 1. 72 saat süreyle Ligand ile Pd ve Pt kompleksleri uygulanan DU 145 ve MCF-7 hücrelerinin doz-canlılık (%) grafiği

Figure 1. The dose-viability (%) graph of DU 145 and MCF-7 cells, applied with Ligand and, Pd and Pt complexes for 72 hours



PS - 169

Kumarin türevi yeni bileşiklerin olası anti-kanser aktivitelerinin incelenmesi

Hale Şamlı¹, Ümmühan Özdemir Özmen², Buse Vatansever³, Gizem Şahin², Ömer Şahin², Zeynel Seferoğlu²

¹*Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Genetik Ana Bilim Dalı, Bursa*

²Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Ana Bilim Dalı, Ankara

³Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Bursa

Çağımızın en önemli sağlık problemlerinin başında yer alan kanser, her geçen gün daha fazla insanın hayatını etkilemektedir. Bilimsel literatürde yer alan çalışmaların pek çoğu kanserin nedenlerinin anlaşılmasına ve tedavisine yönelik çalışmalar şeklindedir. Son yıllarda etkili bir tedavi için bilim dünyası daha etkili ilaç etken maddelerini keşfetmek adına birçok kapsamlı çalışma yürütmektedir. Kumarin bileşikler, anti-koağülant, anti-oksidad, anti-bakteriyel ve anti-kanser gibi bir dizi farmakolojik etkiye sahiptir[3,4]. Kumarin tiyazol türevlerinin sahip olduğu anti-kanser potansiyel son yıllarda büyük dikkat çekmektedir. Bu çalışmada, Özdemir ve arkadaşlarının sentezlediği yeni bir Kumarin-Tiyazol(5-Brsalisilaldehitkumarintiyazol)(L) bileşiği ile bu bileşiğin Palladyum(II)(PdL2) ve Platin(II)(PtL2) ile oluşturduğu komplekslerin androjen bağımsız prostat kanseri hücre hattı DU145 ve meme kanseri hücre hattı MCF-7 hücreleri üzerindeki anti-kanser etkileri, sitotoksikite mekanizması üzerinden araştırılmıştır. Yeni sentezlenmiş 3 bileşiğin ve kemoterapötik ajanlar olan Sisplatin ve Karboplatin'in stok solüsyonunun kültür ortamında dilüe edilmesiyle çalışma dozları(1-100 µM) hazırlandı. Hücre hatlarından 10.000-hücre/ml şeklinde 96'lık platelere ekim yapıldı, 24 saat inkübasyona bırakıldı. Daha sonra büyüme fazındaki hücrelere yeni sentezlenmiş bileşikler ile kemoterapötik ajanların çalışma dozları uygulandı ve 72 saatlik inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda, bileşikler ile ajanların DU145 ve MCF-7 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri, MTT testiyle belirlendi. Elde edilen IC50 dozları incelendiğinde bileşiklerin ve kemoterapötik ajanların artan dozlarda hücreler üzerine olan toksik etkilerini arttırdığı ve PdL2 bileşiğinin diğer iki bileşiğe kıyasla zayıf sitotoksik etki gösterdiği tespit edildi(Tablo 1). Üstelik PtL2 bileşiğinin DU145 hücreleri üzerinde, L ve PtL2 bileşiklerinin ise MCF-7 hücreleri üzerinde Karboplatin'den daha etkili olduğu bulundu. Ulaşılan sonuçlar ışığında, sentezlenen bileşiklerin ilaç etken madde adayı olabileceği ve bu doğrultuda daha kapsamlı testlerin yapılması gerektiği kanaatindeyiz. Not: Bu çalışma Tübitak tarafından 214Z152 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Investigation of anti-cancer activities of new coumarin derivatives

Hale Şamlı¹, Ümmühan Özdemir Özmen², Buse Vatansever³, Gizem Şahin², Ömer Şahin², Zeynel Seferoğlu²

¹Department of Genetics, Faculty of Veterinary Medicine,
University of Uludag, Bursa

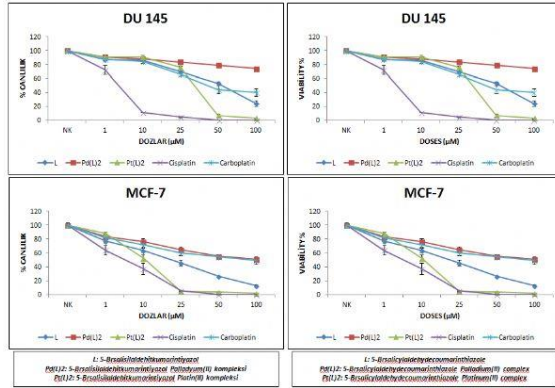
²Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Gazi, Ankara

³*Department of Biology, Institute of Sciences, University of Uludag, Bursa*

Cancer is one of the most important health problems of our age and is affecting increasing number of people with each passing day. In recent years, scientific community extensive efforts have been made to discover active ingredients of drugs for treatments with greater efficacy. Coumarin based complex are known to have a number of pharmacological actions such as anti-coagulant, anti-oxidant, anti-bacterial and anti-cancer [3,4]. The anti-cancer potential of coumarin thiazole derivatives has attracted considerable attention in recent years. In this study, a new coumarin-thiazole (5-Brsalisilaldehyde-quinarnithiazole)(L) complex-synthesized by Özdemir et.al. and complexes of this complex with Palladium(II)(PdL2) and Platinum(II)(PtL2) were tested for anti-cancer efficacy on prostate cancer cell-line DU145 and breast cancer cell-line MCF-7 by determining cytotoxicity of these complex. Working doses (1-100 μ M) newly-synthesized-complex and chemotherapeutic agents, cisplatin and carboplatin. The working doses of complex and chemotherapeutic agents were applied to proliferating cells and incubated for 72h. At the end of treatment, cytotoxic effects of complex and chemotherapeutic agents on cells were determined by an MTT assay. When IC50 doses were examined, it was found that complex and chemotherapeutic agents increased toxic effects on cells in a dose-dependent manner. PdL2 complex showed a weaker cytotoxic effect compared to other two complex. Moreover, it was found that PtL2 complex was more effective on DU145 cells while complex L and PtL2 were more effective than carboplatin on MCF-7 cells. In light of these results, we believe that synthesized complex may be candidates as active ingredients of drugs and that more comprehensive tests should be carried out to further confirm their anti-cancer effects. Note: This work was supported by TÜBİTAK Project number-214Z152.

Şekil 1. 72 saat süreyle Ligand ile Pd ve Pt kompleksleri uygulanan DU 145 ve MCF-7 hücrelerinin doz-canlılık (%) grafiği

Figure 1. The dose-viability (%) graph of DU 145 and MCF-7 cells, applied with Ligand and, Pd and Pt complexes for 72 hours



Tablo 1. 72 saat süreyle Ligand ile Pd ve Pt kompleksleri uygulanan DU145 ve MCF-7 hücrelerinin IC50 değerleri

BİLEŞİKLER	HÜCRE HATLARI	HÜCRE HATLARI
IC50 (µM)	DU 145	MCF-7
L	54,96	21,55
Pd(L)2	>100	>100
Pt(L)2	34,45	10,97
Sisplatin	4,32	5,75
Karboplatin	43,26	91,39

Table 1. IC50 values of DU145 ve MCF-7 cells applied Ligand and Pd and Pt complexes for 72 hours

COMPLEXES	CELL LINES	CELL LINES
IC50 (µM)	DU 145	MCF-7
L	54,96	21,55
Pd(L)2	>100	>100
Pt(L)2	34,45	10,97
Cisplatin	4,32	5,75
Carboplatin	43,26	91,39

PS - 171

PFKFB2 baskılanmasının global genom ekspresyonuna etkileri

Başak Duygu Balaban¹, Selahattin Can Özcan¹, Yunus
Gürpınar¹, Saime Güzel¹, Can Holyavkin², Abdullah
Yalçın¹

¹Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

²Done Genetik, İstanbul, Türkiye

6-fosfofruktoz-2-kinaz/fruktoz-2,6-bisfosfataz (PFKFB) ailesine ait çift fonksiyonlu enzimler dört farklı gen tarafından kodlanmaktadır (*PFKFB1*, *PFKFB2*, *PFKFB3* ve *PFKFB4*) ve hücre içi fruktoz-2,6-bisfosfat (F26BP) molekülünün yapım ve yıkımından sorumludur. Kanser hücrelerinde eksprese edildiği gösterilen izoenzimlerden (*PFKFB2*,3,4), kanser biyolojisindeki etkisi en az bilinen *PFKFB2*'dir. Bu çalışmada, regülasyonu *PFKFB2*'ye bağlı (direkt veya dolaylı olarak) değişen genlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu doğrultuda endojen PFKFB2 ekspresyonu yüksek tespit edilmiş PANC-1 hücreleri kullanıldı. Hücrelere siRNA transfeksiyonu Lipofectamine RNAiMAX kullanılarak gerçekleştirildi. Real-time qPCR ile en az %80 baskılama sağlanan örnekler (üç biyolojik tekrar) mikroarray analizi için hazırlandı. Global mRNA ekspresyon analizi için Human HT-12 v4.0 expression Beadchip ve çiplerin okunmasında illumina iScan array reader kullanıldı.

İncelenen 47323 probe'a ait veriler fold change ve LPE testi ile filtrelendi ve en az 1.5 kat değişim gösteren probe'lar değerlendirildi. PFKFB2 baskılanan örneklerde, kontrol siRNA uygulanan örneklerle göre, 33 gen ekspresyonunda artma, 82 gen ekspresyonunda azalma tespit edildi.

Yapılan gen ontolojisi analizlerinde, değişim gözlenen genlerden 69 adetinin hücresel proseslerde, 59 adetinin metabolik proseslerde, 51 adetinin de biyolojik regülasyonda görevli olduğu belirlendi. PANC-1 hücre biyolojisinde önemli olan genlerdeki değişimler real-time qPCR ile doğrulandı. Ekspresyonlar; SKP2: 2,78±0,28 kat, ODC1: 0,31±0,16 kat, CDC25A: 2,33±0,38 kat, IGFBP3: 0,23±0,02 kat, PIM2: 2,06±0,21 kat şeklinde tespit edildi. Sonuç olarak, ilk defa PFKFB2'nin global genom ekspresyonuna etkileri incelendi. İleri çalışmalar PFKFB2'nin bu genlerin ekspresyonu üzerine etkisinin moleküler incelenmesini konu alacaktır.

Effects of PFKFB2 knockdown on whole genome expression

Başak Duygu Balaban¹, Selahattin Can Özcan¹, Yunus Gürpınar¹, Saime Güzel¹, Can Holyavkin², Abdullah Yalçın¹

¹Department of Biochemistry, School of Veterinary Medicine, Uludag University, Turkey

²Done Genetics, Istanbul, Turkey

6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase (PFKFB) family of enzymes (PFKFB1-4) is responsible for the synthesis and degradation of the glycolytic activator fructose-2,6-bisphosphate (F26BP) molecule. Among the isoenzymes expressed in cancer cells (PFKFB2-4), PFKFB2 is the least studied isozyme. In this study, we aimed to determine genes whose regulation depends on PFKFB2. The pancreatic adenocarcinoma cell line PANC-1 was used in the study. PFKFB2 expression was suppressed by a specific siRNA molecule using Lipofectamine RNAiMAX. Samples with at least 80% suppression of PFKFB2 mRNA as determined by real-time qPCR was used in microarray analysis. Human HT-12 v4.0 expression Beadchip and illumina iScan array reader were used for global mRNA expression analysis.

The data of the examined 47323 probes was filtered by fold change and LPE test, and probes with at least 1.5 fold changes were evaluated. Increase in 33 gene expressions and decrease in 82 gene expressions were detected in PKFB2-knockdown samples compared to control siRNA-transfected samples.

In the gene ontology analyzes, 69 genes were found to be involved in cellular processes, 59 in metabolic processes and 51 in biological regulation. Expression changes of select genes in these processes was confirmed by real-time qPCR and fold changes relative to control were as follows: SKP2: $2,78 \pm 0,28$, ODC1: $0,31 \pm 0,16$, CDC25A: $2,33 \pm 0,38$, IGFBP3: $0,23 \pm 0,02$, PIM2: $2,06 \pm 0,21$.

In conclusion, the data suggest that PFKFB2 may be involved in regulation of genes that are critical to PANC-1 biology.

PS - 172

Ekstranodal Naturel Killer T- Hücreli Lenfoma tanılı bir olguda konstitüsyonel t(1;19)(q23;p13) translokasyonu ve *E2A-PBX1* füzyon geninin belirlenmesi

Sibel Berker Karaüzüm¹, Ramazan Erdem², Özden Altıok
Clark³, Ayşe Esra Manguoğlu¹, Turgay Ulaş², Bahar
Akkaya⁴, Levent Ündar²

¹Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı, Antalya

²Hematoloji Bilim Dalı

³*Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı*

⁴Patoloji Ana Bilim Dalı

Amaç: Çocukluk çağı pre-B hücreli akut lenfoblastik lösemilerde t(1;19)(q23;p13) translokasyonu ile oluşan E2A-PBX1 füzyon geni, yaygın olarak görülmektedir. Ekstranodal naturel killer (NK) T-hücreli lenfoma olgularında kromozomal abnormaliteler sınırlı sayıda ve en sıklıkla 6q22-25 bölgesini içeren delesyonlar olarak bildirilirken, NK/T hücreli lenfomalarda rekürrent bir translokasyona ve özellikle t(1;19)(q23;p13) translokasyonuna rastlanılmamıştır. Yapılan literatür taramasına göre ilk kez bu olguda tanımladığımız NK/T hücreli lenfoma'da belirlenen bu translokasyonun hastalıktaki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Olgu: klinik olarak NK/T- hücreli lenfoma tanısı konan 46 yaşındaki bir kadın hastadan alınan kemik iliği, kan ve deri fibroblast örneklerinde yapılan konvansiyonel sitogenetik ve FISH analizlerinde t(1;19)(q23;p13) translokasyonu belirlenmiştir. Bu translokasyonun ürünü olan E2A-PBX1 füzyon geninin ekspresyonunun olup olmadığına RT-PCR ile bakıldığında kan ve kemik iliği örneklerinde ekspresyon gözlenirken, deri biyopsi örneğinde E2A-PBX1 füzyon geninin ekspresyonu saptanmamıştır.

Sonuç: Konstitüsyonel bir translokasyonun ürünü olan füzyon genin transkripsiyona uğrayarak NK/T-hücreli lenfomaya sebep olabilmesi için ikincil bir olayın var olabileceğini düşüncesindeyiz.

Identification of a constitutional t(1;19)(q23;p13) translocation and an E2A-PBX1 fusion gene in an Extranodal Natural Killer T-Cell Lymphoma patient

Sibel Berker Karaüzüm¹, Ramazan Erdem², Özden Altıok
Clark³, Ayşe Esra Manguoğlu¹, Turgay Ulaş², Bahar
Akkaya⁴, Levent Ündar²

¹Department of Medical Biology and Genetics, Medical School, Akdeniz University, Antalya, Turkey

²*Department of Hematology*

³*Department of Medical Genetics*

⁴Department of Pathology

An E2A-PBX1 fusion gene produced from a t(1;19)(q23;p13) translocation is commonly observed in childhood pre-B acute lymphoblastic leukemia. The t(1;19) translocation is detectable in neonatal Guthrie cards in 10% of pediatric ALL cases. Although chromosomal abnormalities have been reported in limited extranodal natural killer (NK)/T-cell lymphoma cases, with the deletion of 6q22-25 being the most frequently seen, recurrent translocations, especially the constitutional t(1;19)(q23;p13) translocation, have not yet been described in NK/T-cell lymphoma. Our aim is to determine the effect of this translocation which is observed for the first time according to the literature, in NK/T cell lymphoma.

We present the cytogenetic characterization of a 46-year-old Turkish female who was clinically diagnosed with extranodal NK/T-cell lymphoma. Using cytogenetic analysis and FISH on the patient's bone marrow, peripheral blood, and skin biopsy, it was found that the sole constitutional chromosome abnormality was the t(1;19) translocation. While the E2A- PBX1 fusion gene was detected in both of the bone marrow and the peripheral blood samples, it wasn't detected in the skin biopsy by using RT-PCR technique.

In conclusion, we believe that having the constitutional t(1;19) translocation may predispose to the development of NK/T-cell lymphoma with the presence of secondary events.

PS - 174

Wip-1 fosfatazın insan Non-Hodgkin lenfomada onkogen potansiyeli

Mehtap Kılıç Eren¹, Hatice Pilevneli², Nur Betül Kartal¹,
Firuzan Doger³

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Aydın

²Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya
Anabilim Dalı, Aydın

³Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

Amaç: Wild-type p53-indüklü fosfataz1 (Wip1/PPM1D), insan katı tümörlerinde aşırı ifade edildiği amplifiye olduğu, mutasyona uğradığı ve böylece tipik onkogen özelliklerini gösterdiği bilinen bir serin/threonine fosfatazdır. Ancak hematolojik kanserlerde bugüne kadar Wip1'in onkogen potansiyeline sahip olup olmadığını gösteren bir bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışma Wip1'in insan Non-Hodgkin lenfoma (NHL) da (diffuz büyük hücreli B cell lenfoma, foliküler lenfoma, anaplastik büyük hücreli lenfoma dahil) onkogen potansiyelini araştırmak için yapılmıştır. İnsan NHL hasta doku örneklerinde Wip1 mRNA ve protein düzeyleri test edilmiş ve ayrıca PPM1D lokusu mutasyon ve gen kopya sayısı için analiz edilmiştir.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada insan FFPE NHL ve normal lenfoid doku örnekleri kullanılmıştır. Dokularda Wip1 mRNA düzeyi qRTPCR'la, protein düzeyi ise immunohistokimyasal analizle test edilmiştir.

Wip1/PPM1D lokusundaki tüm exonlar introniksisımları kapsayacak şekilde gDNA'dan PCR analiziyle çoğaltılmış ve sekans analizine tabii tutulmuştur. PPM1D lokusun kopya sayısı analizi ise gDNA'da Taqman gen kopya sayısı testi kullanılarak qRT-PCR analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Bu çalışmada insan NHL doku örneklerinde Wip1 geninin aşırı ifade edildiği ve kopya sayısının arttığı ilk defa gösterilmiştir. Ayrıca mutasyon analizleri sonucunda özellikle difüz büyük hücreli lenfoma doku örneklerinde Wip1'in exon 6'da heterozigot mutasyonlara sahip olduğu bulunmuştur.

Sonuç: Wip1 hematolojik kanserlerde özellikle de NHL’de hastalığın başlangıcı ve ilerlemesinde önemli rol oynayabilecek bir onkogenik potansiyele sahip olabilir.

Bu çalışma TUBITAK tarafından 214S200 nolu proje ile desteklenmektedir.

Oncogenic potential of Wip-1 phosphatase in human Non-Hodgkin lymphoma

Mehtap Kılıç Eren¹, Hatice Pilevneli², Nur Betül Kartal¹,
Firuzan Döğer³

¹Adnan Menderes University, Medical School, Department of Medical Biology, Aydın

²Adnan Menderes University, Medical School, Department of Biochemistry, Aydın

³Adnan Menderes Üniversitesi, Medical School, Department of Biochemistry, Ankara

Objective: Wild-type p53-induced phosphatase 1 (Wip1/PPM1D), is a serin/threonine phosphatase which is known to be overexpressed, amplified and mutated thus displaying typical oncogenic properties in human solid tumors. However, in hematological cancers, so far no data has shown whether or not Wip-1 has an oncogenic potential. The present study was undertaken to evaluate the oncogenic potential of Wip1 in human Non-Hodgkin lymphoma (NHL) (including diffuse large B cell lymphoma, follicular lymphoma, anaplastic large cell lymphoma). Human NHL specimens were analysed for mRNA and protein levels of Wip1 and subjected to mutational and copy number gain analysis for PPM1D locus.

Materials-Methods: In this study human FFPE NHL and non-cancer lymphoid tissue samples were used. mRNA levels of Wip1 was evaluated by qRTPCR analysis. Protein expression of Wip1 was detected by immunohistochemistry analysis. Amplicons covering all Wip1/PPM1D exons with flanking intronic sequences were obtained by PCR analysis from gDNA and subjected to sequencing analysis. Copy number gain analysis of the PPM1D locus was achieved by qRT-PCR analysis using Taqman gene copy number assay.

Results: Here we showed for the first time Wip1 gene is overexpressed and amplified in human NHL samples. Additionally mutational analysis revealed heterozygous mutations within exon 6 of Wip1 gene in particular in diffuse large B cell lymphoma patients samples.

Conclusion: Hence, Wip1 may have an oncogenic potential in hematological cancers in particular in NHL which may play an important role in the initiation and/or progression of the disease

This work is supported by TUBITAK Gr. N.214S200.

PS - 175

Farklı coğrafik bölgelerden hepatoselüler karsinomlarda görülen yaygın telomeraz revers transkriptaz promotör mutasyonları

Dilek Çevik¹, Gökhan Yıldız², Hani Alotaibi³, Mehmet Öztürk³

¹Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

²Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Trabzon

³Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir Biyotıp ve Genom Merkezi, İzmir

Amaç: Farklı coğrafik bölgelerden toplanan Hepatoselüler Karsinoma (HSK) örneklerindeki Telomeraz Revers Transkriptaz (*Tert*) geni promotör bölgesinin C228T ve C250T mutasyon durumunu belirlemek.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada, 15 HSK hücre hattı ile Asya, Avrupa ve Afrika kökenli hastalardan toplanan 44 primer hasta örneği olmak üzere toplam 59 HSK örneğinin genomik DNA sekansı analiz edilmiştir. PCR yöntemi ile 5. kromozomun *Tert* geninin promotör bölgesini içeren kısmından 474 bazlık bir alan çoğaltılmıştır, bu alan 1295228 and 1295250 bölgelerinde bulunan mutasyonları kapsamaktadır. Amplikonlar Sanger dizileme yöntemi ile dizilendikten sonra elde edilen veriler, yaban tip *Tert* geninin dizisi referans alınarak DNADynamo programı ile analiz edilerek ilgili örneklerdeki mutasyon durumu belirlenmiştir.

Bulgular: *Tert* promotör mutasyonları HSK da oldukça yüksek oranda bulunmuştur. Analiz edilen HSK hücre hatlarındaki *Tert* promotör mutasyon sıklığı %60 olarak tespit edilmiştir. Farklı coğrafik bölgelerden toplanan HSK tümör örneklerinde ise, %34 oranında mutasyon saptanmıştır. HSK hücre hatlarındaki mutasyon sıklığı, primer tümörlere kıyasla neredeyse iki kat daha yüksektir. C228T mutasyonu hem hücrelerde, hem de hasta tümör örneklerinde C250T mutasyonundan daha sık görülürken, iki mutasyonun bir arada bulunduğu bir örneğe rastlanmamıştır. *Tert* mutasyon sıklığı coğrafyaya göre farklılık gösterirken en yüksek oran % 53 ile Afrika kökenli tümörlerde saptanmıştır. *Tert* promotör mutasyonları ile MDM2 genindeki tek nükleotid polimorfizmi (SNP 309 TG) arasında zayıf bir korelasyon bulunmuştur ($P = 0.058$).

Sonuç: Tert promotör bölgesi, karaciğer kanserinde en sık mutasyona maruz kalan bölgelerden biridir ve hepatoselüler karsinogenez, telomer bağımlı hücresel yaşlanma kontrolünün kaybıyla büyük oranda ilişkilidir.

Common telomerase reverse transcriptase promoter mutations in hepatocellular carcinomas from different geographical locations

Dilek Çevik¹, Gökhan Yıldız², Hani Alotaibi³, Mehmet Öztürk³

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

²Karadeniz Technical University Faculty of Medicine,
Department of Medical Biology

³Dokuz Eylül University, İzmir Biomedicine and Genome Center, İzmir

Objective: To determine the mutation status of human telomerase reverse transcriptase gene (*Tert*) promoter region in hepatocellular carcinoma (HCC) from different geographical regions.

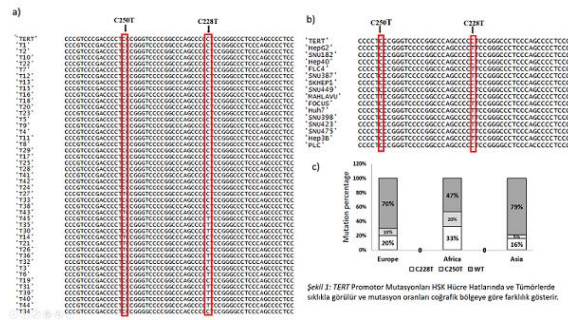
Materials-Methods: We analyzed the genomic DNA sequences of 59 hepatocellular carcinoma samples comprising 15 cell lines and 44 primary tumors, collected from patients living in Asia, Europe and Africa. We amplified a 474 bp DNA fragment of the promoter region of (*Tert*) gene including the 1295228 and 1295250 sequence of chromosome 5 by using PCR. Amplicons were then sequenced by Sanger technique and the sequence data were analyzed with by using DNADynamo software in comparison with wild type (*Tert*) gene sequence as a reference.

Results: (*Tert*) mutations were found highly frequent in hepatocellular carcinoma. HCC cell lines displayed an overall mutation rate of 60%. Mutation frequency of primary tumors collected from different geographical regions was 34%. All of the mutations were heterozygous and mutually exclusive. Considering the geographic origins of HCC tumors tested, (*Tert*) promoter mutation frequencies were higher in African (53%), when compared to non-African (24%) tumors. There was also a weak inverse correlation between (*Tert*) promoter mutations and murine double minute 2 (MDM2) single nucleotide polymorphism (SNP) 309 TG polymorphism ($P = 0.058$). Mutation frequency was nearly two times higher in established HCC cell lines compared to the primary tumors.

Conclusion: (*Tert*) promoter is one of most frequent mutational targets in liver cancer, and hepatocellular carcinogenesis is highly associated with the loss of telomere-dependent cellular senescence control.

Tert Promotor Mutasyonlarının Görülme Sıklığı ve Coğrafik Dağılımı

Frequency of Tert Promotor Mutasyons and Their Geographical Distribution



HSK hücre hatlarında % 60, HSK tümör örneklerinde % 34 oranında mutasyona rastlanmıştır. En yüksek mutasyon görülme sıklığı Afrika kökenli örneklerle aittir. We detected a mutation frequency of 60% and 34% in HCC cell lines and HCC tumor samples respectively. The highest mutation frequency rate belongs to African origin samples.

PS - 177

Wip-1 fosfatazın (Wild type-p53 induced phosphatase-1) insan Non-Hodgkin lenfomada DNA hasarı cevabının modülasyonu ve hücrel stres cevaplarının aktivasyonuna dirençte rolü

Mehtap Kilic Eren¹, Nur Betül Kartal², Hatice Pilevneli¹,
Leyla Didem Kozacı³

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Aydın

²Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya
Anabilim Dalı, Aydın

³Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

Amaç: Wip1/PPM1D DNA hasarıyla p53 bağımlı olarak indüklenir. İndüklenmesini takiben Wip-1 p53, Chk1, CHK2, H2AX, ATM/ATR gibi çok sayıda proteini negatif geri bildirim döğüsünün sonucu olarak defosforile/inaktive eder ve böylece stress cevaplarını etkisizleştirir. Sonuç olarak Wip-1 hücre döğüsükontrol noktalarını bozar, senesens ve apoptozisi inhibe eder. Wip1'in deregüle olması çeşitli tipte insan katı tümörlerinde zayıf prognozla asosiyte bulunmuştur. Bu çalışma Wip-1'in insan Non-Hodgkin lenfomada rolünü araştırmak üzere gerçekleştirilmiştir.

Gereç-Yöntem: NHL hücrelerinde (Su-DHL4, Molt-4, Raji, Daudi, Ca-46) Wip1 mRNA ve protein düzeyi qRT-PCR ve WB analiziyle ölçülmüştür. Kopya sayısı analizi Taqman Gen Kopya sayısı testi ve qRT-PCR'la ölçülmüştür. Hücre döngüsü analizi BrdU boyaması, apoptozis AnnexinV ve

Caspase3/7 testleri ile ölçülmüştür. Wip-1'in hedeflenmesi RNA interferansı ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Bu çalışmada insan NHL hücre dizleri p53'den bağımsız olarak Wip-1'i aşırı ifade ettikleri gösterilmiştir. Su-DHL4, Molt-4, Ca-46 hücre dzilerinde Wip-1/ PPM1D gen lokusu için amplifikasyon içerdikleri bulunmuştur. Wip1'i aşırı ifade eden NHL hücrelerinde etoposid ve UV maruziyetine karşı DDR'ın önemli elemanlarının (ATM, ATR, Chk1, Chk2, p53) fosforilasyon düzeylerinin düştüğü ve hücre döngüsünün durdurulması, apoptozis ve senesense direç olduğu bulunmuştur. Wip-1'in knock-down edilmesiyle Chk1, Chk2, p53, ATM fosforilasyon düzeyleri artarken p53 wt olan NHL dizlerinde apoptozis oranında artış tespit edilmiş ancak p53 mt olanlarda ise bu oran değişmemiştir.

Sonuç: Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar NHL tedavisinde daha iyi sonuç elde etmek amacıyla geliştirilecek olan yeni tedavi stratejilerine katkıda bulunabilecek derecede önemli potansiyele sahiptir.

Bu çalışma TUBITAK tarafından proje no. 214S200 desteklenmektedir.

Role of Wip-1 phosphatase (Wild type-p53 induced phosphatase-1) in modulation of DNA damage response and resistance to activation of cellular stress responses in human Non-Hodgkin lymphoma

Mehtap Kilic Eren¹, Nur Betül Kartal², Hatice Pilevneli¹,
Leyla Didem Kozacı³

¹Adnan Menderes University, Medical School, Department of Medical Biology, Aydın

²Adnan Menderes University, Medical School, Department of Biochemistry, Aydın

³Yıldırım Beyazıt University, Medical School, Department of Biochemistry, Ankara

Objective: Wip1/PPM1D is induced upon DNA damage in a p53-dependent manner. Upon induction, Wip1 dampens the stress response by dephosphorylating /nactivating multiple proteins including p53, Chk1, CHK2, H2AX, ATM/ATR as a part of a negative feedback loop. Thus, Wip1 functions to abrogate cell cycle checkpoints and inhibit senescence, apoptosis. Deregulation of Wip-1 is associated with poor prognosis in various types of human solid tumors. This study is undertaken to examine the role of Wip-1 in human Non-Hodgkin lymphoma (NHL).

Materials-Methods: qRT-PCR and WB analysis were used to assess mRNA or protein levels of Wip1 in NHL cell lines (Su-DHL4, Molt-4, Raji, Daudi, Ca-46). Copy number gain analysis was done by Taqman Gene Copy number assay by qRT-PCR. Cell cycle analysis was done by BrdU

staining. Apoptosis was measured by Annexin V and Caspase3/7 assays. RNA interference was used to target Wip1.

Results: Here we show that NHL cells overexpress Wip-1 independent of p53 status. Su-DHL4, Molt-4, Ca-46 cell lines also display high level amplification of PPM1D locus. NHL cells maintain resistance to cell cycle arrest, senescence or apoptosis through decreased phosphorylation of key elements of DDR pathway (ATM, ATR, Chk1, Chk2, p53) in response to etoposide or UV treatment. Specific knock down of Wip1 significantly induced phosphorylation of Chk1, Chk2, p53, ATM and increased apoptosis in lymphoma cell line expressing wt p53 but not mutant.

Conclusion: Hence, results from this study might be of critical importance in order to design novel therapeutic strategies to achieve better therapeutic outcome in NHL treatment.

PS - 178

Multipl Myelom'da gözlenen kromozom anomalilerinin tespitinde konvansiyonel sitogenetik ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) yönteminin birlikte kullanımının tanısal değerinin belirlenmesi

Gülhan Demir, Seda Eren Keskin, Naci Çine, Hakan Savlı,
Seda Reka, Buket Doğruoğlu, Zeynep İlkay

*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,
Kocaeli*

Amaç: Multipl myelom, kemik iliğinde B hücrelerinden köken alan plazma hücrelerinin farklılaşması ve artışıyla seyreden kanser türüdür. Hücre siklusundaki bozukluklar ve bu sistemdeki yolların genetik hasara uğramasıyla kontrol dışı çoğalan malign plazma hücreleri oluşur. Yapılan araştırmalarda multipl myelomada birçok kromozom anomalisini tanımlanmıştır. Bu anomaliler konvansiyonel sitogenetik ve FISH yöntemleriyle tespit edilebilmektedir. Multipl myelomda; 13q delesyonu-numonozomi 13, p53 genlerinin delesyonu ve IgH geninin yenidozen düzenlenmeleri gözlenmektedir. Amacımız; konvansiyonel sitogenetik ve FISH yöntemleri kullanarak, multipl myelom tanılı olgularda kromozomal anomalilerinin sıklığını belirlemek, prognoz ve tanıda bu iki yöntemin kullanımının avantaj ve dezavantajlarını karşılaştırarak tanıda en etkin stratejiyi belirlemektir.

Gereç-Yöntem: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Anabilim Dalı'ndan yönlendirilen Multipl Miyelom tanısı almış 100 olguda konvansiyonel sitogenetik ve FISH analizi sonuçları incelendi.

Bulgular: Konvansiyonel sitogenetik analiz olguların 57'sinde (%78,1) gerçekleştirilebilmiş olup, 47 olguda (%82,5) normal karotip izlenirken 10 olguda (%17,5) kromozom anomalileri gözlenmiştir. FISH analizinde;

olguların %6,7'sinde kromozom 13'e ait anomaliler, %17,4'ünde kromozom 17'ye ait anomaliler ve %29,7'sinde kromozom 14'e ait anomaliler gözlenmiştir.

