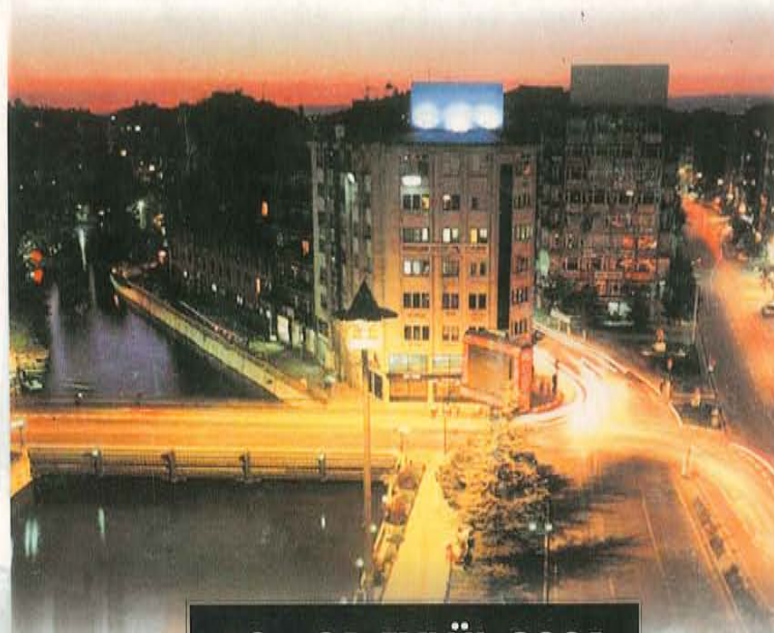


7. ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ KONGRESİ ÖZET KİTABI

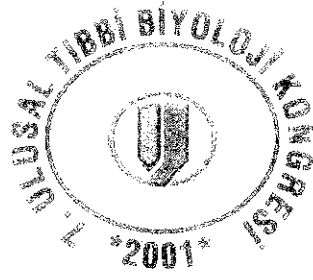


18 - 21 EYLÜL 2001
ESKİŞEHİR



Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

<http://www.ogu.edu.tr/~tbiyo/index.htm>



**7. ULUSAL TIBBİ BİYOLOJİ
KONGRESİ
18-21 EYLÜL 2001
ESKİŞEHİR**

Celal Z.

ÖZET KİTABI

**Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
ve
Tıbbi Biyoloji Derneği**

**Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Prof.Dr. Necla ÖZDEMİR Konferans Salonu**

İÇİNDEKİLER

DÜZENLEME KURULU	III
KONGREMİZ BAŞLARKEN	IV
BİLİMSEL PROGRAM ÖZETİ.	V
BİLİMSEL PROGRAM.	VII
KONFERANSLAR	I
PANEL.....	39
ALTAN GÜNALP ÖDÜLLERİ.....	56
SÖZLÜ SUNUMLAR.....	64
POSTERLER	77
İNDEKS	127

Year	1970	1971	1972	1973	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	2028	2029	2030	2031	2032	2033	2034	2035	2036	2037	2038	2039	2040	2041	2042	2043	2044	2045	2046	2047	2048	2049	2050	2051	2052	2053	2054	2055	2056	2057	2058	2059	2060	2061	2062	2063	2064	2065	2066	2067	2068	2069	2070	2071	2072	2073	2074	2075	2076	2077	2078	2079	2080	2081	2082	2083	2084	2085	2086	2087	2088	2089	2090	2091	2092	2093	2094	2095	2096	2097	2098	2099
1970	1971	1972	1973	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	2028	2029	2030	2031	2032	2033	2034	2035	2036	2037	2038	2039	2040	2041	2042	2043	2044	2045	2046	2047	2048	2049	2050	2051	2052	2053	2054	2055	2056	2057	2058	2059	2060	2061	2062	2063	2064	2065	2066	2067	2068	2069	2070	2071	2072	2073	2074	2075	2076	2077	2078	2079	2080	2081	2082	2083	2084	2085	2086	2087	2088	2089	2090	2091	2092	2093	2094	2095	2096	2097	2098	2099	

Onursal Başkanlar

Prof. Dr. Necat A. AKGÜN
Osmangazi Üniversitesi Rektörü

Prof. Dr. Erol GÖKTÜRK
Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı

Kongre Başkanı

Prof. Dr. Ayşe BAŞARAN
OGÜ. Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Kongre Sekreteri

Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ
OGÜ. Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Kongre Saymanı

Doç. Dr. İrfan DEĞİRMENCİ
OGÜ. Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Kongre Düzenleme Kurulu

Prof. Dr. Ayşe BAŞARAN
Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ
Doç. Dr. İrfan DEĞİRMENCİ
Arş. Gör. Hülyam KURT
Arş. Gör. Miriş DİKMEN
Arş. Gör. M. Cengiz ÜSTÜNER
Arş. Gör. Didem COŞAN
Doktora Öğrencisi Meral URHAN
Y. Lisans Öğrencisi Ayşegül TOKİS BAYRAMOĞLU

KONGREYE BAŞLARKEN

18-21 Eylül 2001 tarihleri arasında Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ve Tıbbi Biyoloji Derneği tarafından ortaklaşa düzenlenen 7. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi'nin hazırlığı 8 ay gibi kısa bir zaman diliminde gerçekleşmiştir.