Sonuç: Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre Multipl Myelom'lu olgularda konvansiyonel sitogenetik ve FISH yönteminin birlikte kullanımının hastalığın takip ve prognozunda önemli olduğunu, tanısal gücünün artırdığını düşünmekteyiz.

Determination of the diagnostic value of conventional cytogenetic and fluorescence in situ hybridization (FISH) detection in detection of chromosomal abnormalities in multiple myeloma

Gülhan Demir, Seda Eren Keskin, Naci Çine, Hakan Savlı,
Seda Reka, Buket Doğruoğlu, Zeynep İlkay

Kocaeli University Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Kocaeli

Objective: Multiple myeloma is a type of cancer characterized by the differentiation and increase of plasma cells originating from B cells in the bone marrow. Disorders in the cell cycle and pathways in this system result in uncontrolled proliferation of malignant plasma cells through genetic damage. Several chromosomal anomalies have been identified in multiple myeloma studies. These anomalies can be detected by conventional cytogenetic and FISH methods. Multiple myeloma; 13q deletion-monosomy 13, deletion of p53 genes and rearrangement of the IgH gene are observed. Our aim; Determine the most effective strategy in diagnosis by comparing the advantages and disadvantages of using these two methods to determine the frequency of chromosomal abnormalities in multiple myeloma diagnosed cases using conventional cytogenetic and FISH methods, prognosis and diagnosis. Materials-Methods: In our study, the results of conventional cytogenetic and FISH analyzes were examined in 100 cases of Multiple Myeloma diagnosed in Kocaeli University Medical Faculty Hematology Department.

Results: Conventional cytogenetic analysis could be performed in 57 cases (78.1%), and chromosomal anomalies were observed in 10 cases (17.5%) while 47 cases (82.5%) were normal karyotypes. In FISH analysis; Anomalies of chromosome 13 were observed in 6.7% of the cases, anomalies of chromosome 17 were observed in 17.4% and anomalies of chromosome 14 were observed in 29.7% of the cases.

Conclusion: We believe that the combined use of conventional cytogenetics and FISH in multiple Myeloma cases is important in the follow-up and prognosis of the disease and increases the diagnostic power, according to our study.

PS - 179

Curcuminin meme kanserinde EPO, HIF1 α , VEGF ve CRAF gen ifadenmesinde etkinliği: in vitro alıřma

Yasemin Soysal¹, Güler Gül¹, Gül Güner Akdoğan², Harun M. Said¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp AD.

²*Izmir Ekonomi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya AD.*

Amaç: Meme kanseri kadınlarda en yaygın kanser tipidir, ölümlerin çoğu primer tümörden değil, diğer organlara metastazın sonucu olarak gerçekleşir. *Curcuma Longa* bitkisinden elde edilen curcumin anti-tümör ve anti-inflamatuar etkili ajan olup anjiyogenez inhibisyonunda rol oynamaktadır. Amacımız, meme ve meme kanseri süreci hatlarınıza curcuminin anjiyogenez ile ilgili gen ifadelerini düzenleyici ve anti-anjiyogenik etkilerinin araştırılmasıdır.

Gereç-Yöntem: MCF-7, MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatları ile MCF-10A normal meme epitel hücre hattı kullanıldı. Curcuminin hücre hatlarına belirlenen dozlarda uygulanmasını takiben RNA izolasyonu yapıldı, cDNA'ya dönüştürüldü. Real Time PCR yöntemi kullanılarak *EPO*, *C-RAF*, *VEGF* ve *HIF-1 α* genlerinin gen ifadesi ABI7500 sistemi kullanılarak belirlendi. Housekeeping gen olarak *Beta-aktin* kullanıldı. *EPO*, *C-RAF*, *VEGF* ve *HIF-1 α* ile *Beta-aktin*ekspresyonları oranlanarak rölatif kantitasyon yapıldı.

Bulgular: *EPO*, *C-RAF*, *VEGF* ve *HIF-1 α* gen ekspresyon analizlerinde MCF-7 ve MDA-MB-231 en etkin down-regülasyon, MCF-10A hücrelerinde en etkin up-regülasyonun olduğu doz curcumin 40 μ M olarak tespit edildi. MCF-7 hücrelerinde *HIF-1 α* ekspresyonları kontrole göre anlamlı düşüş gösterdi. MDA-MB-231 hücrelerinde curcumin 50 μ M dozunda kontrole göre anlamlı düşüş gözlemlendi. MCF-10A hücrelerinde kontrole göre curcumin 40 μ M ve 50 μ M dozlarında anlamlı düşüş gözlemlendi. *EPO* gen ekspresyonları kontrole göre tüm hücre hatlarında anlamlı düşüş gösterdi. *C-RAF* gen ekspresyonları kontrole göre MCF-7 hücrelerinde curcumin 40 μ M dozunda anlamlı düşüş gösterdi. Diğer MDA-MB-231 ve MCF-10A hücre hatlarında curcumin 40 μ M ve 50 μ M dozlarında kontrole göre anlamlı düşüş gözlemlendi.

Sonuç: Eritropoezisin ana düzenleyicisi olan *EPO*, *HIF-1 α* ile düzenlenmektedir. Curcuminin tüm hücre hatlarında eritropoezisi inhibe ettiği görülmüştür. Çalışma sonucunda curcuminin anjiogenezi MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde MCF-10A hücrelerine göre daha çok etkilediği görülmüştür.

The effects of curcumin on EPO, HIF1 α , VEGF and CRAF in breast cancer: in vitro research

Yasemin Soysal¹, Güler Gül¹, Gül Güner Akdoğan², Harun M. Said¹

¹Dokuz Eylul University Institute of Health Sciences, Dept. of Molecular Medicine

²*Izmir Economy University Faculty of Medicine, Dept. of Biochemistry*

Objective: Breast cancer is the most common type of cancer in women. Curcumin is extracted from *Curcuma Longa* and is an anti-tumor and anti-inflammatory agent involving in the inhibition of angiogenesis. Our aim was to investigate the regulative and anti-angiogenic effects of curcumin on gene expressions in breast and breast cancer cell lines.

Materials-Methods: MCF-7, MDA-MB-231 breast cancer cell lines and MCF-10A normal breast epithelial cell line were used. Following application of curcumin to the cell lines at defined doses, RNA isolation was performed and transformed into cDNA. Using the Real Time PCR method, the gene expression of *EPO*, *C-RAF*, *VEGF* and *HIF-1 α* genes was determined by ABI7500 system. *Beta-actin* was used as housekeeping gene.

Results: Expression of HIF-1 α in MCF-7 cells was significantly lower than control. MDA-MB-231 cells showed significant gene expression decrease at 50 μ M curcumin compared to control. MCF-10A cells showed significant gene expression decrease in curcumin doses of 40 μ M and 50 μ M compared to control. *EPO* gene expressions showed significant decrease in all cell lines compared to control. C-RAF gene expressions showed significant decrease in curcumin 40 μ M dose in MCF-7 cells compared to control. A significant decrease in curcumin 40 μ M and 50 μ M doses was observed in the other MDA-MB-231 and MCF-10A cell lines compared to the control.

Conclusion: EPO, the main regulator of erythropoiesis, is regulated by *HIF-1α*. Curcumin has been shown to inhibit erythropoiesis in all cell lines. As a result, curcumin effects angiogenesis more in MCF-7 and MDA-MB-231 cells than in MCF-10A cells

TUBİTAK SBAG 215S169 no ile desteklenen proje verilerinden oluşmaktadır.

PS - 180

Metilsülfonilmetanın ER(+) meme kanseri hücre hatlarında tamoxifen'in antikanser etkinliği üzerine etkisi

Senem Noyan¹, Ali Emre Akpınar¹, Bala Gür Dedeoğlu¹,
Aynur Karadağ²

¹Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü

²Uşak Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ABD

Çok-sebepli, kompleks bir genetik hastalık olan meme kanseri moleküler alt tiplere ve reseptör ifade durumuna göre farklı biyolojik davranışlar ve tedavi duyarlılığı göstermektedir. Luminal alt tipler, östrojen reseptörünün (ER) ifadesi ile karakterizedir ve potansiyel olarak endokrin terapi ile hedeflenebilirler. Tamoxifen meme kanserinde kullanılan sentetik nonsteroid yapıda bir antiöstrojen ajandır ve östrojen reseptörüne (ER) bağlanarak östrojen ile yarışmaktadır. Dimetil sülfan olarak da bilinen Metilsülfonilmetan (MSM) ise, diyet takviyesi olarak kullanılan organik, sülfür içeren bileşiktir. MSM, oksidatif stres ve inflamasyonu azaltarak, hücre tipine veya aktive edici uyarılara bağlı olarak apoptotik veya anti-apoptotik etkiler göstermektedir.

Bu çalışmada, MSM'in tamoxifenin antikanser etkinliğini artırıp artırmadığını belirlemek için, ER(+) meme kanseri hücre hatlarında tamoxifen ile birlikte hücre proliferasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu hipotezi test etmek için ER(+) olduğu bilinen iki farklı meme kanseri hücre hattı (BT474-MCF7) MSM ve tamoxifen ile muamele edilmiş ve MSM'nin hücre canlılığı üzerindeki etkisi incelenmiştir. Hücrelere artan konsantrasyonlarda MSM uygulaması yapılmış ve IC50 değeri hesaplanmıştır. Hücrelere değişen konsantrasyonlarda tamoxifen ile MSM birlikte verilmiş ve MTT testi ile hücre canlılık eğrileri elde edilmiştir. Her iki hücre hattında da 24. ve 72. saat sonunda canlılık grafikleri oluşturulmuştur. ER(+) meme kanseri hücrelerine tamoxifen ile MSM birlikte verildiğinde hücre proliferasyonunun daha da azaldığı gösterilmiştir. Elde edilen veriler, MSM'nin tamoxifen ile kombine kullanılmasının meme kanserinde potansiyel bir tedavi stratejisi olabileceğini düşündürmektedir.

The Effect of tamoxifen's anticancer activity on methylsulfonylmethane ER(+) breast cancer cell lines

Senem Noyan¹, Ali Emre Akpınar¹, Bala Gür Dedeoğlu¹,
Aynur Karadağ²

¹Ankara University Biotechnology Institute

²Usak University, Department of Medical Biology

Breast cancer is a multifactorial and complex genetic disease which exhibits different biological behaviors and treatment sensitivities according to molecular subtypes and receptor expression levels. Luminal subtypes are characterized by the expression of the estrogen receptor (ER) and can be potentially targeted by endocrine therapy. Tamoxifen is a synthetic non-steroid ER antagonist, which used in breast cancer treatment and competes with estrogen via binding to ER. Methylsulfonylmethane (MSM), also known as dimethyl sulphane, is an organic, sulfur-containing compound that is used as a dietary supplement. MSM reduces oxidative stress and inflammation and shows apoptotic or anti-apoptotic effects according to the type of the cell. In this study, the effect of MSM on tamoxifen activity on cell proliferation in ER (+) breast cancer cell lines were investigated. To test this hypothesis, two ER (+) breast cancer cell lines (BT474-MCF7) were treated with MSM and tamoxifen and the effect of MSM on cell viability was examined. Increasing concentrations of MSM was applied to the cells and IC50 values were calculated. Then increasing concentrations of tamoxifen combined with MSM was applied to cells and cell viability curves were obtained by MTT assay. Viability graphs were generated after 24 and 72 hours for both cell lines. It is indicated that cell proliferation is further reduced when tamoxifen and MSM combination was performed at ER (+) breast cancer cells. It could be suggested that the combined use of MSM with tamoxifen may be a potential treatment strategy in breast cancer.

PS - 181

Kemoterapötik ilaç enkapsüle edilmiş aptamer-nanopartikül kompleksinin yalnız ilaç kullanımına göre artan anti-proliferatif etkisi

Göktaş Karabıyık¹, Veli Cengiz Özalp³, Soner Doğan²,
Bilge Güvenç Tuna¹

¹*Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilimdalı, İstanbul*

²*Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilimdalı, İstanbul*

³Kemerburgaz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilimdalı, İstanbul

Meme kanseri günümüzde görülüş ve hastalığa bağlı ölüm oranı yüksek önemli bir kanser tipidir. Kemoterapi gibi metotlarda kullanılan ilaçlar hedefleme yetisine sahip olmadıklarından dolayı, kanserli dokunun yanı sıra, hayati önem taşıyan organlarda da toksik etkiler bırakmaktadırlar. Ayrıca yüksek dozda kullanımlarında kalp gibi hayati organlarda birikerek farklı problemlere sebep oldukları da gözlenmiştir. Son yıllarda hedefli tedavi metotları, ilaç üretimi ve geliştirilmesi alanında önemli bir araştırma konusu olmaya başlamıştır. Aptamerler hedefleyici moleküller olup, tek zincirli DNA veya RNA oligonükleotitlerinden oluşmakta ve üç boyutlu yapılarıyla, bir iyondan bir hücre tipine kadar spesifik ve yüksek afiniteyle hedefleme yapabilmektedirler. Aptamerler bir çok amaçla kullanılmaktadır. Bunlardan biri nanopartiküllere konjuge edilerek, nanopartiküllere hapsedilmiş ilaç moleküllerini, hedef hücre veya dokuya taşımalarına yardım etmektir. Bu şekilde, daha düşük dozlarda ve daha etkili ilaç iletimi ve tedavi sağlanılabileceği hedeflenmektedir. Bu metodon, çevre organ ve dokulara zararı azaltılması da beklenmektedir.

AS1411 aptameri, kanser hücrelerinde aşırı ifade edilen hücre zarında bulunan nucleolin proteinini hedefler. Nucleolin normal şartlarda hücrenin gelişiminde rol alan bir proteindir. Bu çalışmada silika nanopartiküllere konjuge aptamerin, meme kanseri hücrelerini tanıyarak, nanopartikülleri bu hücrelere ulaştırması ve içerdiği kemoterapik ilacı hücre ile etkileşime girdikten sonra salması beklenmektedir.

Bu çalışmada 1-100 μ M Taxol barındıran Aptamer-nanopartikül konjugatının E0771 fare meme kanseri hattında etkisi gözlenmiş ve düşük dozlarda yalnız Taxol'e oranla kanser hücrelerine daha yüksek toksik etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmanın ilerleyen safhalarında, nucleolini daha az miktarda ifade eden hücre hatlarında ilaçlar denenecek ve hedefli tedavinin etkisi gözlenecektir.

Enhanced anti-proliferative effect of Aptamer-Nanoparticle complex in comparison to single chemotherapeutic agent

Göktuğ Karabıyık¹, Veli Cengiz Özalp³, Soner Doğan²,
Bilge Güvenç Tuna¹

¹*Yeditepe University, Medical School, Biophysics Department, Istanbul*

²Yeditepe University, Medical School, Medical Biology Department, Istanbul

³Kemerburgaz University, Medical School, Medical Biology and Genetics Department, Istanbul

Breast cancer is one of the major cancer types with high mortality. Current chemotherapeutic drugs used in cancer treatment, in addition to their cytotoxic effect to cancer cells/tissue, have toxic effect on some vital organs and when high doses are used during treatment accumulation of drug on vital organs has been observed. Targeted therapy is extensively studied on drug development field.

Aptamers are one of the targeting agents formed by single stranded DNA or RNA oligonucleotides which has specific 3-D structure and target specific molecule (ranging from an ion to a cell type) efficiently and specifically. Aptamers are used for many different objectives one of which is to functionalize nanoparticle-chemotherapeutic agent conjugate for targeted therapy. In this manner, lower doses of the chemotherapeutic agent will be presented to the organism thus decrease side effects and accumulation on vital organs. AS1411 is an aptamer which targets nucleolin molecule which is upregulated on breast and prostate cancer. nucleolin has been found on cell surface and inside nucleus. Chemotherapeutic drug will be released when aptamer-target interaction is formed.

In this study, nucleolin targeted aptamer functionalized, silica nanoparticle-Taxol conjugates used to assess the effect of Aptamer-Nanoparticle usage on efficiency of drug delivering and cytotoxic effect. EO771, nucleolin positive mouse mammary tumor cell line, cells treated with 1 to 100 μ M Apt-Np-TXL or TXL. In lower doses, Apt-NP-TXL has higher cytotoxic effect comparing to TXL group. Following this experiment, cytotoxic effect of drugs will be examined on nucleolin negative cell lines.

PS - 182

**Twist1 glukoz transporter 12 ekspresyonunu
indükleyerek glikoz alımını destekler**

Suray Pehlivanoglu¹, Kadriye Aktaş Kont¹, Gökçe Erdoğan², Bahadır Öztürk³

¹Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Konya

²Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü, Antalya

³*Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Bölümü, Konya*

Malign kanser hücreleri yüksek glikoz alımı ve hızlı metabolik faaliyetleri ile karakterizedir. Bu hücreler, aerobik glikoliz sayesinde ihtiyaç duydukları yüksek enerjiyi üretirler. Twist1 transkripsiyon faktörü, kanserde epitelial mezenkimal geçişin ve kötü prognozun temel faktörü olmasının yanı sıra enerji metabolizmasının yeniden programlanmasında da önemli bir rol oynamaktadır. Bu doğrultuda çalışmamızın amacı, henüz tam açıklanmamış olan Twist1'in glukoz alımında ve metabolizmasındaki rolünü araştırmaktır.

293T hücrelerine Twist1 klonlanmış ve boş pcDNA3.1 vektörlerini Lipofectamin2000 (Thermo Fisher Scientific) aracılığıyla transfekte ettik. RNeasy Mini Kit (Qiagen) yardımıyla bu hücrelerden total RNA izolasyonunu gerçekleştirdik ve 1 mikrogram RNA'dan QuantiTect®Reverse Transcription (Qiagen) kiti kullanarak cDNA elde ettik. PCR ürünlerini %1.8'lik agaroz jelde elektroforez yöntemi ile yürüterek görüntüledik. PCR bantlarının yoğunlukları ImageJ programı ile hesapladık. Hücrelerin glukoz alım düzeylerini Glucose Uptake Assay Kit (Abcam) yardımı ile belirledik.

Kontrol 293T hücrelerinde GLUT12 mRNA seviyesinin normal fizyolojik koşullar altında olduğunu belirledik. Twist1-transfekte edilmiş 293T hücrelerinde normale göre GLUT12 mRNA seviyesinde yaklaşık 100 kat oranında artış olduğunu belirledik. Ayrıca Twist1 yüksek ekspresyonu varlığında aerobik glikolizi artıran Hekzokinaz2 ve Laktat Dehidrogenaz-alfa mRNA düzeylerinde de artış belirledik.

Bu çalışmamızda, ilk defa Twist1'in GLUT12 ekspresyonunu artırdığını ve buna bağlı olarak hücrelerde insülin-bağımlı glukoz alımının arttığını belirledik. Literatürde, meme, prostat ve akciğer kanserlerinde GLUT12 ekspresyonunun arttığı ve kanser gelişimini desteklediği saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında, elde ettiğimiz veriler, tümör gelişimini sağlayan glukoz transportu aşamasında Twist1'in yeni bir rolü olduğunu ileri sürmektedir.

Twist1 promotes glucose uptake by stimulation of glucose transporter 12 expression

Suray Pehlivanoglu¹, Kadriye Aktaş Kont¹, Gökçe Erdoğan², Bahadır Öztürk³

¹*Necmettin Erbakan University, Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Konya*

²Akdeniz University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology and Genetics, Antalya

³Selcuk University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Konya

Malignant cancer cells are characterized by high glucose uptake and accelerated metabolism. These cells show higher energy production from aerobic glycolysis. Twist1, a key regulator transcription factor of epithelial-mesenchymal transition and malignant progression, plays an important role in the energy metabolism reprogramming. The aim of this study is to investigate the role of Twist1 in glucose uptake and its mechanism in cancer cells that is still remain unclear.

293T cells were transfected with the pcDNA3.1-empty and pcDNA3.1-Twist1 vectors by Lipofectamine2000 Reagent (Thermo Fisher Scientific). Total RNA was extracted using RNeasy Mini Kit (Qiagen) and 1 microgram of total RNA was reverse transcribed with QuantiTect® Reverse Transcription (Qiagen). The PCR products were electrophoresed on 1.8% agarose gel. The intensity of the PCR product bands was determined and calculated by ImageJ software. Glucose uptake was measured by using Glucose Uptake Assay Kit (Abcam) in cultured cells.

In 293T cells Glucose Transporter 12 (GLUT12) mRNA is detected under normal physiological conditions. Twist1 positive-293T cells show approximately 100 times increased GLUT12 expression than normal 293T cells. Also, we identified Twist1 overexpression promotes expression of Hexokinase 2 and Lactate Dehydrogenase α that utilize aerobic glycolysis in 293T cells.

In this study, we showed for the first time that Twist1 increases GLUT12 expression and accelerates glucose uptake in transfected 293T cells via insulin-dependent manner. According to the literature, GLUT12 expressed at high levels in breast, prostate, and lung cancers. In the light of these facts, our data suggest novel role of Twist1 in glucose transport in tumorigenesis.

PS - 183

Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri EGFR ve/veya K-ras mutasyonuna sahip hastalarda apoptotik ve anti-apoptotik proteinlerin ifadelerinin incelenmesi

Aydın Demiray, Hakan Akça

Pamukkale Üniversitesi

Amaç: Akciğer kanserleri, Dünya genelinde kanser nedenli ölüm sebepleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Prostat ve meme kanserlerinden sonra akciğer kanserleri üçüncü sırada görülmektedir. Akciğer kanserlerinde Epidermal Büyüme Faktör Reseptöründe (EGFR) meydana gelen mutasyonlar özellikle tirozin kinaz bölgesi mutasyonlarıdır. K-ras akciğer kanserlerinde özellikle ekzon 1'de kodon 12 ve 13'de P-loop bölgesinde mutasyon gösterir. Ayrıca ekzon 2'de kodon 61'de switch 1'de mutasyon gösterir. KHDAK tümörlerinde anti apoptotik proteinlerinin ifadeleri artarken, proapoptotik moleküllerinin ifadelerinde azalma rapor edilmiştir. Gereç-Yöntem: Parafine gömülü biopsi/ameliyat materyalleri FFPE (qiagen) kit kullanılarak DNA ve RNA izole edilmiştir. Mutasyon analizleri pyrosequencing yöntemi ile yapılmıştır. Protein seviyeleri Taqman prob (roche) kullanılarak, 540 nm de ROCHE LIGHTCYCLER 480 II cihazında ölçüldü. Sonuçlar spps 17.0 programında T testi ve fold analiz ile değerlendirilmiştir. Bulgular: Üç yüz hastada yapılan analizde; EGFR mutasyonuna sahip hastaların bax, p53, PTEN, FADD ve TNFR ifadeleri azalırken bcl2 ve survivin ifadeleri artmaktadır. KRAS mutasyonunda apoptotik genlerin ifadeleri azalırken anti-apoptotik genlerin ifadelerinde artış meydana gelmiştir. EGFR-KRAS mutasyonunda da apoptotik genlerin ifadeleri azalırken anti-apoptotik genlerin ifadelerinde artış meydana gelmiştir. Sonuç: Literatür incelemesi sonucunda apoptotik olan bax, p53, PTEN, FADD ve TNFR ifadelerinde ki azalış ve anti-apoptotik olan bcl-2 ve survivin artışı anlamlı bulunmuştur. Yapmış olduğumuz çalışmada EGFR mutasyonu,ve/veya KRAS mutasyonunun sahip hastaların PI3K/Akt/Nf-kB yoluğı üzerinden anti apoptotik Bcl-2 ve survivin ifadelerinin artığını düşünmekteyiz. Bunun sonucunda da FOXO 3 transkripsiyon faktörünün PI3K/Akt/Nf-kB yoluğı üzerinden bloke olması sonucu proapoptotik BAD, FAS ve TNFR moleküllerinin baskılandığı ve PI3K/Akt/Nf-kB yoluğından p53'ün baskılandığını düşünmekteyiz.

Investigation of the expressions apoptotic and anti-apoptotic proteins in non-small cell lung cancer Patients with and without Egfr/K-ras Mutations

Aydın Demiray, Hakan Akça

Pamukkale University

Objective: Lung cancer is the leading cause of cancer death in the World. Breast and prostate cancers are more common than lung cancer. Mutations in the EGFR gene are critical determinants of treatment with Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors (TKIs) to non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. K-ras mutations with nsclc patients especially are determined codon 12-13 on P-loop region in exon 1 and codon 61 on switch 1 in exon 2. It was reported that while apoptotic proteins expression was decreased and antiapoptotic proteins expression was increased in NSCLC tumor.

Materials-Methods: DNA and RNA isolation with paraffin embedded tissue was used FFPE (qiagen) kit. Mutations analysis was used pyrosequencing system. We have performed qRTPCR assay, based on fluorescent TaqMan methodology, to quantify apoptotic and antiapoptotic genes expressions at the mRNA level in NSCLC tumors. All statistical analyses were performed by using the SPSS 17.0 statistical package program.

Results: Three hundred patients was detected that bax, p53, PTEN, FADD and TNFR gene expression levels was decreased and bcl2-survivin gene expression increased in NSCLC with EGFR mutations and K-ras mutations or both mutations.

Conclusion: This result is similarly to previous report that bax, p53, PTEN, FADD and TNFR gene expression levels was decreased and bcl2-survivin gene expression increased. Our this result was suggested Bcl-2 and surviving gene expression increased on PI3K/Akt/Nf-kB pathway in nslc with EGFR, K-ras mutations or both mutations PI3K/Akt/Nf-kB pathway blocked the transcriptional factor of the FOXO3 gene, so the expression of the others genes decreased.

PS - 184

MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında CAPE ve zebularin terapisi sonrasında kaspaz-9, kaspaz-7 ve DNMT3A genlerinin ekspresyon değişikliklerinin incelenmesi

Onur Eroğlu¹, Esin Güvenir Çelik², Hacer Kaya², Merve Çelen², Gülçin Günden³

¹Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Biyoteknoloji Araştırma Merkezi, Bilecik, Türkiye

²Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilecik, Türkiye

³Eskişehir Osmangazi Üniversitesi,Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,Eskişehir, Türkiye

Amaç: Kanser uygulamalarında yüksek doz kemoterapötik ilaçların kullanılması sitotoksik etki yaratabilir. Bu çalışmada, CAPE ve Zebularinin (ZEB) kombine kullanılması ile ilaçların sitotoksik etkileri ortadan kaldırılması hedeflendi. Sonrasında, meme kanserinde apoptotik yolakla ilişkili genlerin regülasyonu epigenetik olarak immüno-blotlama ile incelendi. Gereç-Yöntem: İlaç dozları MTT testi ile belirlendi. Protein izolasyonu kontrol ve ilaç uygulanan gruplarda gerçekleştirildi. Kaspaz-9, kaspaz-7 ve DNMT3A genlerinin ekspresyon seviyeleri immüno-blotlama (LICOR-CLX) ile ve protein bantlarının yoğunlukları Image J programı ile analiz edildi. Sonuçlar için GraphPad Prism 6 istatistik programı kullanılarak two-way ANOVA testi yapıldı.

Bulgular: 70µM CAPE, 80µM ZEB ve kombine (CAPE+ZEB) ilaç uygulamasından sonra hücre canlılıkları sırasıyla %51.9, %59.7 ve % 65 olarak belirlendi. İlaçların kombine ve tek kullanımları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; kaspaz-9 ve kaspaz-7 ekspresyon seviyeleri kombine terapi uygulaması ile artış gösterdiği ve DNMT3A ekspresyonunun azaldığı gözlemlendi.

Sonuç: Bu çalışmada, literatürde ilk defa CAPE ve Zebularinin kombine ilaç olarak kullanımı gerçekleştirildi. Sonuçlara göre CAPE-Zebularinin kombine tedavisi kaspazlar yoluyla apoptoza neden olmakta, apoptotik genlerin artan seviyeleri CAPE, Zebularine ve kombine tedaviyle intrinsek apoptozu tetiklemekte ve buna ek olarak, DNMT3A'nın ekspresyonunu azaltmakta, tümörün ilerlemesini inhibe etmektedir. Ayrıca kombine tedavi, ilaçların sitotoksik etkilerini azaltmaktadır. Bulgular, kombine terapi ve kansere karşı mücadele yolu ile sitotoksik etkilerin ortadan kaldırılması açısından son derece önemlidir.

Analysis of expression changes in caspase-9, caspase-7 and DNMT3A genes treated with CAPE and zebularine in MDA-MB-231 breast cancer cell line by westernblot

Onur Eroğlu¹, Esin Güvenir Çelik², Hacer Kaya², Merve Çelen², Gülçin Günden³

¹Bilecik Şeyh Edebali University, Biotechnology Research Center, Bilecik, Turkey

²Bilecik Şeyh Edebali University, Faculty of Science and Letters, Department of Molecular Biology and Genetics, Bilecik, Turkey

³Eskisehir Osmangazi University, Medical Faculty, Department of Medical Genetics, Eskisehir, Turkey

Objective: High dose chemotherapeutic drugs used in cancer treatment may have cytotoxic effects. In this study, cytotoxic effects of the drugs were annihilated by the combined use of CAPE and Zebularine. Then, the regulation of genes which were related to apoptotic pathway in breast cancer was studied epigenetically by western blotting.

Materials-Methods: Drug doses were determined by MTT assay. Protein isolation was performed both control groups and the drug-treated cells. Expression levels of caspase-9, caspase-7 and DNMT3A genes were analysed by western blotting (LICOR-CLX). The density of protein bands were analyzed by Image J program, also results were analyzed by two-way ANOVA using GraphPad Prism 6 statistically.

Results: After drug treatment we observed the amount of cell viabilities for 70μM CAPE, 80μM ZEB and combine treatment by 51.9%, 59.7% and 65% respectively. We compared single drug treatment and combine treatment of drugs with control group. Caspase-9 and caspase-7 expression levels were increased with using combine therapy. However we observed reduced expression of DNMT3A.

Conclusion: In this study, we clarified for the first time in literature with using combine therapy of CAPE-Zebularine. As a result of the findings, combined therapy of Zebularin-CAPE induces apoptosis through caspases. Increasing levels of apoptotic genes can triggered intrinsic apoptosis by CAPE, Zebularine and treatment both. In addition decreasing expression of DNMT3A could be inhibit the tumor progression. Also combined therapy decreases the cytotoxic effects of drugs. The findings are highly important in terms of annihilation of cytotoxic effects through combined therapy and the fight against cancer.

PS - 185

U87 beyin kanseri hücre hattında astaksantin' in apoptoz ve hücre döngüsü üzerine etkilerinin değerlendirilmesi

Fatma Söğütü¹, Besra Özmen Yelken¹, Çağla Kayabaşı¹,
Aycan Aşık¹, Tuğçe Balcı Okcanoğlu², Roya Gasımlı¹,
Sunde Yılmaz Süslüer¹, Çığır Biray Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ege üniversitesi, İzmir, Türkiye

²Sağlık hizmetleri meslek yüksek okulu, Lefkoşa Kıbrıs

Amaç: Beyin, farmakolojik bileşiklerin iletiminin sağlanamadığı erişilmesi en zor olan organlardan biridir. Astaksantin sahip olduğu antioksidan özelliği sayesinde kan beyin bariyerini geçebilmektedir.

Çalışmamızda Astaksantin'in, beyin kanseri hücre hattında apoptoz, hücre döngüsü ayrıca migrasyonu üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. **Gereç-Yöntem:** Bu çalışmada, U87 hücre hattında Astaxantin'in sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla XCELLigence Real-Time Cell Analyzer kullanılmıştır. Astaksantin'in IC50 dozuyla (19.5 nM-80 µM) muamele edildikten sonra U87 hücre hattında apoptozu ve hücre döngüsündeki değişiklikler sırasıyla Annexin V-EGFP Apoptosis Detection Kit ve Cycle test Plus DNA Reagent Kit ile belirlenmiştir. Apoptoz ve hücre döngüsü testinin sonuçları Flow cytometry'de incelenmiştir. Doz uygulanmayan grup kontrol olarak alınmıştır.

Bulgular: Astaksantinin IC50 dozu zamana ve doza bağlı olarak XCELLigence RTCA SP'de 48. Saatte 9.20 μ M olarak hesaplanmıştır. Astaksantinin IC50 dozunun uygulandığı U87 hücrelerinde migrasyonu yeteneğinin %25 oranında azaldığı saptanmıştır. Ayrıca Astaksantin U87 hücre hattında hücre canlılığı üzerine apoptotik bir etkisinin olmadığı ve hücre döngüsünde ise G2/M fazında(1.15 kat) ve S fazında(1.41 kat) hücre arrestine sebep olmuştur.

Sonuç: Astaksantinin antikanser etkisinin daha fazla araştırılmasına ihtiyaç vardır.

The Effect of Astaxanthin on apoptosis and cell arrest in U87 brain cancer cell line

Fatma Söğütü¹, Besra Özmen Yelken¹, Çağla Kayabaşı¹,
Aycan Aşık¹, Tuğçe Balcı Okcanoğlu², Roya Gasımlı¹,
Sunde Yılmaz Süslüer¹, Çığır Biray Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Medical biology department, Ege university, İzmir, Turkey

²Near East University, Vocational School of Health Sciences,
Nicosia cyprus

Objective: The brain cancer are the most common cancer among those age 0-19. The brain one of the least accessible organ that active pharmacological compounds can not be delivered. Astaxanthin with its extraordinarily potent antioxidant properties can cross blood-brain barrier.

In this study, we aimed to evaluate the effects of astaxanthin on apoptosis, cell cycle and also migration in brain cancer cell line.

Materials-Methods: In present study, XCELLigence Real-Time Cell Analyzer was used so as to determine cytotoxic effect of astaxanthin in U87 cell line. Changes of apoptosis and cell cycle in U87 cell line exposed to IC50 dose of astaxanthin (19.5 nM–80 IM) are detected with Annexin V-EGFP Apoptosis Detection Kit and Cycle test Plus DNA Reagent Kit with FACS, respectively. The result of apoptosis and cell cycle test was analysed in flow cytometry. The group to which active substance was not treated was used as controlled. The wound healing assay performed in order to measure migration ability of U87 cell line to which astaxanthin was treated or not.

Results: in our study, IC50 dose of astaxanthin was calculated as 9.20 μ M at 48 h by XCELLigence RTCA SP based on time and dose. Astaxanthin decreased the migration ability at rate of 25% in U87 cells treated by IC50 dose of astaxanthin. Astaxanthin had no apoptotic effect on viability in U87 cell line and astaxanthin caused an increase of G2/M phase arrest (1.15 fold) and S phase arrest (1.41 fold).

Conclusion: The effect of anticancer of astaxanthin should be researched further.

PS - 186

Pankreatik kanserde onkojenik EF-2 kinaz'ın mikroçevre aracılı düzenlenmesi ve terapötik hedeflenmesinin incelenmesi

Didem Karakaş¹, Engin Ulukaya¹, Bülent Özpolat²

¹Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

²Department of Experimental Therapeutics, The University of Texas- MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas, USA

Amaç: Ökaryotik elongasyon faktörü 2 kinaz (EF2K), kanser hücrelerinde artmış aktivite gösteren ve stres koşullarında kanser hücrelerinin hayatta kalmasında rol alan bir enzimdir. EF2K, pankreatik kanserde invazyon sürecinde rol almaktadır ve inhibisyonu ile apoptozis tetiklenmektedir. Bu enzimin tümör mikroçevresi ile arasındaki etkileşim henüz bilinmemektedir. Bu nedenle, bu çalışmada EF2K enzimi ve tümör mikroçevresi arasındaki etkileşim ve bu etkileşimin yeni terapötik yaklaşımlara olan etkileri incelendi.

Gereç-Yöntem: PANC1 pankreatik kanser hücreleri ile monositlerden polarize edilen makrofajlar kokültüre edildi ve PANC1 hücrelerinde EF2K ekspresyonu, hücre migrasyonu ve invazyonundaki değişimler incelendi. Kokültür sonrası, tümör mikroçevresindeki önemli kemokinlerden olan monosit kemoattractan proteinini (MCP-1) düzeyi ELISA ile ölçüldü. MCP-1'in PANC1 hücrelerinde EF2K ekspresyonu ve migrasyon üzerine etkileri ve monosit-makrofaj polarizasyonu üzerine etkileri incelendi. MCP-1 ile EF2K arasındaki etkileşimi göstermek amacıyla, EF2K overeksprese eden PANC1 hücrelerinde MCP-1 düzeyi ölçüldü. Ardından, siRNA teknolojisiyle EF2K proteinini in vitro ve in vivo baskılanarak, hücre migrasyonunda, invazyonunda ve MCP-1 düzeylerindeki değişimler incelendi. Tümör proliferasyonu ve tümöre infiltre olan protümörijenik makrofajlar (TAM) immünohistokimyasal boyama ile gösterildi.

Bulgular: Tümör mikroçevresinin EF2K ve MCP-1 ekspresyonunda, dolayısıyla hücre migrasyon ve invazyonunda artışa yol açtığı gösterildi. MCP-1'in EF2K artışında önemli rol aldığı ve ayrıca artmış EF2K düzeylerinin de MCP-1 proteinini arttırdığı bulundu. MCP-1'in monositleri protümörjenik makrofajlara farklılaştırdığı görüldü. EF2K in vitro ve in vivo susturulduğunda, MCP-1 düzeyinin, hücre invazyon, migrasyon ve tümör proliferasyonunun azaldığı gösterildi. EF2K susturulmasıyla TAM sayısında azalma oldu.

Sonuç: EF2K inhibisyonu ile hem kanser hücreleri hem de makrofajların hedeflenmesinin pankreatik kanser tedavisi için umut verici bir yaklaşım olabileceği sonucuna varıldı.

Identification of microenvironmental regulation and therapeutic targeting of oncogenic EF-2 kinase in pancreatic cancer

Didem Karakaş¹, Engin Ulukaya¹, Bülent Özpolat²

¹Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medical School, Istinye University, Turkey

²Department of Experimental Therapeutics, The University of Texas- MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas, USA

Objective: Eukaryotic elongation factor 2 kinase (EF2K) is overexpressed in cancer cells that plays important role in cell survival under stress conditions. EF2K participate in invasion of pancreatic cancer and its inhibition triggers apoptosis. There is no study that have shown the relationship between EF2K and tumor microenvironment. Therefore, in this study we investigated that the interaction between EF2K and tumor microenvironment.

Materials-Methods: PANC1 cells were co-cultured with macrophages and the changes in EF2K expression, cell migration and invasion were analyzed. After the coculture, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) levels were analyzed using ELISA. The effects of MCP-1 on EF2K expression and cell migration in PANC1 cells and also its effects on the polarization of monocytes to macrophages were investigated. Then, EF2K was stably overexpressed in PANC1 cells and MCP-1 levels were measured. EF2K protein was silenced using siRNA (in vitro and in vivo) and the changes in cell migration, invasion and MCP-1 levels were investigated. Tumor proliferation and tumor-infiltrated macrophages (TAMs) were shown using immunohistochemical staining.

Results: Tumor microenvironment caused an increase in EF2K and MCP-1 levels and thus accelerated cell migration and invasion. MCP-1 increased EF2K protein expression and elevated levels of EF2K also increased MCP-1. MCP-1 also caused differentiation of monocytes to pro-tumorigenic macrophages. In vitro and in vivo silencing of EF2K decreased MCP-1 protein levels, cell migration, invasion and tumor proliferation. EF2K also decreased the number of TAMs.

Conclusion: Targeting both tumor cells and macrophages through EF2K inhibition might be a promising strategy for pancreatic cancer treatment.

PS - 187

Üç insan kanser hücre hattında yeni benzimidazol türevi ORT75'in P53 gen ekspresyonu ve hücre apoptozu üzerindeki etkisi

Gülray Gülbol Duran¹, Nizami Duran², Öztekin Algül³, Ayşe Yıldırım⁴, Mehmet Yıldız⁵, Atilla Yoldaş⁶, Funda Çimen², Ronak Haj Ersan³, Büşra Gül Ertürk³

¹Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Hatay

²Mustafa Kemal Üniversitesi,Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı, Hatay

³Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Mersin

⁴Mustafa Kemal Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Hatay

⁵Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Mersin

⁶Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksekokulu, Anatomi Anabilim Dalı, Kahramanmaraş

Amaç: Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların yan etkilerinden dolayı, yeni ilaç araştırmaları konusunda çalışmalar yoğun olarak sürdürülmektedir. Benzimidazol türevi bileşikler yeni etkili bileşik geliştirme çalışmalarında ümit vadetmektedir. Özellikle ikinci ve beşinci konumlarında sübstitüe benzimidazol türevi bileşiklerin antikanser aktivitelerinin dikkat çektiği çalışmalarla gösterilmiştir. Çalışmada bu yapıdaki yeni benzimidazol türevi bileşik ORT75(5-Kloro-2-(4-hidroksifenetil)-1H-benzimidazol)'in insan kanser hatlarında antitümoral etkilerini, hücre apoptozu ve p53 ekspresyonu üzerinde değerlendirmeyi amaçladık

Gereç-Yöntem: Çalışmada A549(akciğeradenokarsinoma), A498(böbrekkarsinoma) ve A375(meloma) hatları, kontrol olarak Vero hücre hattı kullanıldı. Hücre kültürleri ml'de 1×10^5 hücre olacak şekilde hazırlanıp, 6 saatlik inkübasyondan sonra ORT75'in farklı konsantrasyonları eklendi. Sitotoksite çalışmaları MTT ve xCELLigence sisteme yapıldı. Apoptozis akridinorange/ethidiumbromide boyama ile morfolojik olarak belirlendi ve p53 ekspresyonu real-time PCR yöntemiyle araştırıldı.

Bulgular: Hücreler ORT75'le muamelelerinin 8. ve 24.saatlerinde apoptotik indeksleri(AI) açısından değerlendirildi. ORT75'in AI'nin A549 hattında 8 saatlik inkübasyonda 0.04ug/ml konsantrasyonda 33, 24.saatte 44 olduğu, kontrol olarak seçilen methotraxatin(MTX) ise AI'nin 8. saatte 43, 24.saatte 57 olduğu saptandı.MTX ile ORT75 AI oranları anlamlı fark gösterecekti($p<0.05$), ORT75'in oldukçayüksek aktivite gösterdiği saptandı. Benzer etkiler A498 ve A375 hücre hatlarındada saptandı. p53 ekspresyonu açısından 8 saatlik inkübasyonda ORT75 ile MTX arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilirken($p<0.05$), 24 saat sonunda iki grup arasında anlamlı bir farkın olmadığı saptandı($p>0.05$).

Sonuç: Yeni sentezlenen benzimidazol türevi bileşik ORT75'in, üç insan kanser hücre hattında oldukça yüksek antiproliferatif etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Effect of new benzimidazole derivate ORT75 on P53 gene expression and cell apoptosis in three human cancer cell lines

Gülay Gülbol Duran¹, Nizami Duran², Öztekin Algül³, Ayşe Yıldırım⁴, Mehmet Yıldız⁵, Atilla Yoldaş⁶, Funda Çimen², Ronak Haj Ersan³, Büşra Gül Ertürk³

¹*Mustafa Kemal University, Medical Faculty, Department of Medical Biology, Hatay*

²Mustafa Kemal University, Medical Faculty, Department of Medical Microbiology, Hatay

³Mersin University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Mersin

⁴Mustafa Kemal University, Medical Faculty, Department of Histology and Embryology, Hatay

⁵Mersin University, Medical Faculty, Department of Pathology, Mersin

⁶Kahramanmaraş Sutcu Imam University, School Of Physical Therapy And Rehabilitation, Department of Anatomy, Kahramanmaraş

Objective: Due to serious side effects of drugs used in cancer treatment, studies on new drug researches are being carried out intensively. Benzimidazole-derived compounds have been identified as promising in new compound development studies. It was aimed to evaluate the antitumor effects of the novel benzimidazole derivative compound ORT75 (5-Chloro-2-(4-hydroxyphenethyl)-1H-benzimidazole) on p53 gene expression and apoptosis in human cancer cell-lines.

Materials-Methods: A549 (lungadenocarcinoma), A498(renalcarcinoma) and A375(melanoma) cell-lines were used in the study and the Vero cell-line was used as a control. Cell cultures were prepared to be 1×10^5 cells in ml, and after 6 hours of incubation, different concentrations of ORT75 were added to the cell-cultures. Cytotoxicity studies were performed with MTT method and xCELLIGENCESystems. Apoptosis was determined morphologically with acridinorange/ethidiumbromide staining and p53 expression was investigated by Real-timePCR.

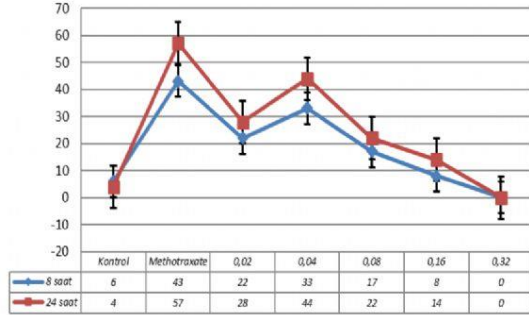
Results: Cells were evaluated for apoptotic index(AI) at 8th and 24th hours of their treatment with the ORT75. The AI of ORT75 was 33at the concentration of 0.04µg/ml in the A549 line at the 8th and 44 at the 24thhour of incubation,whereas the AI was found to be 43 for methotraxatine(MTX) selected as the control drug at the 8thhour of incubation and 57 at the 24thhour of incubation. There was a significant difference in AI between MTX and ORT75($p<0.05$). While a significant difference was found between ORT75 and MTX at the 8th hour of incubation for p53 expression($p<0.05$), there was no significant difference between the two groups at the 24 hours of incubation($p>0.05$).

Conclusion: The newly synthesized benzimidazole derivative compound ORT75 is found to have very high anti-proliferative effect in three humancancer cell-lines.

TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje No: 113S929)

A549 Hücre Kültüründe ORT75'in Apoptotik Hücre İndeksi

Apoptotic Cell Index of ORT75 in A549 Cell Culture



PS - 188

İnsan akciğer kanser hücrelerinde ve insan akciğer dokusunda UCMA ekspresyon seviyeleri

Hamza Malik Okuyan¹, Meral Urhan Küçük², Tülin Durgun Yetim³, Menderes Yusuf Terzi², Cansu Önen Güneri¹, Duygu Tap⁴, Sedat Koçal³, Kerem Karaaslan³

¹Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Hatay, Türkiye

²Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

³Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

⁴Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyokimya ve Genetik Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

Akciğer kanseri tüm dünyada, kanserden ölümlerin en önemli nedenidir. Akciğer kanseri patogeneğinde inflamasyon önemli rol oynamaktadır. K vitaminine bağımlı protein ailesinin en yeni üyelerinden olan UCMA'nın (Upper Zone of Growth Plate and Cartilage Matrix Associated) moleküler fonksiyonu henüz tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda UCMA'nın patolojik kalsifikasyon ve kanser ile ilişkili olduğu rapor edilmekle birlikte, ayrıca UCMA'nın inflamatuvar süreçlerle de ilişkili olabileceği ifade edilmektedir. Bu çalışmada, UCMA'nın akciğer kanserindeki rolünü incelemeyi amaçladık. Çalışmamızda, A549 akciğer kanseri hücreleri, inflamasyonu uyarmak amacıyla, farklı doz ve sürelerde (1, 3 ve 5 ng/ml; 3, 6, ve 24 saat), pro-inflamatuvar sitokin IL-1β'e maruz bırakılmıştır. Süre sonunda hücrelerden total RNA izolasyonu gerçekleştirilerek elde edilen RNA'ların revers transkriptaz PCR ile cDNA sentezi gerçekleştirilmiş ve NF-κB1, MMP1 ve UCMA gen ekspresyon seviyeleri real time qPCR ile analiz edilmiştir. Ayrıca, UCMA'nın sağlıklı insan akciğer dokusunda ekspresyon durumunu belirlemek için ticari olarak satın alınan insan akciğer doku total RNA'larında da UCMA gen ekspresyon seviyeleri analiz edilmiştir. Çalışmamızda, insan akciğer doku RNA'larındaki UCMA ekspresyon seviyelerinin oldukça düşük olduğunu belirledik. A549 kanser hücrelerinin IL-1β ile uyarılma sonrasında NF-κB1 ve MMP1 gen

ekspresyon seviyelerinde artış olduğunu ($p < 0.05$) aksine UCMA'nın IL-1β ile uyarılmadan etkilenmediğini gözlemledik ($p > 0.05$). UCMA kondrositlerde fazlaca ifade edilse de, UCMA'nın kırıkdağa özgü bir protein olmadığını biliyoruz. Sonuç olarak, UCMA'nın akciğer kanserinin moleküler patogeneğinde etkin bir rolü olmayabilir. Bununla birlikte, UCMA'nın insanlardaki diğer hastalıklarla ilişkili rolü keşfedilmeye açıktır.

Expression levels of UCMA in human lung cancer cells and human lung tissue

Hamza Malik Okuyan¹, Meral Urhan Küçük², Tülin Durgun Yetim³, Menderes Yusuf Terzi², Cansu Önen Güneri¹, Duygu Tap⁴, Sedat Koçal³, Kerem Karaaslan³

¹Mustafa Kemal University, Hatay Vocational School of Health Services, Hatay, Turkey

²Mustafa Kemal University, Medical Faculty, Department of Medical Biology, Hatay, Turkey

³Mustafa Kemal University, Medical Faculty, Department of Thoracic Surgery, Hatay, Turkey

⁴Mustafa Kemal University, Health Sciences Institute, Department of Molecular Biochemistry and Genetics, Hatay, Turkey

Lung cancer is primary cause of deaths from cancer worldwide. Inflammation plays crucial role in lung cancer pathogenesis. Molecular function of UCMA (Upper Zone of Growth Plate and Cartilage Matrix Associated), a novel member of vitamin K-dependent protein family, is not known. Along with studies reporting UCMA as in association with pathological calcification and cancer, UCMA is suggested as in connection also with inflammatory processes. In current study, we aimed to investigate role of UCMA in lung cancer. In our study, A549 lung cancer cells were treated with pro-inflammatory cytokine, IL-1β, at different concentrations and periods (1, 3, 5 ng/ml; 3, 6, 24 hours) to stimulate inflammation. Then, RNA isolation was performed and samples were reverse transcribed into cDNA with RT-PCR. Finally gene expression levels of NF-κB1, MMP1 and UCMA were analyzed with real time qPCR. Besides, to analyze UCMA expression pattern in healthy human lung tissue, levels of UCMA were detected in human lung RNA which was purchased commercially. We detected UCMA levels in total RNA of human lung tissue as notably low. Besides, we observed that although expression levels of NF-κB1 and MMP1 increased significantly in IL-1β-induced A549 cell line ($p < 0.05$), IL-1β induction didn't affect UCMA expression levels ($p > 0.05$). Despite the fact that, UCMA is expressed mostly in chondrocytes, we known it isn't a cartilage tissue specific protein. Consequently, UCMA may not have an effective role in molecular pathogenesis of lung cancer. Besides, role of UCMA related to other diseases in humans is available to be further discovered.

Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 16441).

PS - 190

Akut lenfoblastik löseminin yeni umut veren yıldızları: ruxolitinib ve B1BR1532

Neslihan Pınar Özateş Ay, Bakiye Göker Bağcı, Fatma Doğan, Çığır Biray Avcı, Cumhuriyet Gündüz

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir

Akut lenfoblastik lösemi (ALL), kemik iliği veya diğer lenfoid dokulardaki lenfoid progenitör hücrelerin farklılaşma ve çoğalma anomalilerinden kaynaklanan hematolojik malignitedir. ALL insidansı çocuklarda daha yüksek olmasına rağmen, yetişkinlerle benzer mekanizmalarla tetiklenir. Bunlar temel olarak proto-onkogenlerin veya tümör supresörlerin anormal ekspresyonu, anormal kromozomal duplikasyonlar, füzyon protein oluşturarak anormal tirozin kinaz aktivitesi ve transkripsiyon faktörlerinin hasarına neden olan kromozomal bozukluklar olarak özetlenebilir. JAK / STAT sinyal yolağı, büyüme faktörleri ve sitokinlere yanıtta rol oynadığı için lösemi tedavisinde en uygun hedeflerden biridir. Ruxolitinib, miyelofibroz ve polisitemi vera tedavisinde kullanılan, protein tirozin kinazlardan Janus kinaz ailesinin (JAK) bir inhibitörüdür. Ayrıca, telomeras inhibitörleri çoğalmayı ve büyümeyi önleyen bir diğer önemli antikanser ajanlardır. BIBR1532, keşfedildiği günden beri, oldukça etkili bir hTERT inhibitörü olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, umut veren bu iki ajanın yetişkin akut lenfoblastik lösemi hücre hattı olan CCRF-CEM üzerine sitotoksik etkileri WST-8 analiziyle, tedavi edilmemiş kontrol grubu ile kıyaslanarak araştırılmıştır. 48 saat sonunda Ruxolitinib ve BIBR1532'nin CCRF-CEM hücre hattında IC₅₀ dozları sırasıyla 142 ve 89 µM olarak tespit edilmiştir. Kombinasyon IC₅₀ değerleri ise her bir etken madde için 40uM olarak belirlenmiştir.

Kombinasyon denemeleri, iki ajanın birlikte kullanıldığında apoptotik etkilerinin belirgin bir şekilde arttığını ve bu yolda yer alan genlerin ifadelerinde anlamlı seviyelerde değişiklik olduğunu göstermiştir.

New promising stars of acute lymphoblastic leukemia: ruxolitinib and B1BR1532

Neslihan Pınar Özateş Ay, Bakiye Göker Bağca, Fatma Doğan, Çığır Biray Avcı, Cumhuriyet Gündüz

Department of Medical Biology, School of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is a hematologic malignancy arises from anormality of differentiation and proliferation of lymphoid progenitor cells in bone marrow or other lymphoid tissues. Although the incidence is higher in children, induction of ALL triggers similar molecular mechanism with adult such as abnormal expression of proto-oncogenes or tumor suppressors, anormal chromosomal duplications and chromosomal disorders causing a fusion protein responsible for tyrosine kinase activity and damaged transcription factors. JAK/STAT signaling pathway is one of the most appropriate targets in the treatment of leukemia, as it plays a role in the response to growth factors and cytokines. Ruxolitinib is an inhibitor of Janus kinase family of protein tyrosine kinases (JAKS). On the other hand, telomerase inhibitors are the other important anticancer agents with antiproliferative and antigrowth manner. BIBR1532 has been used as a quite effective inhibitor of hTERT since the day it was discovered. In this study, we aimed to investigate the cytotoxic effects of these two promising agents with WST-8 analysis on adult acute lymphoblastic leukemia cell line CCRF-CEM compared to the untreated control group. The IC₅₀ doses of ruxolitinib and BIBR1532 were detected as 142μM and 89 μM, respectively for 48nd hour on CCRF-CEM cell line. IC₅₀ values of combination were determined as 40uM and 40uM at 48th hour, respectively.

Combination trials have shown that when two agents are used together, their apoptotic effects are increased remarkably and also significant changes in expression levels of the genes involved in this pathway were found.

PS - 191

Doksorubisin dirençli K562 hücre hattında ilaç direnci ve wnt sinyal yolağıyla ilişkili genlerin ifade analizleri

Pelin Mutlu¹, Serap Yalçın Azarkan², Negar Taghavi
Pourianazar³, Meral Yücel³, Ufuk Gündüz³

¹Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Merkez Laboratuvarı, Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Ar-Ge, Ankara, Türkiye

²Ahi Evran Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Kırşehir, Türkiye

³Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye

Amaç: Wnt sinyal iletimi aktivasyonunun, bazı kanser türlerinin patogenezindeki rolü ve kemoterapi direnci ile olan ilişkisi son yıllarda üzerinde durulan oldukça ilgi çekici bir konudur. β -katenin aktivitesindeki artışın blast transformasyonu ve ilaç dirençliliği açısından önemli olduğu bilinmekle birlikte altta yatan mekanizmalar hala büyük ölçüde açıklanamamıştır. Bu sinyal yolunda görev yapan moleküllerin gen ifade düzeylerinde meydana gelen değişiklikler birçok kanser türünün ortaya çıkmasına neden olabilmektedir.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada, Doksorubisin'e duyarlı ve dirençli K562 (kronik miyeloid lösemi) hücre hatlarında Wnt sinyal yolları ve ilaç dirençliliğinde önemli olduğu düşünülen toplam 186 gen seçilerek qPCR yöntemi ile gen ifade düzeylerinde meydana gelen değişiklikler belirlenmeye çalışılmıştır. İfade düzeyleri 2 kattan daha fazla veya daha az değişiklik gösterenler anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular: Doksorubisin dirençli K562 hücre hattında, Wnt sinyal iletim yolağında rol oynayan genlerden 6'sında istatistiksel olarak anlamlı oranda artış ve 11'inde azalma olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, ilaç direnciyle ilgili genlerin 9'unda, ABCB1 geni 103 kat olmak üzere, önemli oranda artış ve 11'inde, ABCC1 geni 305 kat olmak üzere, önemli oranda azalma olduğu gösterilmiştir.

Sonuç: Bu çalışma, kronik miyeloid lösemide ilaç direnci ve Wnt sinyal yolu arasındaki ilişkiyi açıklamaya çalışan in vitro bir çalışmadır. Bu çalışmadan elde edilen verilerle, kronik miyeloid lösemide Doksorubisin direnci ile ilişkili olan Wnt sinyal yollarında yeni tanısıl, prognostik ve terapötik aday moleküller öne sürülecektir.

Gene expression analysis related to drug resistance and wnt signaling pathway in doxorubicin resistant K562 cell line

Pelin Mutlu¹, Serap Yalçın Azarkan², Negar Taghavi
Pourianazar³, Meral Yücel³, Ufuk Gündüz³

¹Middle East Technical University, Central Laboratory, Molecular Biology and Biotechnology R&D, Ankara, Turkey

²Ahi Evran University, Department of Molecular Biology and Genetics, Kırşehir, Turkey

³Middle East Technical University, Department of Biology, Ankara, Turkey

Objective: Activation of the Wnt signal transduction in the pathogenesis of some types of malignancies and also its relation with chemotherapy resistance is a very interesting issue that has been emphasized in recent years. Although, it is known that increase in the activity of β -catenin is important in blast transformation and drug resistance, the underlying mechanisms are still unclear. Changes in the expression levels of the genes that take part in this signaling pathway, may lead to the emergence of various types of cancer.

Materials-Methods: In this study, changes in the expression levels of 186 genes that are thought to be important in drug resistance and Wnt signaling pathways were determined by using qPCR method in Doxorubicin sensitive and resistant K562 cell lines. Genes that were up or downregulated more than 2-folds were considered as significant.

Results: Among the genes that have role in Wnt signal transduction pathway, 6 of them were significantly upregulated and 11 of them downregulated in doxorubicin resistant K562 cell line. However, 9 of the genes that are related to drug resistance were upregulated being ABCB1 gene was significantly overexpressed as 103 folds and 11 of them downregulated being ABCC1 gene was significantly downregulated as 305 folds.

Conclusion: This report provides an in vitro study to the relationship between drug resistance and Wnt signaling pathway in chronic myeloid leukemia. With the data obtained from this study, new diagnostic, prognostic and therapeutic candidate molecules in Wnt signaling pathways can be put forward which are related to Doxorubicin resistance in chronic myeloid leukemia.

TÜBİTAK 3001 projesi (214S634) ile desteklenmiştir.

PS - 192

Furan-azometin bileşimli yeni bir silisyum ftalosiyinin sentezi ve HCT-116 kolorektal kanser hücrelerine karşı fotodinamik terapi etkinliğinin araştırılması

Ceren Sarı¹, Rıza Bayrak², Figen Celep Eyüpoğlu³, İsmail Değirmencioğlu⁴

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Trabzon

²*Sinop Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Sinop*

³Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Trabzon

⁴Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Trabzon

Ftalosiyyaninler, dört iminoizozindolin ünesinden oluşan makro halkalı aromatik yapılardır. Ftalosiyyanin bileşikleri; yüksek dalga boyunda absorpsiyon vermeleri, yüksek triplet kuantum verimleri, triplet halde kalma sürelerinin uzun olması ve etkili bir şekilde singlet oksijen oluşturabilme kapasiteleri nedeniyle fotodinamik terapi (PDT) ile kanser tedavisinde kullanılmaya aday moleküllerdir. PDT uygulamaları son yıllarda özellikle kanser çalışmalarında öne çıkmakta, klinikte uygulanmakta olan kemoterapi, cerrahi müdahaleler ve ışın tedavisinin yanı sıra kullanılabileceği düşünülmektedir. PDT, ışığa duyarlı kimyasal moleküllerin belirli dalga boylarındaki ışık ile uyarılması ve farklı hücre tiplerinde ölüme sebep olması esasına dayanmaktadır. Bu çalışmada, yeni sentezlenmiş olan furan/azometin substituentli silisyum ftalosiyyanin molekülü HCT-116 kolorektal kanser hücrelerine farklı konsantrasyonlarda muamele edilerek kırmızı ışık ile uyarılmıştır. Molekülün fotodinamik uygulama sonucunda hücreler üzerinde oluşturduğu toksik etki MTT hücre canlılık testi ile incelenmiştir. Bu etki, aynı molekül ile muamele edilerek karanlık ortamda tutulan hücrelerde gözlenen toksik etki ile karşılaştırılmıştır. Gözlenen etki, akridin oranj/etidyum bromür boyama yöntemi ile floresan mikroskopta doğrulanmış ve apoptotik hücrelerin mikroskopik tayini gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak; sentezlenmiş olan silisyum ftalosiyyaninin ışık ile uyarıldığı tespit edilmiş ve bu molekül kanser hücreleri üzerinde anti proliferatif etkiye sahipken, ışsız ortamda bu etkinin gözlenmediği gösterilmiştir.

Synthesis of a novel silicon phthalocyanine with furan-azomethine compound and investigation of its photodynamic therapy efficacy against HCT-116 colorectal cancer cells

Ceren Sari¹, Rıza Bayrak², Figen Celep Eyüpoğlu³, İsmail Değirmencioglu⁴

¹Karadeniz Technical University Institute of Health Sciences,
Department of Medical Biology, Trabzon

²Sinop University Vocational School of Health Services,
Department of Medical Laboratory Techniques, Sinop

³Karadeniz Technical University Faculty of Medicine,
Department of Medical Biology, Trabzon

⁴Karadeniz Technical University Faculty of Science, Department of Chemistry, Trabzon

Phthalocyanines are macrocyclic aromatic structures consisting of four iminoisoindoline units. Phthalocyanine compounds are candidates to use in photodynamic therapy (PDT) due to their ability of high wavelength absorption, high triplet quantum yields, prolonged triplet lifetimes and singlet oxygen production capacity. PDT applications have been prominent in cancer studies recently. PDT is used in clinically in addition to chemotherapy, surgical intervention, and radiation therapy. It is based on the principle that light stimulation of light-sensitive chemical molecules at certain wavelengths and cause death in different cell types. In this study, newly synthesized furan/azomethine-substituted silicon phthalocyanine molecule was treated to HCT-116 colorectal cancer cells at different concentrations and was stimulated by red light. The toxic effect of the molecule on the cells as a result of photodynamic application was examined by MTT cell viability test. This effect was compared to the toxic effect observed in cells which was kept in the dark after the treatment of the same molecule. The observed effect was confirmed by fluorescence microscopy with acridine orange/ethidium bromide staining and microscopic identification of apoptotic cells was performed. As a result, it was determined that the synthesized phthalocyanine was stimulated by light. It has been determined that this molecule have a toxic effect on cancer cells and this effect is not observed in the dark environment.

KTÜ Araştırma Altyapısı Destek Programı tarafından
(Proje no: FAY-2015-5342) desteklenmiştir.

PS - 193

Post-Menopozal meme kanserinde DNA tamir genlerinin genetik varyasyonları

Asuman Özgöz¹, Kuyaş Hekimler Öztürk², Ayşegül Yükseltürk³, Hale Şamlı⁴, Zuhale Başkan⁵, Fadime Mutlu İçduygu⁶, Mehmet Bacaksız⁷

¹Kastamonu Üniversitesi, Kastamonu Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Kastamonu

²Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik
Anabilim Dalı, Isparta

³Kastamonu Üniversitesi Fazıl Boyner Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Kastamonu

⁴Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Bölümü, Bursa

⁵Acıbadem Bursa Hastanesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, Bursa

⁶Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Giresun

⁷*Alanya Çıplaklı Aile Sağlığı Merkezi, Alanya-Antalya*

Amaç: DNA tamir genlerindeki genetik varyasyonlar, DNA tamir kapasitesini etkileyebilir ve bu yüzden kanser riskini arttırabilirler; biz de, bu genetik varyasyonların meme kanserinde toplumumuzdaki etkisini araştırmayı amaçladık.

Gerçek-Yöntem: Çalışmamızda 102 post-menopozal meme kanserli hasta, 100 kontrol olmak üzere toplam 202 olguda, baz eksizyon tamir (BER) yolağından XRCC1 rs1799782, rs25487, rs25489 polimorfizmleri; nükleotid eksizyon tamir (NER) yolağından XPC rs2228000, rs2228001, XPD rs1799793, rs13181 polimorfizmleri; çift zincir kırık tamir (DSBR) yolağından XRCC3 rs861539; RAD51B rs10483813, rs1314913 polimorfizmleri ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi değerlendirdik. Periferik kandan izole edilen DNA örneklerinin genotiplemesi multiplex PCR ve matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry with time of flight measurement (MALDI-TOF) ile Sequenom MassARRAY 4 analizörü kullanılarak gerçekleştirildi ve gruplar arasındaki genotip ve allel dağılımları hesaplandı. Bulgular: rs25487 AA genotipi ve A allelinin kontrol grubunda (sırasıyla, OR 0.16 95% CI 0.02-1.06, p=0.058; OR 1.55, 95% CI 1.01–2.36, p=0.043), rs861539 T allelinin ise hasta grubunda daha yüksek frekansta olduğu (OR 1.53, 95% CI 1.01–2.30, p=0.049) tespit edildi. Diğer SNP'ler, meme kanseriyle asosiyasyon göstermedi. Sonuç: Bulgularımız XRCC1 rs25487 AA genotipi ve A allelinin, XRCC3 rs861539 T allelinin Türk popülasyonunda meme kanseri için koruyucu etkilerinin olabileceğini akla getirmektedir.

Genetic variations of DNA repair genes in postmenopausal breast cancer

Asuman Özgöz¹, Kuyaş Hekimler Öztürk², Aysegül Yükseltürk³, Hale Şamlı⁴, Zuhal Başkan⁵, Fadime Mutlu İçduygu⁶, Mehmet Bacaksız⁷

¹Kastamonu University, Kastamonu School of Medicine, Department of Medical Genetics, Kastamonu

²Süleyman Demirel University, School of Medicine, Department of Medical Genetics, Isparta

³Kastamonu University, Fazıl Boyner Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, Kastamonu

⁴Uludağ University, School of Veterinary Medicine, Department of Genetics, Bursa

⁵Acibadem Bursa Hospital, Department of Medical Oncology, Bursa

⁶Giresun University, School of Medicine, Department of Medical Genetics, Giresun

⁷Alanya Çıplaklı Family Health Center, Alanya-Antalya

Objective: Genetic variations in DNA repair genes may affect DNA repair capacity therefore increase risk for cancer; in the current study, we aimed to investigate the effects of these variations in breast cancer, in our society, as well.

Materials-Methods: In our study, we evaluated the relation between DNA repair gene polymorphisms XRCC1 rs1799782, rs25487, rs25489; XPC rs2228000, rs2228001; XPD rs1799793, rs13181; XRCC3 rs861539, RAD51B rs10483813, rs1314913 and breast cancer risk for 202 Turkish cases in total, in which 102 patients with breast cancer and 100 controls. Genotyping of the DNA samples isolated from peripheral blood was carried out by multiplex PCR and matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry with time of flight measurement (MALDI-TOF) using Sequenom MassARRAY 4 analyzer. Genotype and allele distributions were calculated between the groups. Odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (CIs) were reported. Results: rs25487 AA genotype and A allele was found to be increased in the control group (respectively, OR 0.16 95% CI 0.02-1.06, $p=0.058$; OR 1.55, 95% CI 1.01–2.36, $p=0.043$) and rs861539 T allele was found to be decreased in the patient group (OR 1.53, 95% CI 1.01–2.30, $p=0.049$). No association with breast cancer was found for the remaining SNPs.

Conclusion: Our findings suggest that XRCC1 rs25487 AA genotype and A allele, XRCC3 rs861539 T allele may have protective effects in breast cancer for Turkish population.

Kastamonu Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından KÜBAP-01/2013-03 Proje numarası ile desteklenmiştir.

PS - 194

XRCC1 geni (Arg399Gln, Arg280His ve Arg194Trp) polimorfizmleri ve adrenal tümör ilişkisinin değerlendirilmesi

Pınar Baysan Çebi¹, Yaprak Yılmaz Yalçın¹, Hasibe Verdi¹,
Ayşe Canan Yazıcı², Neslihan Başçıl Tütüncü¹, Fatma
Belgin Ataç¹

¹Başkent Üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Ankara
²İstanbul Aydın Üniversitesi, İstanbul

Adrenal korteks tümörleri hormon fazlalığına bağlı bulgular ile veya başka nedenlerle yapılan görüntülemelerde insidental olarak saptanırlar. Adrenokortikal adenomlar toplumda %1-7 oranında görülürken, karsinomların prevalansının milyonda 4-12 olduğu tahmin edilmektedir. Adrenokortikal tümörlerin patojenik mekanizmaları kompleks ve heterojendir. Adrenokortikal hücrelerin proliferasyonuna neden olan moleküler değişikliklerin adrenokortikal tümör gelişiminde rolü olduğunu gösteren çalışmalar hızla artmaktadır.

X-ışını tamir çapraz tamamlayıcı grup 1 geninin (XRCC1: X-ray repair cross complementing group 1) kodladığı protein tek zincir DNA kırıklarının onarılmasında rol alır. Tamir edilemeyen tek zincir kırıkları hücrenin genetik stabilitesini ve hücre sağ kalımını etkiler. Son birkaç yıl içinde XRCC1’de 300’den fazla tek nükleotid polimorfizmi saptanmıştır ve bu polimorfizmlerin bir kısmı meme kanseri, kolon kanseri, akciğer kanseri ve tiroid kanseri ile ilişkilendirilmiştir.

Bu araştırmaya üniversitemizin Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı Polikliniği'ne başvuran 18-65 yaş arasında, adrenal adenom nedeni ile polikliniğe düzenli olarak gelen ve adrenal tümör tanısı almış kadın ve erkek hastaların tamamı alınmıştır (n:26). Kontrol grubu olarak yaş ve cinsiyet uyumlu, adrenal bezde kitle saptanmamış 17 birey alınmıştır. Bireylerden periferik kan örneği alınarak genomik DNA izolasyonunu yapılmıştır. XRCC1 (Arg 399Gln, Arg280His ve Arg 194Trp) genotiplemesi floresan işaretli hibridizasyon problemleri kullanılarak melting curve analizi ile saptanmıştır.

Adrenal korteks tümörleri ile XRCC1 geni Arg399Gln, Arg280His polimorfizmleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. XRCC1 geni Arg194Trp polimorfizminin AA genotipi hasta grubunda saptanamamıştır. Arg194Trp polimorfizminin CC genotipi hasta grubunda kontrol grubuna oranla yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Sonuçların daha sağlıklı değerlendirilmesi için sigara kullanımı, obezite gibi diğer faktörlerin de dikkate alınması gerektiği düşünülmektedir.

Evaluation of XRCC1 gene (Arg399Gln, Arg280His and Arg194Trp) polymorphisms and adrenal tumor association

Pınar Baysan Çebi¹, Yaprak Yılmaz Yalçın¹, Hasibe Verdi¹,
Ayşe Canan Yazıcı², Neslihan Başcıl Tütüncü¹, Fatma
Belgin Ataç¹

¹Baskent University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, Ankara

²*Istanbul Aydin University, Istanbul*

Adrenocortical adenomas are seen in 1% to 7% of the population, while the prevalence of carcinomas is estimated to be 4-12% in a million. The pathogenic mechanisms of adrenocortical tumors are complex and heterogeneous. Studies revealing that molecular changes leading to the proliferation of adrenocortical cells play a role in the development of adrenocortical tumors are increasing rapidly.

The protein which was encoded by the X-ray repair cross-complementing group 1 (XRCC1) gene plays a role in repairing breaks. Non-repairable single chain breaks affect genetic stability and cell survival. Several single nucleotide polymorphisms have been detected in XRCC1 gene and some of these polymorphisms have been related with breast cancer, colon cancer, lung cancer and thyroid cancer.

We studied 26 patients (18-65 years) with adrenal tumor. Age and sex matched 17 individuals whose adrenal gland masses were not detected included as the control group.. Genotyping of XRCC1 (Arg399Gln, Arg280His and Arg 194 Trp) was determined by melting curve analysis using fluorescently labeled hybridization probes.

No significant correlation was found between the adrenal cortex tumors and the XRCC1 Arg399Gln, Arg280His polymorphisms. The AA genotype of the XRCC1 gene Arg194Trp polymorphism was not detected in the patient group. CC genotype of Arg194Trp polymorphism was higher in the patient group than in the control group ($p<0,05$). It is thought that other factors such as smoking and obesity should be taken into consideration for the healthier evaluation of the results.

Baskent Üniversitesi BAP tarafından desteklenmiştir.

PS - 195

XRCC1 geni Arg280His polimorfizmi diferansiye tiroid kanserlerinde genetik yatkınlık mı yaratıyor?

Yaprak Yılmaz Yalçın, Pınar Baysan Çebi, Hasibe Verdi,
Neslihan Başcıl Tütüncü, Fatma Belgin Ataç

Başkent Üniversitesi Tıp fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Ankara

Tiroid kanseri en sık görülen endokrin kanserdir. Diferansiye tiroid kanserleri (papiller ve folliküler tiroid kanseri,DTK) ise tiroid kanserlerinin % 90'dan fazlasını oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalarda papiller tiroid kanserlerinin %75'inde genetik değişim olduğu bildirilmiştir.

X-ışını tamir çapraz tamamlayıcı group 1 geni (XRCC1: X-ray repair cross complementing group 1) DNA tamirinde rol alan bir proteindir. Oluşan tek zincir kırıkları tamir edilemez ise hücrenin genetik stabilitesi ve yaşam süresi etkilenebilir.

Çalışmamızda XRCC1 geninde en sık görülen Arg399Gln, Arg280His ve Arg194Trp tek nükleotid değişimi polimorfizimleri DTK (n:228), kanser olmayan benign troid nodüllü (BTN, n:100) ve sağlıklı kontrol grubunda (n:98) genotip sıklığı dağılımı araştırılmıştır. Bunun için genomik DNA izolasyonunu takiben XRCC1 (Arg399Gln, Arg280His ve Arg194Trp) genotiplemesi real-time PCR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Değerlendirmede hastaların tiroid kanser gelişim riskini belirleyen diğer faktörlerden Hashimoto Tiroidi varlığı, sigara kullanımı öyküsü, vücut yağ dağılımı, radyasyon maruziyeti dikkate alınmıştır.

DTK grubunda Arg280His polimorfizmi heterozigot GA genotip sıklığı BTN'lü ve sağlıklı kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek çıkmıştır ($p<0.001$). Arg280His polimorfizm homozigot AA genotipi DTK grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük çıkmıştır. ($p<0.001$). Ailede tiroid kanseri öyküsü DTK grubunda %7.9 BTN grubunda % 1'dir ($p=0.014$). Ailede tiroid kanseri öyküsü görülenlerde Arg280His polimorfizm dağılımı; GA genotipi %78.9 ve AA genotipi %21.1'dir ($p=0.004$).

Çalışmamız XRCC1 geni Arg280His GA genotipinin DTK grubunda kanser olmayan kontrollere göre daha sık rastlanıldığını göstermektedir. GA genotip sıklığı aile öyküsünde tiroid kanseri olan DTK vakalarında daha sık görüldüğü saptanmıştır.

Arg280His polymorphism in XRCC1 gene: Genetic susceptibility genotype in differentiated thyroid cancer?

Yaprak Yılmaz Yalçın, Pınar Baysan Çebi, Hasibe Verdi,
Neslihan Başçıl Tütüncü, Fatma Belgin Ataç

Baskent University Faculty of Medicine Department of Medical Biology, Ankara

Thyroid carcinomas are the most frequent endocrine malignancies of which more than ninety percent are differentiated thyroid carcinomas (papillary follicular,DTC). It's known that genetic variation plays 75% role in the development of papillary thyroid carcinoma (PTC).

The X-ray repair cross-complementing group 1 (XRCC1) XRCC1 protein works on the DNA repair function. It is a significant threat for genetic stability of the cell and cell life, when single strand-breaks are not repaired. We aimed to compare the genotype frequency distributions of three common XRCC1 single nucleotide polymorphisms (SNPs) in those with DTC (n: 228) and cancer-free patients with benign thyroid nodules (BTN n:100) and the healthy controls (n:98) with regard to some predefined risk factors like existence of Hashimoto's thyroiditis, smoking, obesity, family history of thyroid cancer, and radiation exposure. Heterozygous GA genotype frequency of the Arg280His polymorphism in DTC cases was significantly higher than in those with BTN and in those in the healthy control group ($p<0.001$). The frequency of homozygous AA genotype of Arg280His polymorphism was lowest in the DTC group. The difference was statistically significant ($p<0.001$). Presence of family history of thyroid cancer was 7.9% in DTC group and 1% in BTN. ($p=0.014$). Arg280His polymorphism distribution among those with family history of thyroid cancer, 78.9% had GA genotype and 21.1% had AA genotype ($p=0.004$). In conclusion Arg280His GA genotype of XRCC1 gene polymorphism is more frequently encountered in DTC than in cancer-free controls. GA genotype frequency is highest in those DTC cases with a family history of thyroid cancer.

Başkent Üniversitesi BAP tarafından desteklenmektedir.

PS - 196

Radyofrekans radyasyona maruz bırakılan insan kolorektal karsinoma hücrelerinde kaspaz-bağımlı apoptozun incelenmesi

Arin Tomruk¹, Yunus Kasım Terzi², Göknur Güler Öztürk¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Ana Bilim Dalı, Ankara

²Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Ankara

Amaç: Çalışmanın amacı, kesikli olarak uygulanan farklı şiddetlerdeki RF alanların insan kolorektal adenokarsinoma hücrelerinde kaspaz-bağımlı hücre ölümü üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

Gereç-Yöntem: Kesikli RF alanlar (15 dak. RF on/ 15 dak. RF off) farklı frekanslarda [1800 MHz; 2100 MHz; 2600 MHz] ve farklı maruziyet sürelerinde (1saat, 2saat, 3saat, 4saat) HT-29 hücrelerine uygulandı. Maruziyet sonrasında, 3 kaspazın gen ekspresyon seviyeleri (kaspaz-8; kaspaz-9, kaspaz-3) qRT-PCR (SYBR Green I dye) tekniği kullanılarak analiz edildi.

Bulgular: Ekspresyon seviyeleri incelendiğinde; CASP8 (2600 MHz’ de, 4 saat maruziyette) azaldığını, CASP9 (1800 MHz’ de, 1saat, 2 saat ve 3 saat maruziyetlerinde; 2100 MHz’ de 3 saat maruziyette ve 2600 MHz’ de 1saat maruziyette) arttığını ve son olarak da CASP3 (1800 MHz’ de 3saat maruziyette) istatistiksel anlamlı arttığını tespit ettik ($p<0.05$).

Sonuç: Kesikli RF radyasyon maruziyetinin farklı frekans ve uygulama sürelerinde kaspazları aktive edebileceğini tespit ettik. Kaspaz bağımlı hücre ölümü pek çok patolojik ve fizyolojik olayda aktif rol oynamaktadır. Bu nedenle, apoptoz sürecinin detaylı incelenmesi ve değerlendirilmesi yeni uygulama yöntemlerinin geliştirilmesi konusunda yardımcı olacaktır.

Investigation of caspase-dependent apoptosis in human colorectal carcinoma cells exposed to radiofrequency radiation

Arın Tomruk¹, Yunus Kasım Terzi², Gök Nur Güler Öztürk¹

¹*Biophysics Department, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara, Türkiye*

²*Medical Genetics Departments, Faculty of Medicine, Baskent University, Ankara, Türkiye*

Objective: We aimed to investigate the effects of intermittent exposure to RF fields on caspase-dependent cell death in Human colorectal adenocarcinoma cells (HT-29).

Materials-Methods: Intermittent RF exposures (15 min. RFR on/ 15 min. RFR off) at different frequencies [1800 MHz; 2100 MHz; 2600 MHz] for different exposure durations (1h, 2h, 3h, 4h) were performed to HT-29. And after exposures, gene expression levels of 3 caspases (caspase-8; caspase-9, caspase-3) were analysed by using qRT-PCR (SYBR Green I dye) technique.

Results: We observed that expression of CASP8 (at 2600 MHz, for 4 h) decreased, CASP9 (at 1800 MHz for 1h, 2h and 3 h; at 2100 MHz for 3h and at 2600 MHz for 1h) increased and finally CASP3 (at 1800 MHz for 3 h) increased significantly ($p < 0.05$).

Conclusion: Intermittent RF radiation exposure at different frequencies for different exposure durations can activate caspases. Caspase-dependent apoptosis plays active roles in many pathological and physiological actions. Therefore, interfering in the apoptotic process and re-arranging it can bring new methods of treatment into discussion.

PS - 198

Larinks kanserli türk hastalarda PD-1 gen polimorfizminin (PD-1.5 C / T) incelenmesi

Bayram Kıran¹, Şeyda Ercan², Yosra Lamami³, Dilara Sönmez², Mehmet Tolgahan Hakan², Ayşegül Verim⁴, İlhan Yaylım²

¹Fen Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Anabilim Dalı,
Kastamonu Üniversitesi, Kastamonu, Türkiye

²Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp
Ananilim Dalı, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

³Biyoteknoloji Araştırma Merkezi, İnsan Doku Kültürü Anabilim Dalı, Tripoli, Libya

⁴Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, KBB - Baş Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Amaç: Programlı Ölüm 1, PD-1, bağışıklık ve immün tolerans sırasında T hücreleri görevinin düzenlenmesi ilgili inhibitör hücre yüzeyi reseptörüdür. İmmün kontrol noktası olan PD-1 aktive edilmiş T hücreleri tarafından eksprese edilir. Bu reseptörün fonksiyonunda meydana gelebilecek problemlerin T-hücreleri reseptörü (TCR) sinyalizasyonu üzerine olumsuz etkilerinin olduğu gösterilmiştir. İmmün yanıtı ile ilişkili genler ve kanser arasındaki ilişki, birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışma ile larinks kanseri (LC) hastalarında PD-1.5 (C / T) polimorfizminin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal-Metod: Çalışmada 93 larinks kanserli hasta ve 153 sağlıklı birey olmak üzere toplam 243 bireyden alınan örnekler üzerinden Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Rekstriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi yöntemi (PCR-RFLP) ile PD-1 Polimorfizmi araştırılmıştır. Bulgular: LC ve sağlıklı kontroller arasında PD-1.5 (C / T) genotiplerinin dağılımında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Sonuçlarımız, PD-1.5 (C / T) polimorfizmi ile LC duyarlılığı ve hastalığın progresyonu arasında anlamlı bir ilişki göstermemektedir. Sonuç: PD-1.5 polimorfizminin belirli bir genotipinin larinks kanseri ile ilişkili olup olmadığının araştırılmasında, PD-1.5 (C / T) polimorfizminin ve klinikopatolojik özellikler ile arasındaki ilişkiye daha iyi açıklık getirebilecek olan daha fazla hasta içeren araştırmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmanın Etik Onayı "İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu" tarafından onaylanmıştır.

Investigation of PD-1 gene polymorphism (PD-1.5 C/T) in turkish patients with laryngeal cancer

Bayram Kıran¹, Şeyda Ercan², Yosra Lamami³, Dilara Sönmez², Mehmet Tolgahan Hakan², Ayşegül Verim⁴, İlhan Yaylım²

¹Genetic and Bioengineering Department, Faculty of Science, Kastamonu University, Kastamonu, Turkey

²Molecular Medicine Department, Aziz Sancar Institute of Experimental Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey

³Human Tissue Culture Department, Biotechnology Research Centre, Tripoli, Libya

⁴*Department of Otorhinolaryngology/Head and Neck Surgery, Haydarpasa Numune Education and Research Hospital, Istanbul, Turkey*

Objective: Programmed death 1, PD-1, is an inhibitory cell surface receptor concerned in the regulation of T cell task during immunity and tolerance. The immune control point, PD-1, is expressed by activated T cells. It has been shown that when there is a problem in the functioning of this receptor, it negatively regulates T-cell Receptor (TCR) signaling. The relationship between the immune response-related genes and cancer has been demonstrated in a number of studies. This study aimed to investigate of PD-1.5 (C / T) polymorphism in laryngeal carcinoma (LC) patients.

Materials-Methods: PD-1.5 (C/T) polymorphism was investigated in 243 Turkish subjects (93 patients with LC and 150 healthy individuals as controls) by using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP).

Results: The distribution of PD-1.5 (C/T) genotypes between the patients with LC and healthy controls were not significantly different. Our results have shown no significant associations between PD-1.5 (C/T) polymorphism and LC susceptibility and progression of the disease.

Conclusion: Further researches comprising more patients are required to clarify whether a particular genotype of the PD-1.5 polymorphism is associated with laryngeal cancer and clarify the association of PD-1.5(C/T) polymorphism and clinicopathological characteristics.

"Clinical Investigations Ethics Committee of Istanbul Education and Research Hospital" was approved by ethics committee "

PS - 199

Meme kanser hastalarında TMPRSS6 gen varyantları ve hemotolojik bulgular arasındaki ilişkinin incelenmesi

Duygu Erhan¹, Tuba Mutlu¹, Didem Can Trabulus², Emre Ozoran², Bahadır Batar¹, Mehmet Güven¹

¹*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul*

²*İstanbul Eğitim Ve Araştırma Hastahanesi, Genel Cerrahi Bölümü, İstanbul*

Meme kanseri, dünyada kadınlar arasında en sık görülen kanser türlerinden biridir. Tıp II Transmembran Serin Proteazlar (TTSP) ailesinin bir üyesi olan Transmembran Serin Proteaz 6 (TMPRSS6)"nın meme kanserine yakınlıkta rol oynayabileceği düşünülmektedir. TMPRSS6 geni, demir homeostazında önemli rol oynayan hepsidin düzeyini baskılayan Matriptaz-2"yi kodlar. Matriptaz-2, hemojuvelinin bölünmesinden sorumlu bir proteazdır. Normal şartlarda hemojuvelinin bölünmesi, hepsidin ekspresyonunun belirli bir düzeyde kalmasını ve dolayısıyla demir hemostazını sağlar. TMPRSS6 gen mutasyonları, insanlarda otozomal bir hastalık olan demire rezistan demir eksikliği anemisine (IRIDA;İron-Refractory İron Deficiency Anaemia) yol açmaktadır. Ayrıca, Matriptaz-2' nin serin proteaz aktivitesinin kanserlerde tümör büyümesi ve invazyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Human genome wide association (GWAS) çalışmaları, TMPRSS6 varyantlarının anormal hematolojik parametrelerle (Hgb, transferin saturasyonu, eritrosit, MCV veserum demir konsantrasyonları gibi) ilişkisini vurgulamıştır. Çalışmamızın amacı, TMPRSS6 gen varyantlarının (rs2111833, rs228919)meme kanserine yatkınlıktaki rolünü ve meme kanser hastalarının hematolojik parametreler ile ilişkisini araştırmaktır.

Çalışmamız, 181 meme kanser hastası ile benzer yaşlarda 90 sağlıklı kadın kontrolde gerçekleştirildi. Genotipleme, RT-PCR (Gerçek Zamanlı- Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi ile gerçekleştirildi. Genotip dağılımları açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. TMPRSS6 rs2111833, rs228919 polimorfizimleri ile ilgili genotip dağılımlarının hematolojik bulgularla ilişkisi incelendiğinde, istatistiksel bir anlamlılık tespit edilmedi ($p>0,05$). Literatürde hematolojik parametreler ile TMPRSS6 varyantları arasında ilişkiyi ortaya koyan bulgulara rağmen çalışmamızda bu tür bir ilişkinin tespit edilememesinin sebebi, Türk popülasyonu ile diğer popülasyonlar arasındaki varyant allel sıklığındaki farklılık olabilir. Türk popülasyonunda yapılmış bu ilk çalışmanın farklı TMPRSS6 varyantları ile de gerçekleştirilmesi faydalı olacaktır.

An investigation of the relationship between TMPRSS6 genetic variants and hematologic findings in breast cancer

Duygu Erhan¹, Tuba Mutlu¹, Didem Can Trabulus², Emre Ozoran², Bahadır Batar¹, Mehmet Güven¹

¹Department of Medical Biology at Cerrahpasa Medicine Faculty, Istanbul University, Istanbul, Turkey

²*Istanbul Education and Research Hospital, General Surgery, Istanbul*

Breast cancer is one of the most common types of cancer among women worldwide. TransmembranSerin Protease 6 (TMPRSS6), a member of the Type II Transmembrane Serine Proteases (TTSP) family, is thought to play a role in breast cancer susceptibility. The TMPRSS6 gene encodes Matrilysin-2, which suppresses the level of hepcidin that plays an important role in iron homeostasis. Matrilysin-2 is a protease responsible for cleavage of hemoglobin.. TMPRSS6 gene mutations lead to an anemia of iron deficiency anemia (IRIDA), an autosomal disease in humans. It is also thought that the serine protease activity of Matrilysin-2 is associated with tumor growth and invasion in cancers.

. The aim of our study was to investigate the role of Tmprss6 gene variants (rs2111833, rs228919) in breast cancer susceptibility and breast cancer patients with hematological parameters.

Our study was conducted in 181 breast cancer patients and 90 healthy women in similar age. Genotyping was performed by RT-PCR (Real Time Polymerase Chain Reaction) method. There was no statistically significant difference between patient and control groups in terms of genotype distributions. When the genotype distributions related to TMPRSS6 rs2111833, rs228919 polymorphisms were compared with hematological findings, no statistical significance was found ($p > 0.05$). In spite of the fact that in the literature, we could not find such an association in our study despite the findings indicating the relation between hematologic parameters and TMPRSS6 variants, there may be a difference in the frequency of variant alleles between the Turkish population and other populations.

İstanbul Üniversitesi BAP Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TSA-2017-24598

PS - 200

Yeni binükleer bor-florür kompleksinin L(BF2)2 endometrial kanser hücre hattı üzerindeki apoptotik, sitotoksik ve genotoksik etkisi

Yasin Tülüce¹, Pawan Tareq Ahmed Lak¹, İsmail Koyuncu², Ahmet Kılıç³, Mustafa Durgun³, Halil Özkol¹

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Van

²Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ş. Urfa

³*Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Ş.Urfa*

Amaç: Endometrial kanser (EC), kadın genital yolunun jinekolojik kanserlerinin en sık görülen tiplerinden biridir; diğer kanserler arasında önde gelen dördüncü ölüm faktörü olarak değerlendirilmiştir. Schiff bazlı komplekslerin apoptoz indüksiyonu potansiyeline dayanılarak, Schiff bazlı bileşikler ve bunların metal kompleksleri, iyi anti kanser özellikleri sergilemektedir. Bu çalışma, yeni bir binükleer bor-florür kompleksini [L(BF₂)₂], ECC-1 hücreleri üzerindeki sitotoksik, genotoksik ve apoptotik aktivitesini incelemek amacıyla yapılmıştır.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada L(BF2)2 kompleksi, HELA, DU-145, PC3, DLD-1, ECC-1, PNT1-A, HT-29 ve MCF-7 olmak üzere sekiz farklı hücre dizisinde incelendi ve ECC-1 hücreleri üzerinde güçlü bir baskılayıcı etkiye sahip olduğu bulundu. Buna bağlı olarak daha sonra L(BF2)2'nin insan endometrijyal adenokarsinoma hücre dizisi üzerindeki apoptotik, sitotoksik ve genotoksik özellikleri araştırılmıştır.

ECC-1 hücre hattı üzerinde Tek hücreli jel elektroforez testi (comet testi), DNA parçalanma laddering, DNA hasarı için akridin orange testi ve apoptotik ölçüm için ELISA gibi standart apoptotik ve sitotoksik testleri L(BF2)2'in farklı konsantrasyonları için kullanılmıştır. Ayrıca toplam antioksidan durumu (TAS) ve toplam oksidan durumu (TOS) değerlendirilerek oksidatif statü ölçülmüştür. Oksidatif stres indeksi (OSI) de ayrıca hesaplanmıştır.

Bulgular: Sonuç olarak, L(BF2)2'nin ECC-1 hücreleri üzerinde özellikle DNA'larına zarar vermesi bakımından olağanüstü bir etkisi olduğu ve bir dizi reaksiyonun apoptoziye yol açtığı tespit edildi.

Sonuç: Birlikte ele alındığında, bu sonuçlar, L(BF2)2 kompleksinin endometrial kanser hücrelerinin apoptotik yolağını indükleyebildiğini ve ileride yapılacak kanser tedavisi çalışmalarında olası bir aday olduğunu göstermektedir.

The apoptotic, cytotoxic and genotoxic effect of novel binuclear boron-fluoride complex L(BF₂)₂ on endometrial cancer cell line

Yasin Tülüce¹, Pawan Tareq Ahmed Lak¹, İsmail Koyuncu², Ahmet Kılıç³, Mustafa Durgun³, Halil Özko¹

¹*Yuzuncu Yil University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Van*

²Harran University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Ş. Urfa

³Harran University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Chemistry Ş.Urfa

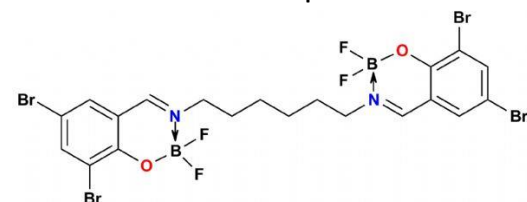
Objective: Endometrial cancer (EC) is one of the most common types of gynecologic cancer of the female genital tract; it considered to be the fourth leading death factor among other cancers. Based on the potential of Schiff based complexes for the induction of apoptosis, Schiff base compounds, and their metal complexes displayed good anticancer properties. This study meant to examine the cytotoxic, genotoxic and apoptotic activity of a novel binuclear boron-fluoride complex [L(BF₂)₂] on ECC-1 cells.

Materials-Methods: In this study L(BF2)2 complex was examined in eight different cell lines, HELA, DU-145, PC3, DLD-1, ECC, PNT1-A, HT-29 and MCF-7, it was found to have a potent suppressive effect on ECC-1 cells. Based on this data, later investigated its apoptotic, cytotoxic, and genotoxic properties on human endometrial adenocarcinoma cell line ECC-1 in different concentrations, by using standard apoptotic and cytotoxic tests such as single cell gel electrophoresis assay (comet assay), DNA fragmentation laddering, acridine orange test for DNA damage, and ELISA for apoptotic measuring. We also measured the oxidative status by evaluating total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS). Oxidative stress index (OSI) was calculated too.

Results: As a result, [L(BF2)2] has been found to have a marvelous effect on ECC-1 cells especially in damaging their DNA and cause a series of reactions lead to apoptosis.

Conclusion: Taken together, these findings suggest that the [L(BF2)2] complex is able to induce the apoptotic pathway of endometrial cancer cells and is a possible candidate for future cancer treatment studies.

Binükleer bor-florür kompleksi
binuclear boron-fluoride complex



*Binükleer bor-florür kompleksinin yapısı [L(BF₂)₂]
The structure of binuclear boron-fluoride complex [L(BF₂)₂]*

PS - 201

Antidiyabetik, antianjiogenik, glutamat bloklayıcı ve tümör metabolizması üzerine etkili ajanların Glioblastoma PI3K/AKT/mTOR yolu üzerine etkilerinin incelenmesi

Hakan Emmez¹, Gülşah Albayrak², Ümit Akın Dere³, Ece Konaç²

¹Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi AD., Beşevler, 06510, Ankara, Türkiye

²Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD., Beşevler, 06510, Ankara, Türkiye

³ Mehmet Akif İnan Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi, Şanlıurfa, Türkiye

Amaç: Glioblastoma Multiforme en yaygın Merkezi Sinir Sistemi tümörüdür. PI3K / AKT / mTOR yolu ise hastalık patogeneğinde rol oynayan önemli yolların başında gelmektedir. Anti-diyabetik ilaç Metformin, anti-anjiyogenik Avastin, tümör hücresi metabolizması üzerine etkilerini incelemek amacıyla sodyum dikloroasetat ve fazla glutamat etkisini bloke edici ilaç Memantin'in U87-MG ve T98G hücrelerindeki etkileri araştırılmıştır.

Gereç-Yöntem: Sitotoksosite MTT testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Glioblastoma'da önemli hücrel süreçlerde görev alan apoptoz ilişkili CASP-3,BCL-2,BAD,BAX; anjiogenez ilişkili HIF1A,VEGF; invazyon ve migrasyon ilişkili FAK,MMP-9; glukoz metabolizmasında görevli GSK-3; kanser-hücre döngüsü ilişkili CCND1,c-MYC, CDK4 genlerinin protein ekspresyonları western blotlama ile incelenmiştir.

Bulgular: IC50 konsantrasyonları T98G’de Metformin (45 mM), DCA (45 mM), Metformin + DCA (20 mM-20 mM), Memantine (0.5 mM), Avastin (50 mM) iken U87MG için Metformin (25 mM), DCA (45mM), Metformin + DCA (20mM-20mM), Memantine (0.5mM) and Avastin (50mM) olarak bulunmuştur. Hücrelere uygulanan ajanlar protein ekspresyonlarını anlamlı olarak değiştirmiştir ($P<0,05$).

Sonuç: Alzheimer ilacı olarak kullanılan Memantin T98G ve U87MG glioblastoma hücre proliferasyonunu Metformin'den çok daha düşük bir konsantrasyonda inhibe etmiştir (0.5 mM). Memantin'in kanser hücreleri üzerindeki anti-tümörijenik etkisinin in vivo olarak da araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Investigating the effects of antidiabetic, antianjiogenic, glutamate blocker and tumor metabolism targeting agents on Glioblastoma PI3K/AKT/mTOR pathway

Hakan Emmez¹, Gülşah Albayrak², Ümit Akın Dere³, Ece Konaç²

¹Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Gazi University, Besevler, 06510, Ankara, Turkey

²Department of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, Gazi University, Besevler, 06510, Ankara, Turkey

³Mehmet Akif Inan Training and Research Hospital, Department of Neurosurgery, Sanliurfa, Turkey

Objective: Glioblastoma Multiforme is the most common Central Nervous System tumor. Activation of PI3K/AKT/mTOR pathway is one of the most important pathway that plays role in disease pathogenesis. U87-MG and T98G cells were treated with anti-diabetics drug Metformin, antiangiogenic Avastin, sodium dichloroacetate that is effective in tumor cell metabolism and excess glutamate blocking agent Memantine.

Materials-Methods: Cytotoxicity was evaluated using MTT assay and then we performed the western blotting analysis of the key genes that play role in glioblastoma's important cellular processes like apoptosis related CASP-3, BCL-2, BAD, BAX, angiogenesis related HIF1A, VEGF, invasion and migration related FAK, MMP-9, for effects on glucose metabolism GSK-3, cancer cell cycle progression related CCND1, c-MYC, CDK4.

Results: IC50 concentrations were found as Metformin (45 mM), DCA (45 mM), Metformin + DCA (20 mM-20 mM), Memantine (0.5 mM), Avastin (50 mM) for T98G whereas it was found Metformin (25 mM), DCA (45mM), Metformin + DCA (20mM-20mM), Memantine (0.5mM) and Avastin (50mM) for U87MG cells. All agents affected protein expression levels significantly ($P<0,05$).

Conclusion: Memantine, which is currently used as an Alzheimer's drug inhibited T98G ve U87MG glioblastoma cell proliferation at a dose (0.5 mM) lower than that of Metformin. We concluded that Memantine's anti-tumorigenic effects on cancer cells needs to be further investigated in vivo.

PS - 202

TGF- β -SMAD-mir-520e aksı TGFBR2-aracılı bir negatif geri besleme döngüsü yoluyla KHDAK metastazını yönetir

Hakan Küçüksayan¹, Şakir Akgün¹, Arsenal Sezgin
Alıkanoglu², Mustafa Yıldız³, Hakan Akça¹

¹*Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Denizli*

²*Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı, Denizli*

³*Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Ana Bilim Dalı, Denizli*

Amaç: Metastaz oluşumu boyunca; onkogenik transformasyon, EMT, anjiyojenez ve uzak dokularda kolonizasyon gibi birçok süreçte, TGF- β kritik roller üstlenmektedir. Bununla beraber, G1-arrest ve apoptozu regüle eden p21 ve p27'nin ekspresyonlarını indükleyerek bir tümör baskılayıcı olarak da fonksiyon göstermektedir. TGFR2 ekspresyonun, akciğer kanserinde sıklıkla downregüle olması veya tamamen ekspresyon kaybına uğramasıyla birlikte, TGFR2 downregülasyonu için DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları gibi çeşitli epigenetik mekanizmalar sorumlu tutulmaktadır. Ancak, akciğer kanserinde görülen TGFR2 ekspresyon kaybında miRNA'ların herhangi bir rol oynayıp oynamadığı belirsizdir. Bu nedenle, mir-520e'nin KHDAK EMT, invazyon ve metastazındaki rollerini aydınlatmayı ve TGFR2-aracılı geri besleme mekanizmasındaki potansiyel rolünü belirlemeyi amaçladık.

Gereç-Yöntem: Bu çalışmada, hücre kültürü, mimik miRNA transfeksiyonu, qRT-PCR, immüblotlama, MTT, migrasyon-invazyon, ChIP-PCR deneyleri, klinik örnekler ve analizleri gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: KHD AK hücrelerindeki mir-520e seviyesinin, TGFBR2’i hedef aldığı bilinen diğer miRNA’lardan önemli ölçüde düşük olduğunu gösterdik. Ayrıca; metastatik tümör dokularındaki TGFBR2 ekspresyonunun, metastatik olmayan tümör dokularına kıyasla downregüle olduğunu ve klinik örneklerde mir-520e ekspresyonu ile ters bir şekilde korele olduğunu raporlandık. TGF- β uyarımına cevaben mir-520e ekspresyonu transkripsiyonel olarak SMAD2/3 tarafından indüklenmektedir ve metastatik tümör dokularındaki ekspresyonu metastatik olmayanlara kıyasla upregüledir.

Sonuç: Bu bulgular; KHDAK'de, mir-520e ekspresyonunu indükleyerek TGFBR2-aracılı bir negatif geri besleme mekanizmasının TGF- β tarafından düzenlendiğini ortaya koymaktadır.

TGF- β -SMAD-mir-520e axis regulates NSCLC metastasis through a TGFBR2-mediated negative feedback loop

Hakan Küçüksayan¹, Şakir Akgün¹, Arsenal Sezgin
Alikanoğlu², Mustafa Yıldız³, Hakan Akça¹

¹Medical Biology Department, School of Medicine, Pamukkale University, Kinikli, Denizli, Turkey

²Pathology Department, Antalya Training and Research Hospital, Antalya

³Medical Oncology, Antalya Training and Research Hospital, Antalya

Transforming growth factor- β (TGF- β) plays critical roles in oncogenic transformation, epithelial-mesenchymal transition (EMT), angiogenesis and the colonization at distant tissues during metastasis. Nevertheless, it also functions as tumor suppressor by inducing the expressions of p21 and p27, which regulate G1-arrest and apoptosis. TGFBR2 expression is frequently downregulated or lost, and several epigenetic mechanisms such as DNA methylation and histone modifications have been blamed for downregulation of TGFBR2 expression in lung cancer. However, it is unclear whether miRNAs play any role in the loss of TGFBR2 expression in lung cancer. Therefore, we aimed to clarify the roles of mir-520e in EMT, invasion and metastasis of NSCLC, and to determine its potential role in a TGFBR2-mediated feedback mechanism. Cell culture, mimic miRNA transfection, qRT-PCR, immunoblotting, MTT, migration-invasion, ChIP-PCR assays and clinical samples and analyses were performed in this study. Here, we show that level of mir-520e is considerably lower than well-known miRNAs targeting TGFBR2 in NSCLC cells. Moreover, we report that TGFBR2 is downregulated in metastatic tumor tissue compared to non-metastatic ones and its expression is inversely correlated with that of mir-520e in clinical samples. Furthermore, mir-520e is transcriptionally induced by SMAD2/3 in response to TGF- β stimulation, and upregulated in metastatic tumor samples compared to non-metastatic tumor samples. These findings indicate that TGF- β orchestrate TGFBR2-mediated a negative feedback mechanism by inducing mir-520e expression in NSCLC.

PS - 203

Yeni PARP inhibitör bileşiklerin taranması

Selin Günal¹, Recep İlhan¹, Sinem Yılmaz³, Petek Ballar
Kırmızıbayrak¹, Burcu Erbaykent Tepedelen²

¹Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir

²*Uludağ Üniversitesi Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik
Anabilim Dalı, Bursa*

³*İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik Fakültesi,
Biyomühendislik Anabilim Dalı, İzmir*

Amaç: Çalışmamızda yeni PARP inhibitör bileşiklerinin taranması, bu inhibitörlerin kanser hücrelerindeki anti-proliferatif etkilerinin ve etki mekanizmalarının aydınlatılması amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Bu amaçla yüz farklı bileşiğin, oksidatif stres ile indüklenen hücre içi PARilasyon düzeylerine olan etkisi fluorometrik olarak ölçülmüştür. PARilasyon düzeyine etki eden bileşiklerin sitotoksik etkileri ise hem HR defekti olan (Capan-1, HCC1937) ve olmayan kanser hücrelerinde (HeLa, MCF7) hem de tumoral olmayan MRC5 fibroblast hücrelerinde MTT analizleri ile değerlendirilmiştir. İnhibisyon etki mekanizmasının araştırılması için DNA tamir proteinlerinin seviyeleri immünoiblotlama ile incelenmiştir.

Bulgular: Sonuçlarımızda taranan bileşikler içerisinde bir Src/Abl kinaz inhibitörü olan Bosutinibin PARP inhibitörü olarak etkin olduğu ve hücre içi PARilasyon seviyesi ile nükleer odak oluşumlarını azalttığı belirlendi. En yüksek sitotoksik etki HR defekti olan Capan1 hücresinde gözlenirken, Hela hücrelerinde ise klasik kemoterapötiklerin etkisini artırarak kemohassaslaştırıcı olarak davrandığı bulguları. Ayrıca bosutinib varlığında DNA tamir proteinlerinden ATM ve Chk1'in fosforilasyon seviyeleri azalırken, hasar belirteci olan γ H2AX seviyelerinin arttığı gözlemlendi.

Sonuç: Bir PARP inhibitörü olarak Bosutinib'in spesifik kanser hücresine yönelik kematerapötik ilaç geliştirme çalışmalarında potansiyel bir aday olabileceği sonucuna varıldı.

Screening for novel PARP inhibitor compounds

Selin Günal¹, Recep İlhan¹, Sinem Yılmaz³, Petek Ballar
Kırmızıbayrak¹, Burcu Erbaykent Tepedelen²

¹University of Ege, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Izmir

²University of Uludağ, Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Bursa

³*Izmir Institute of Technology, Faculty of Engineering,
Department of Bioengineering, Izmir*

Objective: The aim of this study is to screen of novel PARP inhibitors and to investigate the anti-proliferative effect and activity mechanism of these inhibitors in cancer cells.

Materials-Methods:. For this purpose, the effect of hundreds of different compounds on intracellular levels of PARYlation induced with oxidative stress was measured fluorometrically. The cytotoxic effects of compounds affecting PARYlation levels were assessed by MTT assay both in cancer cells with (Capan-1, HCC1937) and without (HeLa, MCF7) HR defects and in non-tumoral fibroblast (MRC5) cells. Levels of DNA repair proteins were examined by immunoblotting to investigate the mechanism of inhibition.

Results: In our results, it was determined that bosutinib, a Src / Abl kinase inhibitor, is effective as a PARP inhibitor among the screening compounds and reduces the intracellular PARylation levels with nuclear foci formations. The highest cytotoxic effect was observed in the Capan1 cells with the HR defect, while bosutinib acts as chemosensitizer in Hela cells by increasing the efficacy of conventional chemotherapeutics. Furthermore, we observed that the phosphorylation level of DNA repair proteins ATM and Chk1 was decreased, while DNA damage marker γ H2AX level was increased in the presence of bosutinib.

Conclusion: It was concluded that Bosutinib, as a PARP inhibitor, might be a potential candidate for chemotherapeutic drug development studies intended for specific cancer cells.

PS - 204

Palladyum nanoparçacıkları, akciğer kanser hücrelerinde reaktif oksijen türleri aracılığıyla apoptozu seçici olarak indüklemektedir

Merve Erkisa¹, Gülay Büyükköroğlu², Behiye Şenel²,
Veysel Turan Yılmaz³, Engin Ulukaya¹, Ferda Arı⁴

¹*İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

²Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

³Uludağ Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

⁴Uludağ Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

Dünyadaki çoğu erkek ve kadında kansere bağlı ölümlerin nedenlerinden biri akciğer kanseridir. Akciğer kanseri standart tedavi yöntemleri arasında cerrahi, radyasyon ve kemoterapi bulunmaktadır.

Nanoteknolojinin hızla gelişmesi ile birlikte nanomalzemelerin potansiyel toksik etkileri insanların ilgisini çekmeye başlamıştır. Bu çalışmada, Palladyum (II) 'nin PEG-DSPE misel formülasyonunun (PdNP) akciğer kanseri üzerindeki sitotoksik ve apoptotik etkilerini değerlendirmek amaçlanmıştır.

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (NSLC) hücre hattı H1299; PdNP (0.5-5µg / ml) 'nin farklı konsantrasyonları ile tedavi edildikten 48 saat sonra hücre canlılığı üzerine etkileri SRB ve ATP canlılık testleri ile belirlendi. Nükleer morfoloji ve plazma membran bütünlüğü 12 saat ve 24 saat boyunca flüoresan boyama ile görüntülendi. Apoptozisin indüksiyonu 1 µg/ml dozunda 24 ve 48 saat süren tedavi sonucu Flow sitometri ile (Kaspaz 3/4 aktivitesi, Annexin-V, Mitokondri membran potansiyeli (MMP), Bcl-2 aktivasyonu, JC-1 boyası, hücre döngüsü ve oksidatif stres seviyesi) doğrulanmıştır.

H1299 hücre nattında PdNP’i doza bağımlı olarak hücre canlılığında önemli bir azalmaya neden olmuştur. PdNP ile tedavi edildikten sonra hücrelerde apoptotik belirteçlerden olan pyknotik çekirdekler ve sub-G1 hipodiploid hücreler gözlenmiştir. Tedavi sonucu hücrelerde reaktif oksijen türlerinin seviyesinde artış görülürken hücrelerde mitokondri bağımlı apoptotik yolağın indüklendiği görülmüştür.

Palladium nanoparticles selectively induce apoptosis in lung cancer cells through reactive oxygen species

Merve Erkisa¹, Gülay Büyükköroğlu², Behiye Şenel²,
Veysel Turan Yılmaz³, Engin Ulukaya¹, Ferda Arı⁴

¹Istinye University, Faculty of Medicine, Department of Clinical Biochemistry, Istanbul, Turkey

²Anadolu University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Biotechnology, Eskişehir, Turkey

³Uludag University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Chemistry, Bursa, Turkey

⁴Uludag University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Bursa, Turkey

One of the leading causes of cancer-associated deaths in most men and women in the world is lung cancer. Current standards of care for lung cancer includes surgery, radiation, and chemotherapy. With the fast development of nanotechnology, the nanomaterials start to cause people's attention for potential toxic effect. In the present study, it was aimed to evaluate the cytotoxic and apoptotic effects of Palladium (II) in PEG-DSPE micelle formulation (PdNP) on lung cancer. The non-small cell lung cancer (NSLC) cell line H1299 was treated with different concentration of PdNP (0.5-5µg/ml) effects on cell viability were detected by SRB and ATP assay at 48 h. Nuclear morphology and plasma membrane integrity were visualized fluorescence staining for 12h and 24h. The induction of apoptosis was confirmed by (Caspase 3/7 activity, Annexin-V, Mitochondria membrane potential (MMP), Bcl-2 activation, JC-1 dye, cell cycle and oxidative stress level) by Flow cytometry at the concentration (1 µg/ml) for 24h and 48h.

PdNP showed anti-growth effect against H1299 cell in a dose dependent manner. Pyknotic nuclei and sub-G1hypodiploid cells well-known markers for apoptosis, was observed after treatment with PdNP. However, PdNP induced a mitochondria-dependent apoptotic pathway via modulation of Bcl-2 expressions, resulting in the disruption of mitochondrial membrane potential. PdNP induced reactive oxygen species generation. PdNP induce cytotoxicity and apoptosis in H1299 cancer cells, and this effect is likely mediated through ROS generation and mitochondrial mechanism. Therefore, PdNP may be used for the treatment of non-small cell lung cancer that is extremely resistant to conventional therapy.

Supported by Uludag University with a project number of BUAP(F)-2014/3

PS - 205

Göğüs kanseri hücrelerinde insan epidermik büyüme faktörü reseptörü 2'nin fazla ekspresyonunun Warburg etkisi ile korelasyonu

Ufuk Özer¹, Hexin Chen²

¹Dicle Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Diyarbakır

²Kolon Kanseri Araştırma Merkezi, South Carolina Üniversitesi, Columbia, SC, USA

Amaç: İnsan epidermik büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) geni agresif fenotiplerle birlikte göğüs kanserinde %30 fazla ifade edilir. Hücre içi sinyal yollarının modülasyonu tümör oluşumunu tetikleyen değişken hücre metabolizmasına yol açar ve hücreleri kanser hücresi metabolizmasına adapte eder ki bu Warburg etkisi olarak bilinen kanser metabolizmasının karakteristik bir özelliğini verir. HER2 overekspresyonu ve Warburg etkisi arasındaki bağlantı üzerine detaylı bilgi yoktur. Biz HER2 overekspresyonunda aerobik glikolizisin doğasını araştırdık.

Gereç-Yöntem: Mitokondri membran potansiyeli ($\Delta\psi_m$) ve reaktif oksijen türlerini (ROS) floresan mikroskop ve flow sitometriden yararlanarak ölçmek için hücreler sırasıyla JC-1 ve H2DCFDA problemi ile muamele edildi. Demir seviyeleri ferrozin metodu ile ölçüldü. ATP, laktat, kompleks I ve glukoz seviyeleri ticari kitler ile saptandı.

Bulgular: MCF7-HER2 hücrelerinde mitokondriyal disfonksiyon, ROS birikimi ve daha yüksek hücre içi demir seviyeleri görüldü. Ayrıca, bu hücreler glukoz seviyelerindeki artışla bağlantılı olarak ATP ve laktat seviyelerinde de artış gösterdi. Kompleks I aktivitesinin MCF7-vec e nazaran MCF7-HER2 hcrelerinde arttığını bulduk. Ayrıca, bu aktivite HCC1954-HER2 KD de HCC1954-vec hücrelerine nazaran daha azdı.

Sonuç: Göğüs kanseri hücrelerinde HER2 overekspresyonu Warburg etkisinin metabolik göstergeleri ile ilgilidir. HER2'yi fazla eksprese eden göğüs kanseri hücrelerindeki gibi agresif fenotipli hücreler daha hızlı büyürler ve daha fazla enerjiye ihtiyaç duyarlar. Bu çalışmada HER2 overekspresyonunun Warburg etkisini kullandığını gösterdik, bu metabolik olarak laktat-kazanımlı ATP'ye geçmenin desteklendiği anlamına gelir. Bu da HER2 sinyalizasyonunu hedeflemek için bir yol sağlayabilir.

Correlation of human epidermal growth factor receptor 2 overexpression in breast cancer cells with Warburg effect

Ufuk Özer¹, Hexin Chen²

¹Department of Molecular Biology and Genetics, School of Science, Dicle University, Diyarbakır, Turkey

²Center for Colon Cancer Research, University of South Carolina, Columbia, SC, USA

Objective: Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) is overexpressed in 30% of breast cancers in association with aggressive phenotypes. The modulation of intracellular signalling pathways leads to altered cell metabolism that triggers tumorigenesis and adapts cells to cancer cell metabolism, giving a characteristic hallmark of cancer metabolism known as Warburg effect. Little detail exists on the link between HER2 overexpression and Warburg effect. We have committed examining the nature of aerobic glycolysis in HER2 overexpression.

Materials-Methods: Cells were treated with JC-1 and H2DCFDA probes to determine respectively mitochondrial membrane potential ($\Delta\psi_m$) and reactive oxygen species (ROS) utilizing fluorescence microscopy and flow cytometry. Iron levels were measured by ferrozine assay. Levels of ATP, lactate, complex I activity and glucose were detected by commercial kits.

Results: Mitochondrial dysfunction, ROS accumulation and higher intracellular iron levels have been shown in MCF7-HER2 cells. Additionally, MCF7-HER2 cells show enhanced levels of ATP and lactate in association with increase in glucose levels. We have found that complex I activity is increased in MCF7-HER2 compared to MCF7-vec. Additionally, the activity is lower in HCC1954-HER2 KD than HCC1954-vec cells.

Conclusion: HER2 overexpression in breast cancer cells is correlated with metabolic biomarkers of Warburg effect. Cancer cells with aggressive phenotypes like HER2 overexpressed breast cancer cells grow faster and require more energy. In this study, we show HER2 overexpression drives Warburg effect in breast cancer cell lines, meaning boosting metabolic shift to lactate-derived ATP. This might provide an approach to target HER2 signalling.

PS - 206

Benzofuran içeren yeni kalkon bileşiklerinin kolon kanseri üzerine olan sitotoksik/apoptotik etkilerinin incelenmesi

Merve Erkisa¹, Pınar Alper¹, Demet Coşkun², Engin
Ulukaya¹, Ferda Arı³

¹*İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, 34010, İstanbul, Türkiye*

²Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, 23119, Elazığ, Türkiye

³Uludağ Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
16059, Bursa, Türkiye

Amaç: Kolon kanseri dünyada en fazla görülen kanser türleri arasında üçüncü sırada yer almaktadır. Yaşam tarzı ve çevresel faktörlerle de ilişkilendirilen kolon kanserinin kalıtsal olarak da aktarılır. Dünyada her yıl tanı koyulan kanser vakalarının %10'unu kolon kanseri hastaları oluşturmaktadır. Hem doğal hem de sentetik olarak elde edilebilen kalkon bileşikler; karsinogenez sürecinde etkili olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle çalışmamızda, benzofuran [1-(7-ethoxy-1-benzofuran-2-yl)] sübstitüe kalkon türevi bileşiklerin kolon kanseri hücreleri üzerine olan sitotoksik/apoptotik etkilerini inceledik.

Gereç-Yöntem: İnsan kolon kanseri hücre soyları HCT-15, HCT-116, HT-29, benzofuran sübstitüe kalkon bileşikler olan 3a ve 3e'nin azalan (100-1,56 μ M) dozları uygulanarak SRB sitotoksite testi çalışılmış ve daha sonra aynı dozlar ATP sitotoksite yöntemiyle çalışılarak sonuçlar doğrulanmıştır. H2DCFDA florensans boyama ile oksidatif stres düzeyleri ölçüldükten sonra apoptosis induksiyonu (Kaspaz 3/7, Anneksin-V), DNA hasarı (γ -H2AX) ve mitokondri membran potansiyeli ölçümü için akım sitometrisi yöntemi çalışılmıştır.

Bulgular: Söz konusu bileşiklerle 48 saatlik tedavi sonucunda yüksek sitotoksik aktivite bulunmasının ardından oksidatif stres düzeylerinin yüksek olduğu görülmüştür. Akım sitometrisi sonuçları göz önüne alındığında Anneksin V, Kaspaz 3/7 düzeyleri ve mitokondri membran potansiyelindeki artışlar saptanmıştır. Ayrıca γ -H2AX düzeyinde de artışlar mevcuttur.

Sonuç: Çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlara göre kalkan türevi 3a ve 3e bileşikleri, insan kolon kanseri hücre hatlarında apoptozisi indükleyerek ölüme götürdüğü görülmektedir. Bunun yanında önemli ölçüde oksidatif stres ve DNA hasarına yol açmaktadır. Bütün bu sonuçlar göz önüne alındığında, benzofuran sübstitüe kalkan bileşiklerinin kolon kanseri tedavisinde kullanılabilir fakat mekanizmaların daha iyi aydınlatılması için ileri analizlere gereksinim olduğu düşünülmektedir.

Cytotoxic/Apoptotic effects of the benzofuran-substituted chalcone derivatives in colon cancer

Merve Erkisa¹, Pınar Alper¹, Demet Coşkun², Engin
Ulukaya¹, Ferda Ari³

¹Istinye University, Faculty of Medicine, Department of Clinical Biochemistry, 34010, Istanbul, Turkey

²Firat University, Faculty of Science, Department of Chemistry,
23119, Elazig, Turkey

³Uludag University, Faculty of Science and Arts, Department of Biology, 16059, Bursa, Turkey

Objective: Colon cancer is the third most common cancer type in the world. It is transferring hereditary and associated with lifestyle and environmental factors. 10% of the cancer cases diagnosed annually are colon cancer patients worldwide. Synthetic and naturally occurring chalcones is determined to be effective in the carcinogenesis process. For this reason, we have examined the cytotoxic/apoptotic effects of the benzofuran [1-(7-ethoxy-1-benzofuran-2-yl)] substituted chalcone derived compounds on the colon cancer cells.

Materials-Methods: SRB cytotoxicity assay was performed using human colon cancer cell lines HCT-15, HCT-116, HT-29, decreasing (100-1,56 μ M) doses of 3a and 3e of the benzofuran substituted chalcone derived compounds and then ATP cytotoxicity assay used for confirmation. After measuring oxidative stress levels by H2DCFDA fluorescence staining, flow cytometry method was used for apoptosis (Caspase 3/7, Annexin-V), DNA damage (γ -H2AX) and mitochondrial membrane potential measurements.

Results: Oxidative stress levels were found to be high after the 48 hours of treatment with the compounds, after the detection of high cytotoxic activity. Considering the results of flow cytometry, increases in Annexin-V, Caspase 3/7 levels and mitochondrial membrane potential were determined. There were also increases in γ -H2AX levels.

Conclusion: According to the results obtained from the present study, it has been seen that the compounds of chalcone derivatives lead to death by inducing apoptosis, oxidative stress and DNA damage in human colon cancer. Taking all these results into consideration, it is thought that the benzofuran substituted chalcone derived compounds promising compounds for colon cancer treatment but further experiments are needed for clarification of underlying molecular mechanisms.

PS - 207

BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonlarının Yeni Nesil Dizileme ile saptanması ve meme kanseri ile ilişkilendirilmesi

Özge Can¹, Arzu Yaren², Gamze Gököz Doğu², Hakan Akça³

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Van -
Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Denizli

³Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD, Denizli

Amaç: *BRCA1/2* genlerindeki mutasyonlar meme kanserinin ortaya çıkmasındaki en önemli risk faktörlerinden biridir. Bu çalışmanın amacı; aile öyküsü bulunan ve/veya meme kanser tanısı almış olgularda meme kanseri ile ilişkili mutasyonların Yeni Nesil Dizileme (NGS) yöntemi ile saptanarak kliniğe yönelik prediktif ve prognostik yarar sağlamaktır.

Gereç-Yöntem: Bu derlemede, halen devam etmekte olan çalışmamızdaki 90 hasta (4 erkek/86kadın) ve 1 kadın kontrolden elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Olguların periferik kanından DNA izolasyonunu takiben gerçekleştirilen NGS yönteminden elde edilen veriler ‘Integrative Genomics Viewer’ ve ‘Ion Reporter Software’ ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Analiz sonucunda, *BRCA1* geninde 30 benign, 5 klinik anlamı bilinmeyen, 3 patojenik ve literatürde henüz yer almayan 1 varyasyon saptanmıştır. *BRCA2* geninde ise 38 benign, 6 klinik olarak anlamı bilinmeyen, 6 patojenik ve literatürde henüz yer almayan 2 varyasyona rastlanılmıştır. Literatürde henüz yer almayan bu mutasyonlar *BRCA1* geninin 21. ekzondaki 'c.5394delC', *BRCA2* geninin 19. ekzonundaki 'c.8415_8416insT' ve 24. intronundaki 'chr13:32954294_32954299delTATAGT' varyasyonlarıdır. Bu varyasyonlardan bazıları *in silico* tahmin programı olan Mutation Taster tarafından 'hastalık sebebi' olarak öngörülmüştür. Ayrıca bu varyasyonlar çalışmamızın kontrol olgusunda görülmezken 90 hastada farklı tek olgularda gözlenmiştir.

Sonuç: Bu durum, varyasyonların düşük gözlenme sıklığına sahip olduğunu bu yüzden patojenik özelliklerinin yüksek olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle literatüre katkı sağlayabilmek adına daha büyük popülasyonlarda gerçekleştirilecek ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Determination of BRCA1 and BRCA2 gene mutations by Next Generation Sequencing and associating with breast cancer

Özge Can¹, Arzu Yaren², Gamze Gököz Doğu², Hakan Akça³

¹Yuzuncu Yil University School of Medicine, Department of Medical Biology, Van - Pamukkale University School of Medicine, Department of Medical Biology, Denizli

²Pamukkale University School of Medicine, Department of Internal Diseases, Denizli

³*Pamukkale University School of Medicine, Department of Medical Genetics, Denizli*

Objective: *BRCA1* and *BRCA2* mutations are one of the important risk factors which cause initiation of breast cancer. The aim of this study is determination by using Next Generation Sequencing (NGS) of mutations which associated with breast cancer at cases which have family history and/or diagnosed with breast cancer and providing predictive and prognostic benefits for clinic approaches.

Materials-Methods: In this report, the data which obtained from 90 patients (86 female/4 male) and 1 female control in our ongoing work. The data, obtained by using NGS following DNA isolation from peripheral blood of cases, analysed with 'Integrative Genomics Viewer' and 'Ion Reporter Software'.

Results: As result of analysis, while in *BRCA1*, 30 benign, 5 unknown significance, 3 pathogenic and 1 variation which is not yet in the literature are determined, in *BRCA2*, 38 benign, 6 unknown significance, 6 pathogenic and 2 variations which are not yet in the literature are determined. These variations which are not yet in the literature are 'c.5394delC' in 21st exon of *BRCA1*, 'c.8415_8416insT' 19st exon of *BRCA2* and 'chr13:32954294_32954299delTATAGT' in 24st intron of *BRCA2*. Some of these variations were estimated as 'disease causing' by an in silico estimation software 'Mutation Taster'. Also, while these variations were not determined in control case, were determined in only one unique patients different from each other.

Conclusion: This situation suggests that the variations have low frequency, so they may have high pathogenic characteristics. Therefore, further studies are needed in larger populations in order to contribute the literature.

PS - 208

Leptin ve Leptin Reseptörü gen varyantları ile kolorektal kanser arasındaki ilişki üzerine bir çalışma

Neslihan Korkmaz¹, Adnan Selim Kimyon¹, Esra Ermiş¹,
Tuba Edgünlü², Erkan Arpacı³, Hüseyin Engin³, Sevim
Karakaş Çelik¹

¹Bülent Ecevit Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik AD,
Zonguldak

²Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD,
Muğla

³Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji AD,
Zonguldak

Amaç: Kolorektal kanser; kalın bağırsak ve rektumda görülen malign oluşumlardır. Etyopatolojisi henüz net olarak aydınlatılmamış olan çevresel ve genetik faktörlerin etkili olduğu bilinen bir hastalıktır. Çalışmamızda, adipositler tarafından salgılanan enerji dengesi, besin alınının düzenlenmesi ve besin emiliminde önemli rol oynayan leptin (LEP) ve leptin reseptörlerine (LEPR) ait gen polimorfizimlerinin kolorektal kanser ile ilişkisinin araştırılması amaçlandı.

Gereç-Yöntem: Çalışmamıza 55 kolorektal kanseri tanısı almış hasta ve 54 sağlıklı birey dahil edildi. Bireylerden alınan kanlardan DNA izolasyon kiti yöntemiyle DNA lar elde edildi. LEP rs7799039 ve LEPR rs137101 gen polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemi ile analiz edildi.

Bulgular: Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, LEPR rs1137101 gen polimorfizmine ait AG genotipinin hastalık riskini 2,6 kat artırdığı tespit edildi ($p<0.05$). Ancak, kolorektal kanserli olgular ve LEPR rs7799039 geni arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

Sonuç: Çalışmamız sonucunda LEPR rs7799039 gen polimorfizminin kolorektal kanser etyopatogenezinde etkili olabileceği tespit edilmiştir. Sonraki aşamalarda, daha geniş popülasyonlarda, genlere ait ekspresyon düzeylerinin de araştırılması uygun olacaktır.

A study on the relationship between Leptin and Leptin Receptor Gene variants and colorectal cancer

Neslihan Korkmaz¹, Adnan Selim Kimyon¹, Esra Ermiş¹,
Tuba Edgünlü², Erkan Arpacı³, Hüseyin Engin³, Sevim
Karakaş Çelik¹

¹Department of Molecular Biology and Genetics, Bülent Ecevit University, Zonguldak

²Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Mugla
Sitki Kocman University, Mugla

³Department of Oncology, Faculty of Medicine, Bulent Ecevit University, Zonguldak, Turkey

Objective: Colorectal cancer; malignant occurrences in the large intestine and rectum. Etiopathology of the disease has known to be influenced by environmental and genetic factors that are not yet clearly understood. We aimed to investigate the relationship between colorectal cancer and gene polymorphisms of leptin (LEP) and leptin receptors (LEPR), which play an important role in regulation of nutrient uptake and regulation of nutrient uptake and energy balance secreted by adipocytes.

Materials-Methods: The study included 55 patients with colorectal cancer and 54 healthy individuals. DNA was obtained from the blood obtained from individuals by DNA isolation kit method. LEP rs7799039 and LEPR rs1137101 gene polymorphisms were analyzed by PCR-RFLP method.

Results: Result of this study with statistically analysis; AG genotype of LEPR rs1137101 gene polymorphism was found to increase the risk of disease 2.6 times ($p < 0.05$). However, no significant correlation was found between colorectal cancer and LEP rs7799039 gene polymorphism ($p > 0.05$).

Conclusion: Consequently, it was determined that LEPR rs7799039 gene polymorphism may be effective in the etiopathogenesis of colorectal cancer. In further study; it may be investigate to these gene expression levels in large populations.

PS - 209

Sporadik kolorektal kanser ile ilişkilendirilmiş aday tekli nükleotit polimorfizmlerinin Türk popülasyonu için değerlendirilmesi

Zühal Bilici¹, Özge Cumaogullari¹, Özlem İlk Dag², Ayhan Kuzu³, Hilal Özdağ¹

¹Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara

²Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, İstatistik Bölümü, Ankara

³ *Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, Ankara*

Amaç: Kolorektal kanserin (KRK) görülme sıklığı Türkiye genelinde üçüncü, erkeklerde üçüncü ve kadınlarda ikinci sırada yer almaktadır. Kolorektal kanser içerisinde ise sporadik kolorektal kanser %70-80 oranına sahiptir. Genom boyu asosiyasyon çalışmaları (GBAÇ), kompleks hastalıkların ortaya çıkmasında rol oynayan genetik bileşenlerin belirlenmesi için kullanılan bir yöntemdir. Bu çerçevede olmak üzere kompleks hastalıklarla ilişkili olan genlerin tanımlanmasına tekli nükleotid polimorfizmleri (TNP) belirteç olarak katkıda bulunmaktadır. TNP'ler bireyler arasında farklılık gösterdiği gibi popülasyonlar arasında da farklılık göstermektedir. Popülasyonlar arasında görülen farklılıklardan dolayı çeşitli popülasyonlarda tanımlanmış olan TNP'lerin farklı coğrafik bölgelerde yaşayan toplumlar için de valide edilmesi gereklidir. Bu nedenledir ki, bu çalışmada, Avrupa popülasyonlarında geniş örneklemeler üzerinde yürütülmüş GBAÇ'larda KRK ile yüksek istatistikî güç ve anlamlılık ile ilişkilendirilmiş olan TNP'lerin Türk popülasyonunda da sporadik KRK ile ilişkili olup olmadığının ortaya çıkarılması hedeflenmiştir.

Gereç-Yöntem: Bu kapsamdaki 16 TNP 1019 sporadik kolorektal kanser hastası ve 948 sağlıklı kontrolden oluşan örneklem için Kompetitive Allele Specific PCR (KASP) teknolojisi ile değerlendirilmiştir. İstatistik analizler Cochran-Armitage ki-kare testi ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Bu çalışma sonucunda, 8 TNP (rs6983267, rs1321311, rs4939827, rs16892766, rs3802842, rs10795668, rs4444235 ve rs961253) Türk toplumu için sırası ile 1.8×10^{-4} , 2×10^{-4} , 7×10^{-3} , 1×10^{-4} , 4×10^{-3} , 1.79×10^{-4} , 1.62×10^{-4} , 8×10^{-4} p değerleri ile anlamlı bulunmuştur.

Sonuç: Elde ettiğimiz sonuçlar ile Avrupa popülasyonlarında sporadik kolorektal kanser ile ilişkilendirilmiş TNP'lerin bir kısmının Türk toplumu için anlamlı olduğu ilk kez gösterilmiştir. Bu sonuçlar, Türk popülasyonunda sporadik kolorektal kansere genetik yatkınlığa sebep olan bölgelerin belirlenmesine, ve daha da ötesinde Türk popülasyonunda görülen KRK'e genetik yatkınlık ve bu hastalığın prognozu ile ilgili genetik barkodların oluşturulmasına önemli katkılar sağlayacaktır.

Evaluation of candidate single nucleotide polymorphisms associated with sporadic colorectal cancer for Turkish population

Zülal Bilici¹, Özge Cumaogullari¹, Özlem İlk Dag², Ayhan Kuzu³, Hilal Özdağ¹

¹Biotechnology Institute, Ankara University, Ankara, Turkey

²Faculty of Arts and Science, Department of Statistics, Middle East Technical University, Ankara, Turkey

³Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Ankara University, Ankara, Turkey

Objective: Colorectal cancer (CRC) is the third most seen cancer in Turkey (third cancer in males and second in females). Sporadic CRC consist of 70-80% of all CRC cases. Genome wide association studies (GWAS) are used to identify genetic components that play a role in the emergence of complex diseases. Within this context, single nucleotide polymorphisms (SNPs) are used a genetic markers to identify genes associated with complex disease. It is well known that SNP's differ among populations as among individuals. Thus, SNPs should be validated in different population live in distinct geographical regions. The aim of this study is therefore to validate SNPs associated with CRC with high statistical significance in western populations, for CRC cases in Turkish population.

Materials-Methods: 16 SNPs found to be associated with CRC were analysed on 1019 sporadic CRC patients and 948 controls from Turkish population. Genotyping was conducted using KASP (Kompetitive Allel Specific PCR) technology. Statistical analysis was carried out with Cochran-Armitage chi-square test.

Results: As a result of this study, 8 SNPs (rs6983267, rs1321311, rs4939827, rs16892766, rs3802842, rs10795668, rs4444235 ve rs961253) were found to be associated with CRC ($p=1.8 \times 10^{-4}$, 2×10^{-4} , 7×10^{-3} , 1×10^{-4} , 4×10^{-3} , 1.79×10^{-4} , 1.62×10^{-4} , 8×10^{-4} , respectively) for Turkish population.

Conclusion: In this study, for the first time, SNPs associated with sporadic CRC in European population have been validated for the Turkish population. These results will contribute to the identification of genetic loci predisposing to CRC in Turkish population and the development of genetic barcodes for the predisposition and prognosis of CRC in Turkish population.

Bu projedeki analizler Türk Onkoloji Grubu tarafından desteklenmiştir. Örneklerin toplanması ise TÜBİTAK 112S634 numaralı proje desteği ile gerçekleştirilmiştir. Örneklerin toplanması Türk Sporadik Kolorektal Kanser Grubu tarafından Türkiye'nin yedi bölgesinden çeşitli üniversite ve hastanelerde görevli hocaların katkıları ile gerçekleştirilmiştir.

PS - 210

22 KLL olgusunda 17p Ve 13q delesyonlarının birlikte değerlendirilmesi

R. Dilhan Kuru¹, Melike Yılmaz¹, Ayşe Çırakoğlu¹, Şükrîye Yılmaz¹, Başak Aslaneli Çakmak¹, Yelda Tarkan Argüden¹, Ayhan Deviren¹, Teoman Soysal², Seniha Hacıhanefioğlu¹

¹*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

²*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul*

Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) hastalarının ~ %80'inde Fluoresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemiyle genomik düzensizlikler tespit edilmektedir. En yaygın gözlenen anomaliler, 13q delesyonu, 12 trizomisi, 11q, 17p ve 6q delesyonlarıdır. KLL hastalarında gözlenen bu anomaliler hastalığın prognozu ve sağkalım süresiyle ilişkili olarak önemlidir. 17p delesyonlu hastalar kötü prognosis gösterirken, 13q delesyonunu tek başına taşıyan hastalar daha iyi klinik tablo gösterirler. 13q delesyonlarının minimal delesyon bölgesi (MDR) 13q14.3 noktası olarak belirlenmiştir. 13q delesyonlu KLL hastalarının ~%30'unda mono allelik delesyonların yanı sıra biallelik delesyonlar da gözlenir. 17p delesyon bölgesinde TP53 tümör baskılayıcı geni bulunmaktadır. Bu bölgenin kaybı kemoterapiye cevabı etkilemektedir ve kötü prognosis belirteci olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada 22 KLL hastasının interfaz FISH (iFISH) yöntemiyle elde edilen 17p ve 13q delesyon sonuçlarının birbirleriyle ve hastaların klinik tablosuyla karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Çalışma grubu yaşları 40-85 (ortanca yaş 66,5) arasında, değişik evrelerdeki 10 kadın ve 12 erkek KLL olgusundan oluşmaktadır. Olguların perifer kanları 17p ve 13q14.3 delesyon problemlerinin kullanıldığı iFISH yöntemi uygulanarak, incelenmiştir.

14 olguda 13q14.3 ve 17p kaybı birlikte saptanırken, 7 olguda 17p kaybı ve bir olguda ise 13q14.3 delesyonu tek başına gözlenmiştir. Biallelik delesyon oranı yüksek olan beş olguda 17pdel yüzdesi de yüksek bulunmuştur. Ancak FISH sonuçlarıyla olguların evreleri arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır.

Sonuçlarımız literatürle karşılaştırıldığında 13q ve 17p delesyonunun birlikte görülme yüzdesi daha yüksek saptanmıştır. 17p delesyonun 13q delesyonunun iyi prognoz etkisini tersine çevirdiği bildirilmektedir. Sonuç olarak, KLL olgularında bu iki probun tanı amaçlı olarak kullanılmasının prognoz ve uygun tedavinin belirlenebilmesi açısından daha faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

Evaluation of 17p And 13q deletions together In 22 CLL Cases

R. Dilhan Kuru¹, Melike Yılmaz¹, Ayşe Çırakoğlu¹, Şükriye Yılmaz¹, Başak Aslaneli Çakmak¹, Yelda Tarkan Argüden¹, Ayhan Deviren¹, Teoman Soysal², Seniha Hacıhanefioğlu¹

¹Department of Medical Biology, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey

²Division of Hematology, Internal Medicine, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey

Genomic aberrations are identified in ~80% of Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) cases by fluorescence in-situ hybridization (FISH) with disease specific probes. Most common chromosomal abnormalities include deletion 13q, trisomy 12, deletion 11q, 17p and 6q. These aberrations are related with disease progression and overall survival time. While patients with 17p deletion have poor prognosis, cases with 13q deletion have better. Minimal deleted region (MDR) of 13q deletions is 13q14.3. Biallelic deletions have been described in ~30% of 13q deleted patients along with monoallelic deletions. TP53 tumor suppressor gene located 17p deletion region. Loss of this region affects response to chemotherapy and is a poor prognostic marker. We aimed to compare results of 17p and 13q deletion statuses of 22 CLL patients determined by interphase FISH (iFISH) with each other and clinics of patients.

Study group consists of 10 female and 12 male between 40-85 (median 66.5) years in different stages of CLL. Peripheral blood samples were evaluated by iFISH using probes for 17p and 13q14.3 regions. While losses of 13q14.3 and 17p were observed together in 14 cases, in 7 cases 17p deletion and in one case 13q deletion were sole abnormalities. In 5 cases with high biallelic deletion rates for 13q deletion, ratio of 17p deletion was also high. There was no correlation between FISH results and disease stages of cases. In comparison with literature, rate of coexistence of 13q and 17p deletions is higher in our patients. It is reported that 17p deletions reversed the good impact of 13q deletions on prognosis. In conclusion, usage of these two probes in CLL patients for diagnosis will be useful in determination of prognosis and appropriate treatment.

PS - 211

Transkriptom tabanlı sistem biyobelirteçleri: over kanserinde yeni bir prognostik gen modülü

Kazım Yalçın Arğa¹, Esra Gov²

²Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü,
Adana

Over kanseri, kadınların yüzüylü aşkın bir süredir çektiğı jinekolojik hastalıklar arasında en önemli hastalıklardan biridir. Ancak, çalışmalar gen ürünlerinin arasındaki etkileşimleri ve ilişkileri ihmal ederek over kanseriyle ilişkili genlere odaklanmakta olduğı için, hastalığa özgü ve etkili biyobelirteçler hala ulaşılabilir değildir. Bu çalışmada, over kanseri ilişkili genleri ve onların etkileşimlerini sunmak için, gen ekspresyon verilerinin meta-analizi yoluyla over kanseri diferansiyel ko-ekspresyon ağı oluşturulmuştur ve ko-ekprese edilen gen modülleri over tümöründen alınan epitel hücrelerinde ve sağlıklı over yüzey epiteli örneklerinde tespit edilmiştir. Biz bu çalışmada, over kanserinde 84 prognostik genin oluşturduğı, özgün, yüksek derecede birbirine bağı, diferansiyel ko-eksprese ve ko-regüle edilen bir gen modülü sunmaktayız. Buna ek olarak, modülün over kanserine özgüllüğü 9 diğerkanserdeki verisetlerin analiziyle gösterilmiştir. Bu gözlemler, over kanserinin anlaşılması zor patofizyolojisini çözmede transkriptoma dayalı sistem biyobelirteç araştırmalarının öneminin altını çizmektedir, ve biz burada aday over kanseri genleri ve onların transkripsiyonel düzenleyici dinamiğı arasındaki karşılıklı etkileşimi sunmaktayız. İlişkili gen modülü, küresel sağlık üzerinde önemli bir yük oluşturmaya devam eden over kanseri prognozunda ve tedavisinde yeni görüşler sağlayabilir.

Transcriptome based systems biomarkers: a novel prognostic gene module in ovarian cancer

Kazım Yalçın Arğa¹, Esra Gov²

¹Department of Bioengineering, Marmara University, Istanbul

²Department of Bioengineering, Adana Science and Technology University, Adana

Ovarian cancer is one of the most significant diseases among gynecological disorders that women suffered from over the centuries. However, disease-specific and effective biomarkers were still not available, since studies have focused on individual genes associated with ovarian cancer, ignoring the interactions and associations among the gene products. Here, ovarian cancer differential co-expression networks were reconstructed via meta-analysis of gene expression data and co-expressed gene modules were identified in epithelial cells from ovarian tumor and healthy ovarian surface epithelial samples to propose ovarian cancer associated genes and their interactions. We propose a novel, highly interconnected, differentially co-expressed, and co-regulated gene module in ovarian cancer consisting of 84 prognostic genes. Furthermore, the specificity of the module to ovarian cancer was shown through analyses of datasets in nine other cancers. These observations underscore the importance of transcriptome based systems biomarkers research in deciphering the elusive pathophysiology of ovarian cancer, and here, we present reciprocal interplay between candidate ovarian cancer genes and their transcriptional regulatory dynamics. The corresponding gene module might provide new insights on ovarian cancer prognosis and treatment strategies that continue to place a significant burden on global health.

PS - 212

Kanserlerde diferansiyel protein etkileşim ağının kapsamlı haritalanması

Gizem Gülfidan¹, Beste Turanlı², Kazım Yalçın Arğa¹

²*İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul*

Protein-protein etkileşimleri, insan hastalıklarının altında yatan moleküler mekanizmayı aydınlatabilen ana biyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle, protein-protein etkileşimleri ağı analizi sıklıkla yeni biyobelirteçler ve ilaç hedefleri keşfetmek için gerçekleştirilmektedir. Ağ entropisi gibi ağların topolojik özellikleri biyolojik sistemlerdeki karmaşıklığı azaltmaya yardımcı olmakta ve bu sayede biyolojik problemlerin çözümmesini kolaylaştırmaktadır. Önceki çalışmalarımızda, ağ entropisindeki artış kanser hücrelerinin karakteristiğini belirlemiş ve yüksek güvenilirlikte insan protein etkileşiminden ve gen ekspresyon verilerinden yararlanılarak minimum entropi gösteren protein-protein etkileşimleri diferansiyel interaktom olarak kararlaştırılmıştır. Potansiyel biyobelirteçlerin ve terapötik hedeflerin tahmininde diferansiyel interaktomun yüksek doğruluğu over kanserinde gösterilmiştir. Bu çalışmada, çeşitli kanserlerde diferansiyel interaktomun belirlenmesi yoluyla her bir kanser türüne özgü veya çeşitli kanserler arasında ortak olan protein-protein etkileşim mekanizmalarını bulma ve bu mekanizmalardan yararlanarak kapsamlı bir harita oluşturma hedeflenmektedir. Bu amaçla, Kanser Genom Atlası (The Cancer Genome Atlas-TCGA) veri setlerinden 37 farklı kanser türü için gen ekspresyon verileri elde edilmiştir. Anlamlı protein-protein etkileşimlerini bulmak için bu veri setlerine diferansiyel interaktom algoritması uygulanmıştır. Bu protein-protein etkileşimleriyle ilişkili biyolojik süreçleri ve moleküler yolları tespit etmek için gen kümesi zenginleştirme analizi (GSEA) gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bu bulguların görselleştirilmesi, diyagnoz ve prognoz için potansiyel biyobelirteçler, ve kanser tedavisi için ilaç hedefleri olarak düşünülebilen proteinleri, onların fiziksel etkileşimlerini, özel bir kanser türü için dinamik olarak değişen süreçleri ve yolları gözlemlene imkanı sunmaktadır.

Comprehensive mapping of differential protein interactome in human cancers

Gizem Gülfidan¹, Beste Turanlı², Kazım Yalçın Arğa¹

¹Department of Bioengineering, Marmara University, Istanbul, Turkey

²Department of Bioengineering, Istanbul Medeniyet University, Istanbul, Turkey

Protein-protein interactions (PPIs) have important roles in major biological processes that can lead to elucidate the molecular mechanisms underlying human diseases. Therefore, PPI network analyses are frequently employed to discover novel biomarkers and drug targets. The topological properties of networks, such as network entropy, help to reduce the complexity in biological systems, and thus facilitate the solution of biological problems. In our previous studies, the increase in network entropy allowed the characterization of cancer cells, and PPIs representing minimum entropy were determined as the differential interactome by utilizing high confidence human protein interactome and gene expression data. The high accuracy of differential interactome in prediction of potential biomarkers and therapeutic targets was shown in ovarian cancer. Here, through identification of the differential interactome in several human cancers, we aimed to find the PPI mechanisms which are specific to each cancer type or mutual among various cancers and construct a comprehensive map of these mechanisms. For this purpose, gene expression data were obtained from The Cancer Genome Atlas (TCGA) for 37 different cancer types. The differential interactome algorithm was applied to these datasets in order to find out significant PPIs. Gene set enrichment analysis was carried out to detect biological processes and molecular pathways associated with these PPIs. Computational visualization of the findings enables us to observe the proteins, their physical interactions, processes and pathways that are dynamically altered in a specific cancer type, which might be considered as potential biomarkers for diagnosis and prognosis, and drug targets for cancer treatment.

TÜBİTAK/MAG/116M014 projesi kapsamında desteklenmiştir.

PS - 213

CCT137690' nın APL hücre hattı HL60 üzerinde anti-kanser etkilerinin değerlendirilmesi

Roya Gasımlı¹, Çağla Kayabaşı¹, Besra Özmen Yelken¹,
Aycan Aşık¹, Tuğçe Balcı Okcanoğlu², Fatma Söğütlü¹,
Sunde Yılmaz Süslüer¹, Çığır Biray Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Bornova İzmir

²Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu,
Lefkoşa Kıbrıs

Amaç: APL (15; 17) translokasyonu ve PML / RAR α gen füzyonunun ve kimerik proteinin oluşumu ile karakterizedir. Retinoidler, retinoik asit reseptörleri (RAR α , β ve γ) ve retinoid X reseptörleri (RXR' ler) olmak üzere iki sınıf nükleer reseptör proteinini aktive eder. RAR α , RXR ile etkileşime girer ve RAR α -RXR heterodimeri, hedef genlerin transkripsiyonunu diferansiyel olarak düzenlemede korepresör ve ya koaktivatör görevi alır. Mitozdaki hatalar genomik instabiliteye neden olduğu için tümörigenez'in kaynağıdır. Tümör hücrelerinde mitoz regülatörleri aşırı ekspresedir. İnsan Aurora protein ailesi mitozda diğer proteinlerle uyum içinde çalışan, üç üyeden oluşan önemli serin-treonin kinazlardır. Aurora disfonksiyonu mitotik arrest ve hücre ölümünü tetiklemektedir. Aurora kinazlar tümörlerde aşırı eksprese olduğu için bu enzimler terapötik hedeftir. CCT137690 Aurora A, Aurora B ve Aurora C'nin yüksek ölçüde selektif inhibitörüdür. Çalışmamızda APL HL60 hücre hattına CCT137690 uygulamasıyla oluşan anti-kanser etkinliğin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: CCT137690'in HL60 hücrelerindeki sitotoksik etkisi, hücrelerin CCT137690'in uygun doz aralıklarında (6nM-100 µM) 3 günlük muameleden sonra WST-8 testi ile belirlenmiştir. IC50 dozunun HL60 hücre hattında hücre döngüsü üzerine apoptotik etkinliği Annexin V testi ile, hücre döngüsü üzerine etkisi ise "BD Cycletest Plus kit" kullanılarak akım sitometrisi ile değerlendirildi.

Bulgular: APL HL60 hücre hattında CCT137690'nın IC50 değeri 48. saatte 524 nM olarak belirlendi. CCT137690'nın IC50 dozunun HL60 hücrelerinde hücre döngüsü arestine ve poliploidiye neden olduğu gözlenmiştir. Apoptoz üzerine etkisi değerlendirildiğinde apoptozu kontrole göre 4,8 kat indüklediği gözlenmiştir

Sonuç: CCT137690'ın HL60 hücreleri üzerinde belirgin sitotoksitesinden dolayı daha ileri düzey çalışmaların kliniğe önemli katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Evaluation of anti-cancer effects of CCT137690 on APL cell line HL60

Roya Gasımlı¹, Çağla Kayabaşı¹, Besra Özmen Yelken¹,
Aycan Aşık¹, Tuğçe Balcı Okcanoglu², Fatma Söğütü¹,
Sunde Yılmaz Süsluer¹, Çığır Biray Avcı¹, Cumhuriyet Gündüz¹

¹Ege University, Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Bornova, İzmir

²Near East University, Vocational School of Health Sciences,
Nicosia, Cyprus

Objective: APL (15; 17) characterized by translocation and the formation of the PM /RAR α gene fusion. RAR α interacts with RXR and the RAR α -RXR heterodimer acts as either a co-stimulator or a coactivator to differentially regulate the transcription of target genes. Faults in mitosis lead to genomic instability that source of tumorigenesis. Aurora protein family is an important serine-threonine kinase of three members, which works in harmony with other proteins in mitosis. Aurora dysfunction may cause mitotic arrest and cell death. Since aurora kinases are overexpressed in tumors, these enzymes are therapeutic targets. CCT137690 is a highly selective inhibitor of Aurora A, Aurora B and Aurora C. In our study, we aimed to determine the anticancer activity of CCL137690 applied to the APL HL60 cell line.

Materials-Methods: The cytotoxic effect of CCT137690 in HL60 cells was determined by WST-8 with dose of 6nm-100 μ M. The apoptotic activity on the cell cycle in the HL60 cell line of the IC50 dose was assessed by the Annexin V and the effect on the cell cycle was evaluated by flow cytometry using the "BD Cycletest Plus kit".

Results: The IC50 value of CCT137690 HL 60 cell line was determined as 524 nM at 48 hours. The IC50 dose of CCT137690 was observed to cause cell cycle arrest and polyploidy in HL60 cells. it was observed to induce apoptosis 4.8 times as compared to control.

Conclusion: Due to the cytotoxicity of CCT137690 on the HL60 cells, further studies are expected to contribute to the clinic.

PS - 214

Down Sendromu hastalarında görülen hematolojik malignitelerin retrospektif olarak değerlendirilmesi

Hilal Şahin¹, Dilhan Kuru¹, Ayşe Çırakoğlu¹, Şükriye Yılmaz¹, Yelda Argüden¹, Muhlis Cem Ar², Tiraje Celkan², Ayhan Deviren¹, Seniha Hacıhanefioğlu¹

¹*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, İstanbul*

²*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Hematoloji BD, İstanbul*

Down Sendromu (DS), 21. kromozomun trizomisinden kaynaklanan ve mental retardasyona sebep olan genetik bir hastalıktır. DS'lu yenidoğan ve çocuklarda hematopoetik sistemi ilgilendiren polisitemi, Akut Miyeloid Lösemi (AML) ve Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL), konjenital geçici miyeloproliferatif bozukluk gibi hematolojik patolojilerin görülme riski fazladır. Özel bir tümör profili bulunan DS'nda lösemi görülme sıklığı artarken, malign solid tümör sıklığı azalmaktadır. 5 yaşın altındaki çocuklarda özellikle myeloid lösemi sıklıkla görülmektedir. Bu çalışmada birimize Hematoloji Servislerinden refere edilen DS'na ek olarak lösemi tanısı alan 7 olgu sunulmaktadır. Çalışmada bu olguların incelenmesi ve literatürle karşılaştırılıp değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda konvansiyonel sitogenetik analizi için birimimize gönderilen, 0-3 yaş grubu 6 çocuk hasta ve 24 yaş bir yetişkin hasta olmak üzere toplam 7 DS tanılı olguya ait bulgular retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Refere edilen çocuk hastaların 4'ü AML, bunların 2'si AML-M7, bir çocuk ve 1 yetişkin hasta da B-ALL tanısı ile gelmiştir. Diğer bir çocuk hasta ise lösemi tanısı ile gelmiştir. Bu hastaların kemik iliği materyalinden 24 ve 48 saatlik indüklenmemiş kısa süreli kültür yöntemiyle elde edilen preparatlara GTL bant yöntemi uygulanarak sitogenetik açıdan değerlendirilmiştir.

7 olgunun 3'ünde değerlendirilecek kalitede metafaz bulunamazken, 4 olgu karyotiplendirilmiştir. Bir olguda 21 trizomisine ilaveten klonal kromozom sayı düzensizlikleri izlenirken, diğer olgularda sadece konstitüsyonel +21 kromozom yapısı gözlenmiştir. Literatüre göre DS'lu çocuklarda en sık görülen lösemi AML'dir. Özellikle AML'nin M7 tipi, DS'lu vakalarda normal pedyatrik populusyondan 500 kat daha fazla sıklıkta görülmektedir.

Bizim çalışmamızda da literatüre göre DS’nda en sık görülen bu lösemiler gözlenmiştir. Bulgularımızın bu bakımdan literatürle uyumlu olduğu gösterilmiştir.

Retrospective analysis of hematological malignancies which seen on Down Syndrome patients

Hilal Şahin¹, Dilhan Kuru¹, Ayşe Çırakoğlu¹, Şükriye Yılmaz¹, Yelda Argüden¹, Muhlis Cem Ar², Tiraje Celkan², Ayhan Deviren¹, Seniha Hacıhanefioğlu¹

¹*Istanbul University, Cerrahpasa Medical Faculty, Medical Biology, Istanbul*

²*Istanbul University, Cerrahpasa Medical Faculty, Internal Medicine Department, Hematology Services, Istanbul*

Down syndrome (DS), is a kind of genetic disorders triggered by 21. chromosome trisomy and causes mental retardation. Hematologic pathologies which are namely congenital transient myeloproliferative disorder, Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL), Acute Myeloid Leukemia (AML), polycythemia are highly possible to be observed on newborns and children with DS. DS which has a particular tumor profile increases the risk of leukemia. However, malignant solid tumor frequency is lowered. Myeloid leukemia can be seen frequently especially on children who are under age of 5. In this study 7 cases which are DS with leukemia being presented to community referenced by Hematology Services. Aim of this study is to analyze the provided cases and compare them with current literature.

In this study symptoms of 6 child patients and a 24 years old adult patient (sent to our service for cytogenetics analysis) are analyzed in retrospective way. 4 of the referred children are noted with AML diagnosis and 2 of those are also AML-M7. In addition adult patients is diagnosed as B-ALL. Other child patient came with leukemia diagnosis. The preparations obtained from the bone marrow material of these patients by 24 and 48 hour uninduced short-term culture method were evaluated cytogenetically by applying GTL banding method.

Metaphase was not found in 3 of 7 cases, 4 cases were karyotyped. In one case, clonal chromosome number irregularities were observed in addition to 21 trisomies. In other cases, only constructive +21 chromosome structure was observed.

According to the literature, the most common leukemia in children with DS is AML. In particular, the M7 type of AML is seen 500 times more frequently than the normal pediatric population in cases with DS.

In our study these leukemias was observed as the most common in DS according to the literature. We have shown that our findings are compatible with the literature in this regard.

PS - 216

c-Myc aracılı miR-548v upregulasyonu Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri karsinogenezini indükler

Sakir Akgün, Hakan Küüksayan, Onur Tokgün, Hakan Akça

*Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim
Dalı, Denizli, Türkiye*

Birçok transkripsiyon faktörü tarafından düzenlenen mikroRNA'lar (miRNA'lar), invazyon, hücre çoğalması, apoptoz, farklılaşma gibi birçok biyolojik süreçte önemli rol oynar. MYC transkripsiyon faktörünün aşırı ekspresyonu birçok insan kanseri oluşumunun bir işaretidir. MYC ailesine ait c-MYC, miRNA'lar da dahil olduğu kodlanmayan RNA'ları ve genleri doğrudan düzenler. Bundan dolayı c-MYC farklılaşma, hücresel çoğalma, kök oluşumu gibi birçok fonksiyonel sürecin düzenlenmesinde benzersiz bir rol oynar. Çalışmamızda c-MYC onkogeni ile ilişkili miRNA'ları bulmayı amaçladık. miR-548v ve c-Myc ekspresyon seviyelerinin bazı KHDAC hücre hatlarında korele olduğunu fark ettik. c-MYC overeksprese ve downregüle edilen PC-14 KHDAC hücre hatlarında miR-548v'nin ekspresyon seviyesini saptamak için qRT-PCR tekniği kullanıldı. miR-548v'nin promotör bölgesindeki c-MYC DNA bağlanma bölgelerini belirlemek için bioenformatik araçlar yardımıyla analiz yaptık. Bu analizlere göre belirlediğimiz miR-548v'nin promotor bölgesindeki c-MYC bağlanma bölgelerini tespit etmek için ChIP-PCR yöntemini kullandık. PC-14 KHDAC hücre hattındaki miR-548v'nin biyolojik rolünü tespit etmek için invazyon ve proliferasyon deneyleri gerçekleştirdik. Elde ettiğimiz sonuçlara göre; miR-548v'nin doğrudan c-MYC transkripsiyon faktörü tarafından düzenlendiğini bulduk. c-MYC aracılı miR-548v upregülasyonunun PC-14 KHDAC invazyonunu ve proliferasyonunu arttırdığını gösterdik. Sonuçlarımız, miR-548v'nin c-MYC ile transkripsiyonel olarak regüle edildiğini ve PC-14 KHDAC hücre hattının karsinogenezini arttırdığını gösterdi.

c-Myc-mediated miR-548v upregulation induces carcinogenesis of Non Small Cell Lung Cancer

Şakir Akgün, Hakan Küçüksayan, Onur Tokgün, Hakan Akça

Pamukkale University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Denizli, Turkey

MicroRNAs (miRNAs) that are regulated by lots of transcription factors play important roles in many biological processes, including invasion, cell proliferation, apoptosis, differentiation. Overexpression of MYC transcription factor is a hallmark of many human carcinogenesis. c-MYC that belongs to MYC family directly regulates genes and non-coding RNAs, including miRNAs and plays a unique role in regulating of many functional processes including differentiation, cellular proliferation, stemness. We aimed to find miRNAs related with c-MYC oncogene at our study. We noticed that the expression levels of miR-548v and c-Myc was correlated in some NSCLC cell lines. We used qRT-PCR technique for detection the expression level of miR-548v in c-MYC overexpressed and downregulated in PC-14 NSCLC cell lines. To determine c-MYC binding sites in miR-548v promoter region, we performed a bioinformatic analysis. We used CHIP-PCR method for investigating c-MYC binding sites in miR-548v promoter. We performed invasion and proliferation assay to detect the biological role of miR-548v in PC-14 NSCLC cell line. According to results, we found that miR-548v was directly regulated by c-MYC transcription factor. We showed that c-MYC-mediated miR-548v upregulation was increase PC-14 NSCLC invasion and proliferation. Our results indicated that miR-548v was transcriptionally regulated by c-MYC and increase carcinogenesis of PC-14 NSCLC cell line.

PS - 217

Meme kanserinin subtiplemesinde qRT-PCR ve nCounter teknolojisi kullanan Prosigna kitinin sonuçlarının karşılaştırılması

Sezen Güntekin Ergün¹, Öykü İrigül Sönmez³, Ayşegül Üner², Rengül Çetin Atalay¹

¹ODTÜ Enformatik Enstitüsü KanSiL

²Hacettepe Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı

³lontek A.Ş

Meme kanseri, Dünya Sağlık Örgütü (GLOBOCAN 2012) verilerine göre kadınlarda en sık görülen kanserdir (insidans: %25.1, mortalite: %14.7 ve 5 yıllık-prevelans: %36.3). Meme kanseri, erken evrede tedavi edilebilir bir hastalık olsa da, bu evrede kanserinin nasıl seyredeceğini anlamak ve ona göre tedavi planı yapmak klinikte ek karar destek sistemlerinin kullanılması gerekmektedir. Sorlie (2001) ve ark. tarafından yapılan gen ifadesi çalışmasında, östrojen reseptörü varlığına göre meme kanseri, luminal, bazal, Her2 olarak 3 gruba, luminal tip ise kendi içinde A ve B olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadır. Meme kanserinin hangi grupta olduğunun bilinmesi, klinisyenin doğru ve etkin tedaviyi seçebilmesinde büyük önem taşımakta ve yol gösterici olmaktadır.

Çeşitli çalışmalarda meme kanseri subtiplemesi ile ilgili olarak patolojik değerlendirmenin yanı sıra gen ifadesine dayalı moleküler teknikler de kullanılmaktadır. Prosigna kiti “PAM50” olarak adlandırılan 50 genin ifadesinin hibridizasyon tabanlı nCounter teknolojisi ile meme kanserinin alt tiplerini belirleyebilen FFPE dokulardan ve nodlu örneklerden çalışılabilen FDA onaylı ilk ve tek kittedir. Bu kit ile hızlı ve güvenilir alt tipler belirlenebilmekte ve hastalığın 10 yıl içerisinde tekrar etme olasılığına ait risk gruplaması yapılabilmektedir. Çalışmamızda 7 adet meme kanseri hastasına ait FFPE blokları kullanılmıştır. Daha sonra Wirtz (2016) ve ark. tarafından tanımlanan ESR1, PGR, ERBB2 ve MKI67 genlerinin ifadesine qRT-PCR ile bakılmış ve Prosigna kitinin raporladığı moleküler subtiplerinin grupları karşılaştırılmıştır.

Bu çalışma, Prosigna kitinin, FFPE'den çalışılabilmesi, nCounter teknolojisini kullanması, sonuçları yazılıma gömülü algoritma üzerinden raporlayabilmesi, bu işlemi birkaç günde yapabilmesi ve tek bir hastanın çalışılabilmesine de olanak sağlamasından dolayı hassas, hızlı ve güvenilir olduğu hakkında ön bulgular sağlamıştır.

Comparison of qRT-PCR and nCounter technology based Prosigna kit results in determining the subtypes of breast cancer

Sezen Güntekin Ergün¹, Öykü İrigül Sönmez³, Ayşegül Üner², Rengül Çetin Atalay¹

¹METU Informatics Institute CanSyL²Hacettepe University, Department of Pathology³ *Iontek Molecular Diagnostics*

According to the World Health Organization, breast cancer is the most common cancer in women (GLOBOCAN 2012) (incidence: 25.1%, mortality: 14.7% and 5-year prevalence: 36.3%). Although breast cancer is a treatable disease when caught at an early stage, understanding how cancer will progress at this stage and planning a treatment accordingly require the use of additional decision making systems in the clinic. In a gene expression study by Sorlie et al. (2001), breast cancer is separated into three types; Luminal, Basal, Her2, based on the presence of the estrogen receptors. Additionally, luminal type is separated into 2 types as type A and type B. Knowing the subtype of the breast cancer has great importance, and it guides the clinician in choosing the right and effective treatment. The Prosigna kit is the first and only FDA-approved kit to work from FFPE tissues and nodal samples that can identify subtypes of breast cancer with hybridization-based nCounter technology which evaluates the expression of 50 genes called "PAM50".

According to the research of Wirtz (2016) et al. the expression levels of ESR1, PGR, ERBB2, and MKI67 genes were determined by qRT-PCR and then compared with the results obtained from Prosigna data.

This study provided evidence that the Prosigna kit is sensitive, fast and reliable, due to its compatibility with FFPE samples, its usage of nCounter technology, its handing out reports generated through an embedded algorithm, short result time, and its allowance for a single patient to be analyzed at a time.

PS - 218

Kompleks, monozomal ve normal karyotipe sahip Akut Miyeloid Lösemili olguların kemik iliği materyallerinde 17p13.1 (TP53) delesyonunun floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemiyle incelenmesi

Gamze Tüfekçi¹, Şükriye Yılmaz¹, Ayşe Çırakoğlu¹, Dilhan Kuru¹, Muhlis Cem Ar², Seniha Hacıhanefioğlu¹

¹*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, İstanbul*

²*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul*

Amaç: Akut miyeloid lösemi (AML) hematopoietik sistemin heterojen bir hastalığıdır. Hastalar sahip oldukları sitogenetik anomaliye göre düşük, orta ve yüksek risk grubu içerisinde değerlendirilirler. Kompleks ve monozomal karyotipli hastalar yüksek risk grubunda yer alırken normal karyotipli hastalar orta risk grubundadırlar. t(15;17), t(8;21), inv(16), t(16;16) anomalilerine sahip AML hastaları ise düşük risk grubunda değerlendirilirler.

Yapılan çalışmalarda kompleks karyotipli AML hastalarının büyük çoğunluğunun TP53 geninin delesyonuna sahip olduğu gösterilmiştir ve bu delesyona sahip hastaların tam remisyon oranlarının önemli derecede düşük olduğu belirtilmiştir. Benzer şekilde monozomal karyotipli hastalarda da TP53 delesyonu görülmektedir. Bizim çalışmamızda da AML tanısı almış olan 40 hastanın kemik iliği aspirasyonuna ait kültür materyallerinde TP53 gen kaybının incelenmesi amaçlandı.

Gereç-Yöntem: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD Sitogenetik Laboratuvarında, konvansiyonel sitogenetik yöntemiyle karyotip analizi yapılmış 40 AML hastasının kemik iliği aspirasyonuna ait kültür materyallerine 17p13.1'de lokalize olan TP53 geninin kaybını incelemek amacıyla floresan in situ hibridizasyon (FISH) tekniği uygulandı.

Bulgular: Yapılan FISH analizi sonucunda kompleks karyotipli olgularımızın %86,66'sında, monozomal karyotipli olgularımızın %92,85'inde TP53 delesyonu görülürken, normal karyotipli olgularımızın yalnızca 1'inde TP53 delesyonu saptandı. TP53 kaybı görülen olguların tam remisyon oranlarında da düşüklük görüldü.

Sonuç: Yaptığımız çalışma, kompleks, monozomal ve normal karyotipli olgularda konvansiyonel sitogenetik analizin yanı sıra TP53 geninin FISH ile analizinin yapılmasının, kemoterapiye verilecek yanıtı ön görebilme ve uygulanacak tedaviyi belirleyebilme açısından önem taşıdığını düşündürmektedir.

Examination of 17p13.1 (TP53) deletion by fluorescence in situ hybridization (FISH) method in the bone marrow materials of Acute Myeloid Leukemia patients with complex, monosomal and normal karyotypes

Gamze Tüfekçi¹, Şükriye Yılmaz¹, Ayşe Çirakoğlu¹, Dilhan Kuru¹, Muhlis Cem Ar², Seniha Hacıhanefioğlu¹

¹*Istanbul University Cerrahpaşa Medical Faculty, Department of Medical Biology, Istanbul*

²*Istanbul University Cerrahpaşa Medical Faculty, Department of Internal Medicine, Division of Hematology, Istanbul*

Objective: Acute Myeloid Leukemia (AML) is a heterogenous disorder of the hematopoietic system. Patients are classified into three risk groups according to the cytogenetic abnormalities: favorable, intermediate and unfavorable. Patients with complex karyotype and monosomal karyotype are considered in the unfavorable risk group, while patients with normal karyotype are evaluated in the intermediate risk group. AML patients with t(15;17), t(8;21), inv(16), t(16;16) anomalies are evaluated in the low risk group. In the previous studies, it has been shown that the majority of AML patients with complex karyotype carried TP53 deletion and complete remission rate in these patients was significantly lower. Similarly, TP53 deletion has been seen in the patients with monosomal karyotype. In our study we aim that culture materials of 40 AML patients' bone marrow samples, tested with fluorescence in situ hybridization (FISH) method for TP53 deletions.

Materials-Methods: Culture materials of 40 AML patients' bone marrow samples that had been examined with conventional cytogenetics method at Cerrahpaşa Faculty of Medicine cytogenetics laboratory, tested with FISH method for TP53 deletions.

Results: At the results of FISH analyzes, while TP53 deletion was shown in 86,66% of patients with complex karyotype and in 92,85% of patients with monosomal karyotype, deletion was seen in the only one patient with normal karyotype. Patients with TP53 deletion had low complete remission rates.

Conclusion: This study suggest that, analyzing patients with these karyotypes by FISH for the TP53 deletion as well as conventional karyotyping, is important for predicting response to chemotherapy and choosing treatment strategy.

KÖK HÜCRE
STEM CELL

PS - 219

İndüklenmiş pluripotent kök hücrelerden insülin sentezini sağlayan gen tedavi vektörünün geliştirilmesi

Erman Gümüslü¹, Mustafa Kemal Balcı², Salih Şanlıoğlu¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Gen ve Hücre Tedavi Merkezi, Antalya

²Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD, Antalya

Ex vivo insülin gen terapisi çalışmalarında indüklenmiş pluripotent kök hücreler (İPKH), tip 1 diyabette otolog transplantasyona yönelik aday hücrelerden biri olarak görülmektedir. Çalışmamızda bu stratejiye yönelik, İPKH'lerden lentiviral vektör (LentiEF1-hINS) aracılı insülin gen nakli yoluyla insülin salınımını gerçekleştirmeyi amaçladık. Bu hücrelerde insülin promotörü aktif olmadığından genin eksprese edilebilmesi için önüne elongasyon faktör 1 alfa (Ef1- α) promotorunu klonladık. Ayrıca Ef1- α , birçok promotorun aksine İPKH'ler farklılaştıktan sonra da transgen ekspresyonu gösterebilmektedir. Sağladığı bu avantaj sayesinde LentiEF1-hINS ile transdükte İPKH'lerin, farklılaştıktan sonra da insülin sekresyonu yapabildiklerini göstermeyi hedefledik. Ef1- α promotörü kontrolünde insan insülin geni kodlayıcı diziye sahip lentiviral ekspresyon vektörü (pLentiEF1-hINS) Multi Site Gateway teknolojisi kullanılarak başarılı bir şekilde oluşturuldu. Elde edilen ekspresyon vektörü, AflII & XhoI ikili restriksiyon enzim kesimi ve Sanger dizileme ile doğrulandı. Virus titrasyonları, transdükte HT1080 hücre hatlarından Realtime PCR yöntemiyle belirlendi. Ef1- α promotorunun efektif olup olmadığını kontrol etmek amacıyla 293T ve NIT1 hücre hatları farklı MOI'larda LentiEF1-hINS ile transdükte edildi. Transdüksiyon sonrasında toplanan süpernatantlarla yapılan insülin ELISA testi ile normalde insülin sentezlemeyen 293T hücrelerinden, insülin sekresyonunun sağlandığı tespit edildi. Ayrıca transdükte NIT1 hücrelerinin transdükte olmayanlara kıyasla anlamlı olarak daha fazla miktarda insülin salınımı yaptığı gösterildi. Bir sonraki aşamada insülin sekresyonu sağlayabilen LentiEF1-hINS ile İPKH kolonilerinin transdüksiyonu gerçekleştirilecektir. 3. nesil HIV tabanlı lentivirüslerin uzun süreli gen ekspresyonu sağlamaları göz önüne alındığında; bu hücrelerin *in vivo* transplantasyon çalışmalarında böylelikle ilerde kullanılabilmesi söz konusu olabilecektir.

TUBITAK-215S820

Development of a gene therapy vector to provide insulin expression from induced pluripotent stem cells

Erman Gümüslü¹, Mustafa Kemal Balcı², Salih Şanlıoğlu¹

¹Gene and Cell Therapy Center of Akdeniz University Hospitals, Antalya, Turkey

²Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Akdeniz University Faculty of Medicine, Antalya, Turkey

Induced pluripotent stem cells (IPSCs) are candidate for autologous cell transplantation studies against Type 1 Diabetes. In our study, we aimed to achieve insulin expression via the lentiviral vector (LentiEF1-hINS) mediated insulin gene transfer to IPSCs. Since the insulin promoter is not active in IPSCs, we cloned the elongation factor 1 alpha (Ef1- α) promoter to express insulin. In addition, Ef1- α , in contrast to many promoters, can provide prolonged transgene expression even after the differentiation of IPSCs to a target cell type. With this in mind, we aimed to show that LentiEF1-hINS transduced IPSCs can express and secrete insulin after the differentiation process. The lentiviral expression vector (pLentiEF1-hINS) with the human insulin gene encoding sequence under control of the Ef1- α promoter was successfully constructed using Multi Site Gateway technology. The resulting expression vector was confirmed by AflIII and XhoI restriction enzyme analysis and Sanger sequencing. Viral titers were determined by real-time PCR in transduced HT1080 cells. The 293T and NIT1 cells were transduced with LentiEF1-hINS at different MOIs to check gene expression. The insulin ELISA test with supernatants collected after the transduction showed insulin secretion from 293T cells that normally would not synthesize insulin. Furthermore, transduced NIT1 cells significantly secreted more insulin than mock-transduced cells. In the next step, IPSC colonies will be transduced with LentiEF1-hINS to check for insulin gene expression. Considering the long-term gene expression provided by the 3rd generation HIV-based lentiviruses; it may be possible to use IPSCs for *in vivo* autologous transplantation studies concerning Type 1 Diabetes.

TUBITAK-215S820

PS - 220

Fare embriyonik kök hücrelerinin spontane farklılaşması ile 6-Fosfofrukto-2-Kinaz-3 ekspresyonu artmaktadır

Yunus Gürpınar, Saime Güzel, Selahattin Can Özcan,
Deniz Belenli, Abdullah Yalçın

*Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim
Dalı, 16059, Görükle, Bursa*

Farklı fonksiyonlardaki doku ve organ gruplarını oluşturan embriyonik kök hücreler, laboratuvar ortamında belirli sinyal yolları tetiklenerek istenilen hücre tipine dönüştürülebilirler. Farklılaşma mekanizmaları üzerine yapılacak çalışmaların kök hücre biyolojisi ve rejeneratif tıp alanına katkılar sağlaması beklenmektedir. 6-fosfofruktoz-2-kinaz/fruktoz 2,6-bisfosfat (PFKFB) ailesine ait enzimler, PFK1'in bilinen en kuvvetli allosterik aktivatörü olan fruktoz-2,6 bisfosfat (F2,6BP)'ın yapım ve yıkımını katalizleyerek çift yönlü olarak görev yapmaktadırlar. PFKB'nin bilinen 4 adet izoenzimi (PFKFB1-4) bulunmakta olup bunlardan PFKFB3, enerji metabolizması ve kanser araştırmalarında en çok çalışılan izoformdur. Çalışmamız, embriyonik kök hücre farklılaşmasında glikolitik olarak aktif olan kanser hücrelerinde arttığı bilinen PFKFB3 enziminin rolü olabileceği hipotezi üzerine kurgulandı.

Çalışmada, J1 ve R1 fare embriyonik kök hücre hatları kullanıldı ve hücreler lösemi inhibe edici faktör (LIF) varlığında ve jelatinle kaplanmış hücre kültürü kaplarında pluripotent olarak çoğaltıldı. Deney grubunda besiyerinden LIF uzaklaştırılmasıyla farklılaşma indüklendi. LIF uzaklaştırıldıktan 5 gün sonra farklılaşma markörleri Nestin ve Brachyury ile PFKFB3 mRNA ekspresyonları Real time qPCR ile analiz edilerek LIF varlığında çoğaltılan hücrelerle karşılaştırıldı. PFKFB3 protein düzeyleri Western Blot ile ölçüldü.

Spontane olarak farklılaşan (LIF uzaklaştırılan) J1 ve R1 hücre hatlarında LIF ile çoğaltılan hücrelerle karşılaştırıldığında Nestin, Brachyury ve PFKFB3 mRNA ekspresyonlarının arttığı gözlemlendi. Farklılaşan kök hücrelerde PFKFB3 protein düzeyinin yükseldiği görüldü. Elde edilen bu bulgular; PFKFB3'ün embriyonik kök hücrelerin farklılaşmasında rolü olabileceğini göstermektedir. Bu çalışma ve devamında yapılacak çalışmaların embriyonik kök hücrelerde farklılaşmayı kontrol eden moleküler yolların aydınlatılmasına ve kök hücre hastalığı olarak da tanımlanan kanserin mekanizmalarının açıklığa kavuşturulmasına yol gösterici olması hedeflenmektedir.

Spontaneous differentiation of mouse embryonic stem cells increases 6-Phosphofructo-2-Kinase-3 expression

Yunus Gürpınar, Saime Güzel, Selahattin Can Özcan,
Deniz Belenli, Abdullah Yalçın

*School of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry,
Uludağ University, 16059, Görükle, Bursa*

Embryonic stem cells can be transformed into desired cell type by triggering specific signalling pathways in laboratory environment. Enzymes belonging to the family of 6-phosphofructo-2-kinase/fructose 2,6-bisphosphatase (PFKFB) catalyze the synthesis and degradation of fructose-2,6 bisphosphate (F2,6BP), the most potent allosteric activator of PFK1. There exists four isoenzymes of PFKFB (PFKFB1-4), of which PFKFB3 is the most studied isoform in energy metabolism and cancer. In this study, we aimed to study PFKFB3 expression in pluripotent and spontaneously differentiated mouse embryonic stem cells, which exhibits a highly active glycolytic phenotype.

In our study, J1 and R1 mouse embryonic stem cell lines were used. Cells were pluripotently replicated in the presence of leukemia inhibitory factor (LIF), in gelatin-coated cell culture dishes. Spontaneous differentiation was induced by removing LIF from the medium. After 5 days of LIF removal, mRNA expressions of PFKFB3 and differentiation markers, Nestin and Brachyury were analyzed by real-time qPCR and compared to cells replicated in the presence of LIF. PFKFB3 protein expression was analyzed by Western Blot.

We found that PFKFB3 mRNA expression was induced in the spontaneously differentiated cells, as were Nestin and Brachyury, compared to cells replicated in the presence of LIF. PFKFB3 protein levels were found to be increased upon differentiation of mouse embryonic stem cells, as determined by Western Blot.

These findings imply that PFKFB3 may play an important role in the pluripotency and/or differentiation of mouse embryonic stem cells. Future studies will be aimed towards understanding the requirement of PFKFB3 in controlling stem cell fate.

PS - 221

Uyarılmış pluripotent kök hücrelerinden üretilen endotelyal öncül hücre ve düz kas hücrelerinin in vitro koşullarda anjiyojenik potansiyeli

Mohammadreza Dastouri¹, Aynur Karadağ², Hilal Özdağ¹,
Alp Can⁴, Ahmet Rüçhan Akar³

¹Temel Biyoteknoloji, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, Türkiye

²Tıbbi Biyoloji Bölümü, Uşak Üniversitesi, Uşak, Türkiye

³Kardiyovasküler cerrahi Bölümü. Kalp Merkezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye

⁴Histoloji Embriyoloji Bölümü, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, Türkiye

Amaç: Ototolog Uyarılmış Pluripotent Kök hücrelerinden (uPKH) farklılaşan endotelial öncül hücreler(EÖH), kardiojenik ve vaskülojenik farklılaşma potansiyelinden dolayı kardiyo vasküler hastalıkların tedavisinde birçok avantaj sağlayabilirler. Bu amaca ulaşmak için, EÖH 'lerin belirteci olan Flk1+ hücreleri uPK hücrelerinden farklılaştırılmıştır. Elde edilen Flk1+ hücrelerinin, EÖH hücrelerine farklılaşması için belirli koşullarda CD31 ve CD133 ifade eden hücreleri izole edilip karakterize edilmiştir.

Gereç-Yöntem: Saflaştırılmış uPK hücreleri, farklılaştırma ortamı kullanılarak Flk1+ hücrelerine farklılaştırılmıştır. qRT-PCR, Western blot ve immünositokimyasal yöntemlerle Flk1+ hücrelerinin gen ve protein seviyeleri farklılaştırma sürecinde analiz edilmiştir. MACS sistemi ile izole edilmiş FLK1+ hücreleri EÖH hücrelerine farklılaşmak üzere VEGF'li farklılaşma ortamında tekrar kültür edilmiştir. Farklılaştırmadan sonra CD31 ve CD133 gen ifadesi ve protein düzeyleri, genomik ve proteomik yöntemler kullanılarak analiz edilmiştir. Bu hücreleri izole ettikten sonra, gece boyu agregasyonua bırakılmıştır. Oluşan hücre kümeleri kolajen tip I' de, VEGF ve EGF içeren farklılaştırma ortamında ve üç boyutlu koşullarda kültür edilmiştir.

Bulgular: Elde edilen sonuçlara göre, Flk1+ hücrelerin sayısının 5.5. günde en yüksek seviyeye (% 24) ulaştığı ve ilerleyen günlerde azalma gösterdiği bulunmuştur. Farklılaştırmanın ikinci aşamasının 4. gününde, ilk aşamadan elde edilen Flk1+ hücrelerinden CD31 ve CD133 pozitif hücreleri üretilmiştir. Flk1+ hücrelerinin izolasyonu için en uygun zaman, ilk farklılaştırmanın 5.5. Günü olarak belirlenmiştir. Flk1+ progenitör hücrelerinin izolasyonunu takiben, ikinci aşamanın 4. gününde VEGF içeren farklılaştırma besiyeri kullanılarak fonksiyonel EÖH elde edilmiştir. Ayrıca elde edilen EÖH'lerinin anjiyogenik potansiyelinin değerlendirilmesi amacıyla 3D kültür ortamında vasküler yapıların oluşumları gözlemlenmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak, EÖH'lerin başarılı bir şekilde uPK hücrelerinden üretildiği ve elde edilen hücrelerin 3D kültüründe yüksek anjiyogenez potansiyeline sahip oldukları gösterilmiştir.

In vitro angiogenic potential of endothelial progenitor and smooth muscle cells derived from induced pluripotent stem cells

Mohammadreza Dastouri¹, Aynur Karadağ², Hilal Özdağ¹,
Alp Can⁴, Ahmet Rüçhan Akar³

¹Department of Biotechnology, Ankara University Biotechnology Institute, Ankara, Turkey

²Department of Medical Biology, Usak university, Usak, Turkey

³Department of Cardiovascular Surgery, Heart Center, Ankara University, Ankara, Turkey

⁴Department of Histology & Embryology, Ankara University School of Medicine, Ankara, Turkey

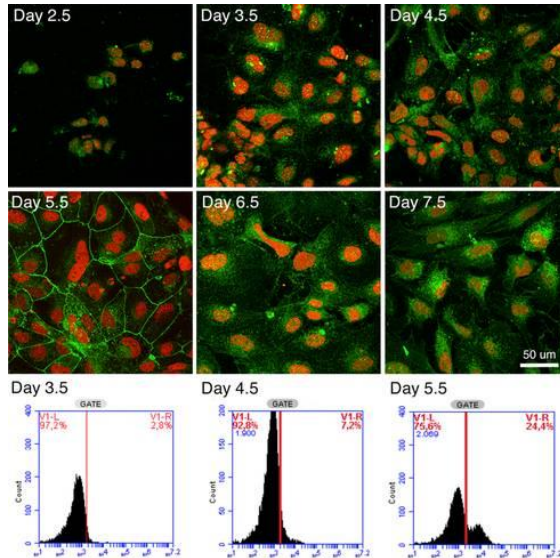
Objective: Autologous iPS cells after reprogrammed into endothelial progenitor cells (EPCs) may offer several advantages in the treatment of cardiovascular disorders because of their cardiogenic and vasculogenic differentiation potential. To reach that purpose, we differentiated and characterized mouse iPS cells into Flk1+, a well-recognized EPC marker. Further maturation of EPC was characterized by the expression of CD31 and CD133 markers.

Materials-Methods: Purified iPS cells were differentiated into Flk1+ cells with the use of differentiation medium. We then analyzed Flk1 gene expression and protein levels with qRT-PCR, Western blot and immunocytochemical methods on days 2.5 to 7.5. Flk1+ cells isolated and then recultured these cells in differentiation medium with VEGF to induce EPC cells. Following induction, CD31 and CD133 gene expression and protein levels were analyzed with genomic and proteomic methods. After isolating, the cells were cultured in 3D condition in collagen type I with differentiating medium containing VEGF and EGF Results: We found the number of CD31 and CD133 positive cells were generated and enriched during day 4 of induction. Following isolation of Flk1+ progenitor cells they were further matured into functional EPCs by VEGF within 4 days of induction. Additionally, for evaluation of angiogenic potential of the differentiated cells, we monitored EPCs behavior along vascular formation in 3D culture.

Conclusion: Our work demonstrated that EPCs could be successfully derived from iPS cells and that they have the potential for angiogenesis and in 3D culture. EPC derived iPS cells may play important role in the treatment of cardiovascular disease.

Mezoderm hücrelerin uPK hücrelerinden farklılaştırma süreci

Mesodermal cells derived from induced pluripotent stem cells



Yaptığımız immün boyama analizlerine göre Flk1+ hücreleri farklılaştırmanın 2.5. gününden görünmeye başlayıp ve 5.5. günde en yüksek seviyeye ulaşır. Bu veriler Akım sitometrisi yöntemi ile de doğrulanmaktadır. Immunocytochemical localization and the quantifying the number of Flk-1+ cells on successive days of differentiation. Flk-1 positivity (green signal) begins to emerge on day 2.5 followed by a sharp increase in cytoplasmic Flk-1 localization throughout the days 3.5 to 5.5. On day 5.5, Flk-1 is specifically localized to cell membranes and then gradually degraded on the following days. Flow cytometric assays show that the percentage of Flk-1+ cells among all cells cultured is 2.8% on day 3.5, then significantly increases to 7.2% on day 4.5 and reaches to 24.4% on day 5.5

PS - 222

Bazık fibroblast büyüme faktörünün periodontal ligament-mezenkimal kök hücrelerinin proliferasyonu, migrasyonu ve gen ekspresyonlarına etkisi

Sema S Hakkı¹, Buket Ş Bozkurt², Erdal Karaoz³, Erdogan E Hakkı⁴, Ali Unlu⁵, Seyit Ali Kayis⁶

¹Selçuk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji AD,
Konya

²Selçuk Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Merkezi,
Konya

³Liv Hospital, Center for Regenerative Medicine and Stem Cell Research & Manufacturing (LivMedCell), Istanbul, Turkey

⁴Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Moleküler Genetik ve Biyoteknoloji Laboratuvarları, Konya

⁶Karabük Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Bölümü,
Karabük

Amaç: Bazik Fibroblast Büyüme Faktörünün (bFBF), mezenkimal kök hücreleri (MKH)'nin proliferasyonu ve kendini yenileme kapasitesi üzerine olumlu etkileri olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmanın amacı, bFBF'nin periodontal ligament (PDL)-MKH'nin proliferasyonu, migrasyonu ve gen ekspresyonu profiline etkisinin incelenmesidir.

Gereç-Yöntem: MKH, premolar dişlerin PDL dokusundan elde edildi ve hücreler karakterize edildi. Gerçek zamanlı hücre analiz sistemleri ile yapılan doz-cevap (0.1, 1, 10, 25, 50, 100, 200 ve 400 ng/ml bFbF) proliferasyon ve migrasyon deneyi sonuçlarına göre, 10 ng/ml bFbF ile deneylere devam edildi. Uygulama sonrası 8. saatte total RNA izole edildi. cRNA sentezlenerek 47.000 den fazla prob içeren tüm genom array (HumanHT-12 v4 Expression Bead Chip Direct Hybridization Assay) kullanılarak gen ekspresyonları değerlendirildi. Veriler analizden önce normalize edildi.

Bulgular: Hücrelerin proliferasyonunun 10 ng/ml bFbF ile, migrasyonunun ise 10, 100 ve 200 ng/ml bFbF uygulaması ile arttığı izlendi. İstatistiksel analizler, 57 genin 2 kattan fazla değiştiğini, bFbF uygulamasının 48 genin ekspresyonunu artırdığını, 9 genin ekspresyonunu azalttığını gösterdi. En belirgin artışın (4 kattan fazla) IL-8, ESM1, ANGPTL4 ve STC1 gen ekspresyonlarında olduğu tespit edildi. IL-8 gen ekspresyonundaki değişim, kantitatif RT-PCR ile doğrulandı.

Sonuç: Çalışmanın bulguları, bFbF'nin, yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonunda kritik olaylar olan proliferasyon ve migrasyonu tetikleyerek PDL-MKH fonksiyonlarını düzenlediğini gösterdi.

*TUBITAK-SBAG-112S587 and Selçuk Üniversitesi BAP
Koordinatörlüğü*

Effects of basic fibroblast growth factor on the proliferation, migration and gene expressions of periodontal ligament-mesenchymal stem cells

Sema S Hakkı¹, Buket Ş Bozkurt², Erdal Karaoz³, Erdogan E Hakkı⁴, Ali Unlu⁵, Seyit Ali Kayis⁶

¹Selcuk University, Faculty of Dentistry, Department of Periodontology, Konya, Turkey

²*Selcuk University, Faculty of Dentistry, Research Center, Konya, Turkey*

³Liv Hospital, Center for Regenerative Medicine and Stem Cell Research & Manufacturing (LivMedCell), Istanbul, Turkey

⁴Selçuk University, Faculty of Agriculture, Department of Soil Science and Plant Nutrition, Molecular Genetics & Biotechnology Laboratories Konya, Turkey

⁵Selcuk University, Faculty of Medicine, Department of Biochemistry, Konya, Turkey

⁶Karabuk University, Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, Karabuk, Turkey

Objective: It was reported that basic Fibroblast Growth Factor (bFGF, FGF2) has positive effects on the proliferation and self renewal capacity of mesenchymal stem cells (MSCs). The aim of this study was to evaluate the effect of b-FGF on the proliferation, migration and the gene expression profile of periodontal ligament (PDL)-MSCs.

Materials-Methods: MSCs were isolated from PDL tissue of premolar teeth and characterized. Cells were treated with 10 ng/ml b-FGF according to dose-response (0.1, 1, 10, 25, 50, 100, 200, and 400 ng/ml bFGF) proliferation and migration experiments using real time cell analysis system. After 8 hours, total RNA was isolated from the cells. cRNA was synthesized and HumanHT-12 v4 Expression Bead Chip Direct Hybridization Assay was used in Illumina iScan platform for over 47,000 probes. Data was subjected to quantile normalization before analysis.

Results: While proliferation of the cells was stimulated by 10 ng/ml concentration of bFGF, 10, 100 and 200 ng/ml bFGF enhanced migration of PDL-MSCs. Statistical analysis demonstrated that 57 genes were differentially expressed over 2 fold. While 48 genes expressions were higher in bFGF treated groups, 9 genes expressions were higher in control (at least 2 fold). The most dramatic fold increase (over 4 fold) was observed for 4 genes including IL-8, ESM1, ANGPTL4 and STC1. Change in IL-8 gene expression was confirmed using quantitative RT-PCR.

Conclusion: Findings of the study revealed that bFGF regulated PDL-MSCs functions accelerating proliferation and migration which are critical for wound healing and tissue regeneration.

TUBITAK-SBAG-112S587 and Selcuk University Research Foundation

PS - 223

Fare ince bağırsak kriptlerinden elde edilen kök hücrelerden 3-boyutlu kültür ile organoid oluşturulması

İdris Er¹, Asiye Büşra Boz Er¹, Figen Celep Eyüpoğlu²

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

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

Canlı organizmalar üzerinde çalışma yapmanın getirdiği zorluklar araştırmacıları in vitro ortamda çeşitli arayışlara yöneltmiştir. Bu arayışlar 3-boyutlu (3D) kültür sistemi olan organoidlerin oluşturulmasına yol açmıştır. Hedef organdan köken alan ve stroma oluşturma yeteneğine sahip kök hücrelere gerekli koşullar sağlandığında oluşan minyatür organ benzeri yapılar organoid olarak adlandırılmaktadır. Organoid sistemi ile çalışılacak dokunun yapısını oluşturan tüm hücre grupları aynı kültür ortamında üretilabilmektedir. İnce bağırsak epiteli de farklı hücre gruplarını bir arada bulunduran kript ve villuslardan oluşan bir yapıya sahiptir. Hücrelerin çoğalması, farklılaşması ve ölümü arasındaki dengeye bağlı olarak ince bağırsaktaki villuslar, alt mukozada gömülü kriptlerde yer alan kök hücre popülasyonundan sürekli olarak yenilenmektedir. Bu çalışmada, kök hücre araştırmalarında kullanılabilecek en uygun dokulardan biri olan ince bağırsak epiteli seçilmiş ve 3-boyutlu kültür sistemi kullanılarak organoid oluşturulması amaçlanmıştır. Bu bağlamda, fare ince bağırsak kript yapısından elde edilen kök hücrelerden yararlanılarak 3-boyutlu kültür sistemi ile in vitro ortamda organın minyatür hali olan, ince bağırsak organoidi oluşturulmuştur. Organoid sisteminin kurularak in vitroda organın fizyolojik ortamının bire bir taklit edilebilmesi ve genetik dengesizlik oluşmadan uzun süre çoğaltılabilmesi, doku yenilenmesi, kök hücre / niş işlevleri, ilaçlara, mutasyona veya hasara karşı doku yanıtlarını da içeren birçok biyolojik sürecin doğru şekilde incelenmesini kolaylaştıracaktır. Ayrıca markır gen arama ve antikanser tedavilerin geliştirilmesi gibi, ileriye yönelik çalışmalara da olanak sağlayacaktır.

Establishment of organoid from the stem cells of Mouse small intestine crypts by 3-D culture

İdris Er¹, Asiye Büşra Boz Er¹, Figen Celep Eyüpoglu²

¹Karadeniz Teknik University, Health Science Institute, Medical Biology Department, Trabzon

²Karadeniz Teknik University, Faculty of Medicine, Medical Biology Department, Trabzon

Challenges of studying with living organisms have led scientist to pursue in vitro searches. These searches have constituted an idea about the formation of organoids, a three-dimensional (3-D) culture system. Mini-organ like structures is generated by providing necessary conditions for stem cells which originated from target organs and able to form stroma are called organoids. Organoid system allows different cell types of the same tissue to grow in the same culture dish. The small intestine epitheliums have structures that consist of crypts and villi which contains different cell groups. The villi in the small intestine are constantly being renewed from the stem cell population in the crypt compartments underlying submucosa, depending on the balance between cell proliferation, differentiation and death. In this study, the small intestine which is one of the most suitable tissues that can be used in stem cell research is chosen due to its property of rapidly proliferation and differentiation ability. It was aimed to construct an organoid using a 3-dimensional culture system. In this context, we have been formed organoids from the stem cells isolated from mice intestine crypt structures by using 3-dimensional culture techniques in vitro. The establishment of the organoid system will provide significant benefits such as modelling the physiological environment of the organ, providing replication without genetic imbalance in a long time, tissue renewal, stem cell-niche functions and tissue response to drugs, mutation or injury. It will also allow future works such as searching of marker genes and the development of anticancer treatments.

KTU Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2015-5176 kodlu Yüksek Lisans Tez Projesi kapsamında desteklenmiştir.

PS - 224

İnsan uyarılmış pluripotent kök hücre kökenli kardiyomyositleri tek hücreye ayırma ve kültürleri için ideal koşulların tanımlanması

Arzuhan Koç Yıldırım¹, İlayda Söztekin², Volkan Tuzcu³, Esra Çağavi²

¹Mikrobiyoloji ABD, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, Kavacık, İstanbul, Türkiye

²Tıbbi Biyoloji ABD, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi (REMER), İstanbul Medipol Üniversitesi, Kavacık, İstanbul, Türkiye

³Pediyatrik Kardiyoloji Departmanı, İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Hastanesi, Bağcılar, İstanbul, Türkiye

Genetik kökenli bir hastalığa sahip bireyin somatik hücrelerinde embriyonik kök hücreye özgü genlerin üretimi indüklenerek yeniden programlaması ile Uyarılmış Pluripotent Kök (UPK) hücreler geliştirilebilmektedir. Hastaya-özü geliştirilen UPK hücrelerinden farklılaştırılan hücreler, hastalıkların patofizyolojisinin ve moleküler mekanizmasının araştırılması, ilaç denemeleri ve hücresel tedavi için ideal bir kaynak sunmaktadır. Ancak, kardiyomyositler gibi UPK hücrelerinden üretilen özellikli hücreleri çeşitli uygulamalarda küme halinde veya tek hücre şeklinde saf bir popülasyon olarak elde etmek teknik olarak sınırlayıcı olabilmektedir. Bu sebeple çalışmamızda, UPK hücrelerinden yüksek verimlilikte kardiyomyosit elde etmeyi ve bu hücreleri enzimatik ve enzimatik olmayan metodlarla ayırıştırarak farklı maktrikslerde optimal kültür koşullarını tanımlamayı amaçladık. İlk olarak, sağlıklı insan kökenli UPK hücrelerini, WNT sinyal yolağını küçük moleküllerle yönlendirerek kardiyomyositlere farklılaştırdık. Farklılaşmanın 7. gününden itibaren hücre kültürlerinin ışık mikroskopunda gözlemlerinde kasılmalar tespit ettik. Kardiyak farklılaşmanın 15. günündeki kardiyomyositleri Kolajenaz II, Kolajenaz A+B ve TrypLE gibi enzimlerle ve EDTA gibi enzimatik olmayan protokoller geliştirerek ayırdık. Ayırılan kardiyomyositleri; Matrigel, Geltrex, iMatrix, Fibronectin ve Laminin ekstraselüler matris elemanları ile kaplı petrilere ekerek canlılık analizi için MTT testi ve paralel kültürlerde kardiyak troponin T (cTnT) ve Koneksin43 immünotokimyasal boyamalarını gerçekleştirdik. TrypLE enzimi ile ayırıştırılan hücreler, diğer kültürlerle kıyasla homojenite ve tekli kardiyomyosit kültürü oluşturduğunu gözlemledik. Kolajenaz A+B enzimi ile muamele edilen kültürlerde kardiyomyositleri kümeler halinde tespit ettik. Kolajenaz II ile muamele edilen ve iMatrix üzerine ekilen kardiyomyositlerin, Kolajenaz A+B enzimleriyle ayırıştırılan hücrelere oranla istatistiksel anlamlı olarak cTnT+ yoğunluğu ve canlılığı yüksek gözlemlendi (p<0.05). Bulgularımız, farklı uygulamalar için hazırlanacak insan UPKH kökenli kardiyomyositlerde

enzim ve matris seçiminin uygulamaya göre tasarlanması gerekliliğini göstermiştir.

Defining optimal single-cell dissociation and culture conditions for human iPSC-derived cardiomyocytes

Arzuhan Koç Yıldırım¹, İlayda Söztekin², Volkan Tuzcu³, Esra Çağavi²

¹Department of Microbiology, Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), İstanbul Medipol University, İstanbul, Turkey

²Department of Medical Biology, Regenerative and Restorative Medical Research Center (REMER), İstanbul Medipol University, İstanbul, Turkey

³Department of Pediatric Cardiology, İstanbul Medipol University, İstanbul, Turkey

Reprogramming of somatic cells of an individual with genetic inheritance to Induced Pluripotent Stem Cells (iPSC) can be achieved by inducing the expression of embryonic stem cell-specific genes. Mature cells differentiated from patient-derived iPSCs serve as an ideal source for understanding molecular basis of the diseases, drug testing and developing cellular therapies. However, generating a pure population of a certain cell type, such as cardiomyocytes, that is suitable for various applications as a cluster or single-cell form can be challenging. In this study we aimed to generate cardiomyocytes from iPSCs with a high yield and develop strategies to dissociate enzymatically or non-enzymatically and define the optimal extracellular matrix. We generated human iPSCs-derived cardiomyocytes using small molecules through WNT signalling pathway regulation. Starting from the 7th day of differentiation, we observed contracting cardiomyocyte clusters under light microscope. We dissociated the cells at day 15 using Collagenase II, Collagenase A+B, TrypLE for enzymatic, EDTA for non-enzymatic dissociation and seeded the dissociated cells on slides coated with Matrigel, Geltrex, iMatrix, Fibronectin or Laminin for live imaging, viability analysis by MTT and immunocytochemistry for cardiac troponinT (cTnT), and Connexin43 proteins. TrypLE-treatment exhibited homogenous and single cardiomyocyte replating shown by cTnT staining compared to other cultures. Collagenase A+B treatment yielded cardiomyocyte clusters rather than single cell cultures. Cardiomyocytes cultured on iMatrix treated with Collagenase II exhibited higher cardiomyocyte scores than those by Collagenase A+B (p<0.05). Finally, we have defined the optimal culture matrix and dissociation conditions for replating human iPSC-derived cardiomyocytes for different applications.

PS - 225

Uzun QT sendromlu transgenik farelerden uyarılmış pluripotent kök hücre hattı oluşturulması ve kardiyomiyosite farklılaştırılması

Gokce Ilayda Soztekin¹, Gizem Örs¹, Volkan Tuzcu³, Esra Çagavi²

¹*İstanbul Medipol Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi-REMER, İstanbul, Türkiye*

²Pediyatrik Kardioloji Departmanı, İstanbul Medipol Üniversitesi
Tıp Fakültesi Eğitim Hastanesi, İstanbul, Türkiye

³*İstanbul Medipol Üniversitesi, Uluslararası Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Rejeneratif ve Restoratif Tıp Araştırmaları Merkezi-REMER, İstanbul, Türkiye*

Kalıtsal veya kalıtsal olmayan kalp hastalıkları, dünya genelinde ölüm sebeplerinin başında gelmektedir. KCNQ1 ve diğer kardiyak iyon kanalı genlerindeki mutasyonların, ani ölümle sonuçlanan kardiyak ritim bozukluklarının en yaygın tipi olan uzun QT sendromuna (UQTS) neden olduğu bilinmektedir. Aritmi fizyolojisinin in vitro araştırılması amacıyla, Prof. Karl Pfeifer'in NIH laboratuvarından temin ettiğimiz biri tek-nükleotid mutasyonu içeren Kcnq1^{A340E/A340E} ve diğeri Kcnq1 geni tahrip edilmiş Kcnq1^{-/-} transgenik fareler edindik. Öncelikle, Kcnq1^{A340E/A340E} ve Kcnq1^{-/-} yetişkin transgenik farelerin elektrokardiyografik analizi sonucu literatüre benzer olarak, insanlarla benzer klinik fenotipi yansıtan QT ve JT aralığında uzama gözlemledik. Ardından, UQTS fenotipini in vitro olarak modelleyebilmek ve gelecekte sınanabilecek izogenik ile otolog hücre tedavilerine temel oluşturmak amacıyla, fare fibroblast hücrelerini FUW-Oct4-Sox2-Klf4-Myc (OKSM) transgenlerini içeren lentivirüs ile uyarılmış pluripotent kök hücrelere (UPKH) yeniden programladık. Yapacağımız çalışmalarda sınırsız hücre kaynağı oluşturan UPKH'lerinin embriyonik kök hücrelere benzer Oct4, Sox2, Nanog, Tra1-81 ve SSEA-1 genlerini q-RT-PCR ve immünohistokimyasal analizlerle ürettiklerini ve alkalın fosfat aktivitesi gösterdiklerini tespit ettik. UPKH kökenli kardiyomiyositlerin transgenik farelerde görülen hastalık fenotipini in vitro modelleme potansiyelini incelemek amacıyla UPKH'ler Bmp4 ve Wnt antagonistleri kullanılarak kardiyak hücrelere farklılaştırıldı. Farklılaşma kültürleri kardiyomiyosite özgü Troponin C (cTnT) proteinin immünohistokimyasal boyamaları ile gözlemlendi. Ektopik ve endojen OKSM transkripsiyon faktörleri ile cTnT, Myh6 ve Mlc2v gibi kardiyak-spesifik genlerin UPKH'lerinde ve kardiyomiyositlerde gen ifadesini q-RT-PCR ile analizi yapıldı. Sonuç olarak, insan üzerinde hücresel terapi çalışmalarının kısıtlı ve invazif olması nedeniyle, transgenik aritmi fare modelleri ve fare UPKH kökenli kardiyomiyositler, hastalık mekanizmasının araştırılmasında ve *in vivo* uygulamaların geliştirilmesinde önemli katkı sağlaması beklenmektedir.

Producing induced pluripotent stem cell line from transgenic mice with long QT syndrome and differentiation into cardiomyocytes

Gokce Ilayda Soztekin¹, Gizem Örs¹, Volkan Tuzcu³, Esra Çağavi²

¹*Istanbul Medipol University, Department of Medical Biology, Regenerative and Restorative Medical Research Center-REMER, Istanbul, Turkey*

²Istanbul Medipol University Hospital, Department of Pediatric Cardiology, Istanbul, Turkey

³Istanbul Medipol University, International School of Medicine, Department of Medical Biology, Regenerative and Restorative Medical Research Center-REMER, Istanbul, Turkey

Genetic or non-genetic heart diseases are the main cause of death throughout the world. Mutations in KCNQ1 and other cardiac ion channel genes cause long QT syndrome (LQTS) which is the most common cardiac rhythm disorder. We have obtained Kcnq1^{A340E/A340E} transgenic mice with single-nucleotide mutation and knock-out Kcnq1^{-/-} transgenic mice in order to study arrhythmia physiology and developing cellular therapies. First, electrocardiographic analysis on Kcnq1^{A340E/A340E} and Kcnq1^{-/-} adult mice showed phenotypic similarities with human patients evident by QT and JT interval prolongation. To generate an in vitro mouse-based model for LQTS and a source for isogenic and autologous cell treatment options for future experiments, transgenic fibroblasts were reprogrammed into induced pluripotent stem cells (iPSC) using FUW-Oct4-Sox2-Klf4-Myc (OKSM) lentivirus. By using immunocytochemical analysis and q-RTPCR, we have confirmed that iPSCs expressed Oct4, Sox2, Nanog, Tra1-81 and SSEA-1 genes similar to embryonic stem cells and showed alkaline phosphatase activity. To investigate in vitro modeling potential of the iPSC-derived cardiomyocytes, iPSCs were differentiated into cardiomyocytes using Bmp4 and Wnt antagonists. Next, differentiated cultures were examined via immunocytochemical staining by cardiomyocyte-specific Troponin C (cTnT). In iPSCs and cardiomyocytes, gene expression analysis of ectopic and endogenous OKSM transcription factors, cTnT and cardiac-specific genes like Myh6 and Mlc2v was analysed by q-RT-PCR. Since cell therapy research on humans are limited and invasive, transgenic arrhythmia mouse models and mouse iPSC derived cardiomyocytes could contribute to the evaluation of novel *in vivo* applications.

TÜBİTAK 1003 Öncelikli Alanlar Ar-Ge Projeleri Destekleme Programı tarafından 213S192 Nolu Proje kapsamında desteklenmektedir. We would like to thank TUBITAK for the support of this work under 1003 call by Project No: 213S192 titled: "Developing cellular therapies for genetic cardiac arrhythmias and modelling disease by using induced pluripotent stem cells".

PS - 226

Timokinon'un STZ ile oluşturulan hipokampal hasara karşı etkisi

**Birsen Elibol¹, Tuğçe Dallı¹, Merve Beker¹, Şule Terzioğlu
Uşak¹, Ülkan Kılıç², Fahri Akbaş¹**

¹Bezmialem Vakıf Üniversitesi

²*İstanbul Medipol Üniversitesi*

Amaç: Alzheimer Hastalığı yaşlı popülasyonunda en sık gözlenen ve sadece semptomatik iyileşme sağlayan tedavilerin uygulanabildiği nörodejeneratif bir hastalıktır. Günümüzde Alzheimer Hastalığı'nda tetiklenen nöronal hasarlardan korunmak için nöroprotektif moleküllerin arayışı halen devam etmektedir. Nigella Sativa bitkisinde bulunan aromatik hidrokarbon yapısında olan Timokinon (TQ) bu aday moleküllerden biridir. Bu nedenle bu çalışmada STZ ile indüklenen hipokampal nörodejenerasyonda, TQ'un olası nöroprotektif etkilerinin moleküler boyutta incelemesi amaçlanmıştır.

Gereç-Yöntem: Yapay beyin omurilik sıvısı (BOS) içerisinde hazırlanan STZ, 3 mg/kg konsantrasyonda olacak şekilde sıçanların hipokampuslerine bilateral olarak 3 er gün arayla iki kere beyin içi enjeksiyon ile verildi. Sham hayvanlarına ise yapay BOS beyin içi enjeksiyonla uygulandı. Operasyonların 15. gününden itibaren 20 mg/kg/gün dozunda TQ, 15 gün boyunca sıçanlara intragastrik yoldan verildi. Daha sonra hayvanlara fonksiyonel analiz için davranış testleri, sakrifikasyondan sonra ise yaşayan nöronların analizi için nissl boyaması uygulandı. Ayrıca TQ'nun moleküler etkileri, önerilebilecek potansiyel mekanizmalar (sağkalım ve büyüme yollarının bazı elemanları) gen ve protein seviyesindeki analizler ile değerlendirilerek araştırıldı.

Bulgular: İmmünohistokimyasal analizlere göre STZ hipokampüsteki hücre sağkalımını azaltırken TQ tedavisi nöron sayısı üzerinde iyileştirici bir etkiye bulunmamıştır. mRNA seviyesinde tau, MAP-2, sinaptofizin, sinapsin, DCX ve Akt seviyelerinde bir değişiklik gözlenmemiştir. Fakat protein seviyesinde STZ enjeksiyonu fosforile Akt, total Akt, ve DCX miktarlarında azalmaya sebep olurken TQ muamelesi ise bu azalmayı daha da tetikleyici bir etki yapmıştır.

Sonuç: Bu sonuçlar göstermektedir ki, TQ tedavisi STZ ile indüklenen nöronal hasara karşı hem fonksiyonel hem de moleküler olarak nöroprotektif bir koruma yerine hasarı arttırıcı sinerjetik bir etki yaratmıştır.

TQ contributes to STZ induced neuronal damage in hippocampus

Birsen Elibol¹, Tuğçe Dallı¹, Merve Beker¹, Şule Terzioğlu
Uşak¹, Ülkan Kılıç², Fahri Akbaş¹

¹*Bezmialem Vakıf University*

²*Istanbul Medipol University*

Objective: Alzheimer's disease is the most common neurodegenerative disease in aged population. It is known that existing therapeutic molecules provide only symptomatic recovery. Nowadays, the investigations of neuroprotective substances preventing disease-induced neuronal damage gain importance. One of these candidate molecules is Tymoquinone (TQ), an aromatic hydrocarbon found in *Nigella Sativa*. The aim of the present study was to examine the neuroprotective effects of TQ in the STZ-induced neurodegeneration in hippocampus of rats.

Materials-Methods: STZ (3 mg/kg in artificial cerebrospinal fluid (aCSF)) was applied bilaterally with ICV injections to hippocampus for two times with 3 day apart. Sham animals were received aCSF by ICV injections. At 15th day, TQ (20 mg/kg/day) were intubated intragastrically for 15 days. After behavioral tests, the brain sections were analysed by nissl staining for surviving neurons. Also, molecular effects of TQ in the treatment of STZ-induced neurodegeneration were evaluated by investigating several elements of survival and growth pathways on gene and protein level. Results: According to immunohistochemical analysis, STZ reduced the levels of pyramidal neurons and TQ had no protective effects on the cell survival in CA1. The mRNA expression levels of tau, MAP-2, synaptophysin, synapsin, DCX and Akt genes did not change in both STZ-induced and TQ-treated animals. However, on the protein level, STZ reduces the expression of both phosphorylated and total Akt and DCX while TQ caused a more triggering effect.

Conclusion: Present results show that, TQ exacerbates the STZ-induced neurodegeneration both in behavioural and molecular level rather than a neuroprotection to hippocampus against to neuronal damage.

PS - 227

Kortikal nöron kültürlerinde amiloid beta tarafından tetiklenen VDR baskılanması ve CYP24 uyarılmasında mir-27b-3p, let-7a-5p ve mir-125b-5p'nin rolü

Merve Alaylıoğlu, Erdinç Dursun, Esin Candaş, Selma Yilmazer, Duygu Gezen Ak

*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma
Ünitesi, İstanbul*

Amaç: Grubumuz, 2011’de yapmış olduğu bir çalışmada, amiloid betanın (A β) vitamin D reseptörünün (VDR) ekspresyonunu belirgin bir şekilde baskılayarak nörodejenerasyonu tetiklediğini gösterdi. Ayrıca, vitamin D katabolizmasını hızlandıran enzim olan ve CYP24 geni tarafından kodlanan 25-hidroksivitaminD3-24-hidroksilazın (24OHaz) mRNA ekspresyonunun hippokampal nöronlarda A β tarafından tetiklendiğini gösterdik. Bu bulgular, vitamin D ve Alzheimer hastalığı arasındaki ilişkinin, vitamin D metabolizması ve etkisindeki bozulmaları içerdiğini göstermektedir. Bu çalışmada, VDR’yi düzenlediği ileri sürülen miRNA’ların (hsa-mir-27b-3p, hsa-let-7a-5p, hsa-mir-125b-5p) ve CYP24’ü düzenlediği ileri sürülen miRNA’ların (hsa-mir-125b-5p, hsa-mir-26b-5p) ekspresyon seviyelerini araştırarak A β tarafından tetiklenen VDR veya 24OHaz’ın ekspresyonlarındaki değişikliklerin bu miRNA’larla ilişkisi olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Çalışmada, Sprague Dawley sıçan embriyolarının beyinlerinden hazırlanan primer kortikal nöronlara 24,48 ve 72 saat süreyle 10 μ M A β ₁₋₄₂ ve/veya 10⁻⁸M vitamin D uygulamaları gerçekleştirildi. hsa-mir-27b-3p, hsa-let-7a-5p, hsa-mir-125b-5p, hsa-mir-26b-5p ekspresyon seviyeleri qRT-PCR yöntemiyle incelendi.

Bulgular: A β uygulananmış kortikal nöronlarda uygulamaların 24. saatinde yalnızca let-7a-5p ekspresyonu anlamlı derecede arttı ($p<0.05$). miR125b-5p ekspresyonu A β uygulananmış ve vitamin D uygulananmış gruplarda azaldı, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Uygulamaların 48. saatinde miR125b-5p ekspresyonu A β , A β +vitamin D ve vitamin D+A β uygulananmış gruplarda anlamlı derecede azaldı (sırasıyla, $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.01$). miR27b-3p ekspresyonu vitamin D uygulananmış nöronlarda uygulamaların 24. ve 48. saatlerinde arttı (sırasıyla, $p<0.001$ ve $p<0.05$).

Sonuç: Sonuç olarak bu bulgularımız, miR27b-3p'nin VDR ekspresyonunu düzenleyerek vitamin D regülasyonuna katılabileceğine işaret etmektedir. Aβ tarafından tetiklenen VDR baskılanmasına katılan miRNA'nın let7a-5p olma olasılığı yüksektir. Aβ tarafından tetiklenen CYP24 uyarılması, miR125b-5p'nin Aβ tarafından baskılanması içeriyor olabilir.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi BAP Proje No:21585 ve TÜBİTAK proje No:214S585 tarafından desteklenmiştir.

The roles of mir-27b-3p, let-7a-5p and mir-125b-5p in VDR suppression and CYP24 induction triggered by amyloid beta in cortical neuron cultures

Merve Alaylıoğlu, Erdiñç Dursun, Esin Candaş, Selma Yilmazer, Duygu Gezen Ak

*Brain and Neurodegenerative Disorders Research Unit,
Department of Medical Biology, Cerrahpaşa Faculty of
Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey*

Objective: In 2011, a study by our group demonstrated that A β induces neurodegeneration by significantly suppressing VDR expression. We also reported that expression of 25-hydroxyvitamin D 3-24-hydroxylase (24OHase) encoded by CYP24, the enzyme accelerates vitamin D catabolism, is induced by A β in hippocampal neurons. This finding suggests that the association between vitamin D and AD includes disruption of vitamin D metabolism and action. In the study, we aimed to investigate whether alterations in VDR and 24(OH)ase expressions triggered by A β is associated with miRNAs that were suggested to regulate VDR (hsa-mir-27b-3p, hsa-let-7a-5p, hsa-mir-125b-5p) and CYP24 (hsa-mir-125b-5p, hsa-mir-26b-5p) by investigating the expression levels of these miRNAs.

Materials-Methods: Primary cortical neurons prepared from the brains of Sprague Dawley rat embryos were treated with 10 μ M A β_{1-42} and/or 10⁻⁸M vitamin D for 24, 48 and 72 hours.hsa-mir-27b-3p,hsa-let-7a-5p,hsa-mir-125b-5p,hsa-mir-6b-5p expression levels were detected by qRT-PCR.

Results: Only let7a-5p expression was significantly increased in A β -treated cortical neurons at 24h of treatments ($p<0.05$).miR125b-5p expression decreased in both A β or vitamin D-treated ones, yet these were not statistically significant.miR125b-5p expression decreased in A β , A β +vitamin D, vitamin D+A β -treated groups at 48h of treatments ($p<0.01, p<0.01, p<0.01$ respectively).miR27b-3p expression induced in vitamin D-treated neurons at 24h and 48h of treatments ($p<0.001, p<0.05$ respectively).

Conclusion: Consequently, these results indicate that miR27b-3p might be involve in regulation of vitamin D action, by regulating VDR expression. The more likely miRNA that is involved in VDR suppression by A β might be let7a-5p. CYP24 induction by A β might involve miR125b-5p suppression by A β .

The present work was supported by Research Fund of Istanbul University, Project no:21585 and TUBITAK, Project no:214S585.

PS - 228

1 α -25dihidroksivitamin D3 uygulanmış primer kortikal nöronlarda NMDA reseptörlerinin mRNA ekspresyon seviyeleri

Büşra Şengül, Duygu Gezen Ak, Esin Candaş, İrem Lütfiye Atasoy, Selma Yılmaz, Erdi Dursun

*Beyn ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Ünitesi, Tıbbi
Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul
Üniversitesi, İstanbul, Türkiye*

Amaç: İyon kanalları ve iyon metabolizması nörodejenerasyonun etkilediği hedeflerdendir. Nörodejenerasyonda, özellikle Ca^{+2} metabolizmasının bozulması ve glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılması nöron hasarını tetikler. Birçok hücreyel süreçte işlev gören Ca^{+2} , öğrenme ve hafıza için önemli olan nöral plastisitede önemli rol oynamaktadır. Hücrenin hayatta kalması için önemli olan hücre içi Ca^{+2} dengesi, iyon kanalları tarafından korunmaktadır. Bu iyon kanalları arasında, glutamat tarafından aktive edilen N-metil-D-aspartat reseptörleri (NMDAR), hafıza oluşumunda kritik rol oynamaktadır. NMDAR'lar tetramerik membran kalsiyum kanallarıdır. Vitamin D, 1000'den fazla genin düzenlenmesinden sorumlu olan bir sekosteroid hormondur. Çalışmalar, vitamin D'nin sinir sistemi üzerinde nörotrofik faktör üretimi, oksidatif stres metabolizmasının ve kalsiyum homeostazının düzenlenmesi gibi etkileri olduğunu göstermiştir. Alzheimer hastalığı (AH) ilerleyici bir nörodejeneratif hastalıktır. AD-IDEA protokolünde, NMDAR blokleri olan memantin ile birlikte vitamin D uygulamasının, Alzheimer hastalarında MMSE skorlarını artırdığı gösterilmiştir. Bu bulgu, vitamin D'nin NMDAR'lar aracılığıyla Ca^{+2} metabolizması üzerinde bir düzenleyici etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, primer kortikal nöronlarda vitamin D'nin NMDAR mRNA ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Sprague Dawley sıçan embriyolarının beyinlerinden hazırlanan primer kortikal nöron kültürlerine 12, 24 ve 48 saat boyunca 10^{-7} M veya 10^{-8} M 1α -25 dihidroksivitamin D3 (1,25 (OH) 2D3) uygulaması yapılmıştır. NMDAR1, NMDAR2A, NMDAR2B, NMDAR2C, NMDAR2D, NMDAR3A mRNA ekspresyon seviyeleri qRT-PCR ile tespit edilmiştir.

Bulgular: Ön sonuçlarımız, primer kortikal nöronlarda farklı zaman periyotlarında ve farklı konsantrasyonlarda uygulanan vitamin D'nin farklı NMDA reseptörlerinin mRNA ekspresyon seviyesini etkilediğini göstermiştir. **Sonuç:** Sonuçlarımız Vitamin D'nin N-metil-D-aspartat reseptörünün farklı alt birimlerinin ekspresyonlarını düzenlemede belirgin bir etkisinin olduğunu göstermektedir.

Bu çalışma İÜBAP Proje No:32605, 22285 ve TÜBİTAK Proje No:214S586 tarafından desteklenmiştir.

mRNA expression levels of NMDA receptors in 1 α -25dihydroxyvitamin D3 treated primary cortical neurons

Büşra Şengül, Duygu Gezen Ak, Esin Candaş, İrem Lütfiye Atasoy, Selma Yılmaz, Erdi Dursun

*Brain and Neurodegenerative Disorders Research Unit,
Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of
Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey*

Objective: Ion channels and ion metabolism are the targets that neurodegeneration affect. In neurodegeneration, disruption of Ca^{+2} metabolism and over-stimulation of glutamate receptors trigger neuronal damage. Ca^{+2} which functions in many cell process, plays fundamental role in neural plasticity which is important in learning and memory. Intracellular Ca^{+2} balance which is important for cell survival, is maintained by ion channels. Among these ion channels, glutamate-activated NMDARs (N-methyl-D-aspartate receptor), play critical role in memory formation. NMDARs are tetrameric membrane calcium channels. Vitamin D is a secosteroid hormone responsible for regulating more than 1000 genes and has effects on nervous system including neurotrophic factor production, regulation of oxidative stress metabolism and calcium homeostasis. Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder. In AD-IDEA protocol, it was shown that treatment of memantine which is a NMDAR blocker, with vitamin D increased MMSE scores in Alzheimer's patients. This indicates that vitamin D might have regulatory effects on Ca^{+2} metabolism via NMDARs. We aimed to investigate the effects of vitamin D on NMDARs mRNA expression levels in primary cortical neurons.

Materials-Methods: Primary cortical neuron cultures of Sprague Dawley rat embryos treated with 10^{-7} M or 10^{-8} M α -25dihydroxyvitamin D3 for 12,24 and 48 hours.mRNA expression levels of NMDARs were detected by qRT-PCR.Results: Results indicated that mRNA expression levels of most of the NMDARs are affected with vitamin D treatment in different time periods,in treatments of different vitamin D concentrations in primary cortical neurons.

Conclusion: Vitamin D has obvious effect on regulating the expressions of different subunits of NMDAR.

The present work was supported by the IUBAP, Project no:32605,22285, by the Scientific and Technological Research Council of Turkey-TUBITAK, Project no:214S586)

PS - 229

Primer nöron kültüründe vitamin D'nin mitokondrial genomda kodlanan genlerin ekspresyonları üzerine etkileri

Büşra Şengül, Duygu Gezen Ak, Merve Alaylıoğlu, İrem
Lütfiye Atasoy, Selma Yılmaz, Erdiñç Dursun

*Beyn ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Ünitesi, Tıbbi
Biyoloji Anabilim Dalı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul
Üniversitesi, İstanbul, Türkiye*

Amaç: Mitokondri fonksiyon bozukluğu, Alzheimer hastalığı (AH) ve Parkinson hastalığı (PH) gibi nörodejeneratif hastalıklarla ilişkilidir. AH'nin patolojik bileşeni olan amiloid betanın, sitokrom c oksidazın (COX) aktivitesini zayıflattığı ileri sürülmektedir. Tau hiperfosforilasyonunun kompleks I ve COX'i inhibe ettiği bildirilmiştir. Elektron transfer sisteminde (ETS) yer alan kompleks I ve kompleks IV kaynaklı mitokondri disfonksiyonlarının PH gelişimiyle ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Vitamin D, 1000'den fazla genin düzenlenmesinden sorumlu bir sekosteroid hormondur. Son bulgular, hipovitaminoz D veya D vitamininin yetersiz kullanımının, nöronları yaşlanmaya ve nörodejenerasyona yatkın hale getirebileceğini göstermektedir. Vitaminin D'nin mitokondriyle ilişkisi hakkında çok sınırlı bilgi bulunmaktadır. Çalışmamızda, nörodejeneratif bozuklukların gelişmesindeki en önemli nedenlerden biri olan mitokondri fonksiyon bozukluğunun vitamin D ilişkili olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Bu amaca ulaşmak için, Sprague Dawley sıçan embriyoları kullanılarak gerçekleştirilen primer kortikal nöronlarda, vitamin D'nin mtDNA'da yer alan ETS alt birimlerini kodlayan 13 genin mRNA ekspresyonu üzerine etkisini qRTPCR ile belirledik. Tüm grupların ham verileri GraphPadInStat'da DTCG 3.06 programı ile analiz edildi. $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Hücre kültürü deneyleri en az üç kez tekrarlanmıştır.

Bulgular: MtDNA'da kodlanan OXPHOS I, III ve V alt ünitelerinin mRNA ekspresyonunun, farklı 1,25 dihidroksivitamin D3 dozları tarafından etkilendiği belirlendi.

Sonuç: Bu ön sonuçlar, vitamin D'nin enerji metabolizmasında bir rolü olabileceğini göstermektedir. Vitamin D'nin, AH ile ve kısmen PH ile ilişkili OXPHOS I ve III üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, vitamin D eksikliği ile her iki nörodejeneratif bozukluk arasındaki ilişkinin mitokondriyal fonksiyon bozukluğunu da içerdiğini düşünebiliriz.

Bu çalışma TÜBİTAK Proje No:115S438 tarafından desteklenmiştir.

The effects of vitamin D on the expressions of genes encoded in mitochondrial genome in primary neuron culture

Büşra Şengül, Duygu Gezen Ak, Merve Alaylıoğlu, İrem
Lütfiye Atasoy, Selma Yılmaz, Erdi Dursun

*Brain and Neurodegenerative Disorders Research Unit,
Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of
Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey*

Objective: Mitochondrial dysfunction is related with neurodegenerative disorders including Alzheimer's disease(AD) and Parkinson's disease(PD),etc.Amyloid beta which is a hallmark of AD,was suggested to attenuate the activity of cytochrome c oxidase.Tau hyperphosphorylation was reported to inhibit complex I and COX.Complex I and IV of ETS based mitochondrial dysfunctions are suggested to be related with PD development.Vitamin D is a secosteroid hormone responsible for regulating more than 1000 genes.Evidence indicates that either hypovitaminosis D or inefficient utilization of vitamin D may cause neurons to be vulnerable to aging and neurodegeneration.The information about the relation of vitamin D with mitochondria is very limited.We aim to study whether the mitochondrial dysfunction,one of the important reasons in developing neurodegenerative disorders is affected by vitamin D.

Materials-Methods: We aim to conduct our study on primary cortical neurons of Sprague Dawley rat embryos for determining the effect of vitamin D on the mRNA expression of mitochondrial DNA, encoding 13 genes that code ETS subunits by qRT-PCR. Raw data for each group were analyzed in GraphPadInStat DTCC 3.06. $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: mRNA expression of OXPHOS I,III and V subunits which encoded in mtDNA were effected by different 1,25 dihydroxyvitamin D3 doses.

Conclusion: Results indicate vitamin D might have a role in energy metabolism. Given the effect of vitamin D on OXPHOS I and III which are associated with AD and partially with PD we can speculate that relation between vitamin D deficiency and both neurodegenerative disorders might involve mitochondrial dysfunction.

The present work was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey-TUBITAK, Project no:115S438

PS - 230

Parkinson hastalarında ve sağlıklı bireylerde OXPHOS altüniteleri ATP6 ve ATP8'in mRNA ekspresyon seviyelerinin karşılaştırılması

Ebru Keskin¹, Büşra Şengül Şengül¹, Gençer Genç Genç²,
Merve Alaylıoğlu Alaylıoğlu¹, İrem Lütüfiye Atasoy¹, Hülya
Apaydın³, Selma Yılmaz¹, Sibel Ertan³, Erdiñç Dursun¹,
Duygu Gezen Ak¹

¹*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Beyin ve Nörodejeneratif Hastalıklar Araştırma Ünitesi, İstanbul, Türkiye*

²Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

Amaç: Parkinson hastalığı (PH), substantia nigra dopaminerjik nöron kaybı ve Lewy cisimciklerinde alfa sinüklein protein birikimiyle karakterize olan, ikinci en sık görülen nörodejeneratif hastalıktır. PH patogenezi ve dopaminerjik nöron dejenerasyonunun, erken patoloji özellik olarak ortaya çıkan mitokondri fonksiyon bozukluğuyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Mitokondri fonksiyon bozukluğunda görülen membran geçirgenliğindeki artış ve sitokrom c salınımının, oksidatif fosforilasyon sistemini (OXPHOS) etkileyerek α -sinüklein oligomerizasyonunu ve nörodejenerasyonu tetiklediği ileri sürülmektedir. Hücredeki enerji üretiminin büyük kısmını gerçekleştiren OXPHOS, 5 enzim kompleksinden oluşmaktadır. Bu enzim komplekslerinden biri olan Kompleks V, diğer enzim komplekslerinin oluşturduğu elektrokimyasal gradiyenti kullanarak adenozin trifosfat (ATP) sentezler. Kompleks V, F0 ve F1 olmak üzere iki fonksiyonel bölgeden oluşmaktadır. F0 bölgesinin alt ünitelerinden olan a ve A6L alt üniteleri, mitokondriyal DNA (mtDNA) üzerinde bulunan MT-ATP6 ve MT-ATP8 genleri tarafından kodlanmaktadır. MT-ATP6 ve MT-ATP8 genlerinin anormal ekspresyonunun mitokondride enerji metabolizması bozukluklarına neden olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda, nörodejeneratif hastalıklarda görülen hücresel enerji metabolizmasındaki değişimlerde mitokondriyal genomda kodlanan Kompleks V üyelerinin katkısını araştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Bu doğrultuda çalışmamızda, Parkinson hastalarında ve sağlıklı bireylerde kompleks V'in iki alt ünitesini kodlayan MT-ATP6 ve MT-ATP8 genlerine ait mRNA ekspresyon seviyelerini inceledik.

Bulgular: Parkinson hastaları ve sağlıklı bireyler arasında mRNA ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında, Parkinson hastalarında ATP6 ve ATP8 mRNA'larının göreceli ekspresyon seviyelerinin sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu.

Sonuç: Bu sonuçlar, PH'de mitokondriyal enerji metabolizmasında bozulmaların meydana geldiğini ve bu

bozulmada Kompleks V'in bir rolü olabileceğini göstermektedir.

Bu çalışma TÜBİTAK Proje No:115S438 tarafından desteklenmiştir.

Comparison of mRNA expression levels of OXPHOS subunits ATP6 and ATP8 in Parkinson's patients and healthy individuals

**Ebru Keskin¹, Büşra Şengül Şengül¹, Gençer Genç Genç²,
Merve Alaylıoğlu Alaylıoğlu¹, İrem Lütüfiye Atasoy¹, Hülya
Apaydın³, Selma Yılmaz¹, Sibel Ertan³, Erdinç Dursun¹,
Duygu Gezen Ak¹**

¹Brain and Neurodegenerative Disorders Research Unit, Department of Medical Biology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey

²Department of Neurology, Şişli Hamidiye Etfal Training and Research Hospital, Istanbul, Turkey

³Department of Neurology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey

Objective: Parkinson's disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease characterized by dopaminergic neuronal loss in substantia nigra and alpha synuclein protein accumulation in Lewy bodies. It is thought that PD pathogenesis and dopaminergic neuron degeneration may be associated with mitochondrial dysfunction which arises as an early pathological feature. It was suggested that increased membrane permeability and cytochrome c release seen in mitochondrial dysfunction trigger α -synuclein oligomerization and neurodegeneration by affecting oxidative phosphorylation system (OXPHOS). OXPHOS, which performs most of the energy production in the cell, is composed of 5 enzyme complexes. Complex V synthesizes adenosine triphosphate (ATP) using an electrochemical gradient generated by other enzyme complexes. Complex V consists of two functional regions, F₀ and F₁. The a and A6L subunits of the F₀ region are encoded by MT-ATP6 and MT-ATP8 genes located on mitochondrial DNA (mtDNA). Studies showed that abnormal expression of MT-ATP6 and MT-ATP8 genes causes mitochondrial energy metabolism impairments. In the study, we aimed to investigate the contribution of complex V members encoded in the mitochondrial genome to cellular energy metabolism alterations seen in neurodegenerative disorders.

Materials-Methods: We investigated mRNA expression levels of MT-ATP6 and MT-ATP8 that encode two subunits of complex V in Parkinson's patients and healthy individuals.

Results: When mRNA expression levels were compared between Parkinson's patients and healthy individuals, the relative mRNA expression levels of ATP6 and ATP8 in Parkinson's patients were found significantly higher than that of healthy individuals.



BİLİMSEL SEKRETERYA

Tıbbi Biyoloji ve Genetik Derneği

Prof. Dr. Ersan Kalay

E-Posta: ersankalay@hotmail.com

ORGANİZASYON SEKRETERYASI

ConPlus Kongre & Organizasyon

Acarlar Mah. Candan Çıkmazı Sok.

Umut Vadi Sitesi A3 Blok No: 22

Beykoz / İstanbul

Tel: +90 216 541 00 54

Faks: +90 216 541 01 08

E-Posta: sekreterya@tbgk2017.org

www.tbgder.org