Bu kongrede sunulacak konferans, panel, serbest bildiri ve posterlerin konuları Moleküler Biyoloji, Moleküler Genetik ve Deneysel Biyoloji alanlarını kapsamaktadır. Saygıdeğer meslektaşlarımızın bu konular çerçevesinde hazırladıkları değerli bilimsel çalışmalar kongre programının oluşmasını sağlamıştır.

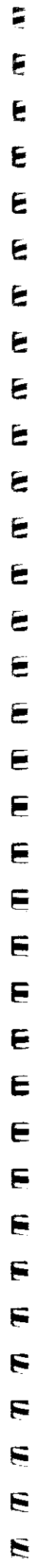
Çok değerli meslektaşlarımız büyük bir özveri göstererek bu kongre için 11 konferans, 1 panel, 12 serbest sunum, 47 poster ve Prof.Dr.Altan GÜNALP ödülü için 7 eser ile kongrenin bel kemiğini oluşturmuşlardır. Kendilerine burada sonsuz teşekkürlerimi sunmak isterim.

İnsan genom projesi'nin hemen hemen tamamlandığı bu yüzyılda, yaşamın daha kaliteli hale getirilmesi, moleküler çalışmaların başarısıyla paralellik göstermektedir. Bizim Kongremize sunulan hemen hemen her çalışmanın da moleküler çerçevede ele alınmış olmasının hem ulusal hem de uluslararası düzeyde bilime katkılarda bulunacağına inanmaktayım.

Kongremizde bizi yüreklendirerek desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Osmangazi Üniversitesi Rektörü Sayın Prof.Dr. Necat A. AKGÜN ve Tıp Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Erol GÖKTÜRK'e , katkıda bulunan kurum ve kuruluşlara, büyük bir özveri ile çalışan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı elemanlarına şükranlarımı sunarım.

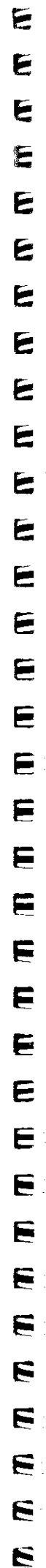
Prof. Dr. Ayşe BAŞARAN

Kongre Başkanı



BİLİMSEL PROGRAM ÖZETİ

TARİH	SAAT	PROGRAM
18.09.2001 SALI	09.00-10.00	Kayıt
	10.00-11.00	Açılış Töreni (Tıp Fakültesi, Prof.Dr. Necla Özdemir Konferans Salonu)
	11.00-12.00	Konferans (1)
	12.00-13.30	Öğle Yemeği
	13.30-14.30	Konferans (2)
	14.30-15.00	Kahve – Poster Tartışması
	15.00-15.45	Konferans (3)
	15.45-16.30	Konferans (4)
	16.30-16.45	Kahve
	16.45-18.15	Sözlü Sunum (1-4)
	20.00	Açılış Kokteyli (Emek Otel)
19.09.2001 ÇARŞAMBA	09.00-09.45	Konferans (5)
	09.45-10.30	Konferans (6)
	10.30-11.00	Kahve – Poster Tartışması
	11.00-12.00	Konferans (7)
	12.00-13.30	Öğle Yemeği
	13.30-14.30	Konferans (8)
	14.30-15.00	Kahve – Poster Tartışması
	15.00-16.00	Konferans (9)
	16.00-16.15	Kahve
	16.15-17.30	Sözlü Sunum (5-8)
	20.00	Akşam Yemeği (Akademik Kulüp)
20.09.2001 PERŞEMBE	09.00-10.00	Konferans (10)
	10.00-10.30	Kahve – Poster Tartışması
	10.30-12.00	Sözlü Sunum (9-12)
	12.00-13.30	Öğle Yemeği
	13.30-18.00	Gezi
	20.00	Gala Yemeği (Akademik Kulüp)
21.09.2001 CUMA	09.00-11.00	Panel
	11.00-11.15	Kahve
	11.15-12.00	Konferans (11)
	12.00-12.30	Kapanış Konuşması
	12.30-13.30	Öğle Yemeği



BİLİMSEL PROGRAM

18 Eylül 2001 SALI

- 09⁰⁰-10⁰⁰ Kayıt
Prof.Dr. Necla ÖZDEMİR Konferans Salonu
- 10⁰⁰-11⁰⁰ Açılış Töreni
- 11⁰⁰ - 12⁰⁰ Konferans 1 (Oturum Başkanı: Prof.Dr. Nurettin BAŞARAN)
Koruyucu Moleküller, Koruyucu Melekler mi ?
Prof.Dr. Turgay BUDAK
- 12⁰⁰-13³⁰ Öğle Yemeği
- 13³⁰-14³⁰ Konferans 2 (Oturum Başkanı: Prof. Dr. Güven LÜLECİ)
Mitokondrial DNA patolojileri
Doç.Dr. Sıtkı ÖZTAŞ
- 14³⁰-15⁰⁰ Kahve ve Poster Tartışması
- 15⁰⁰-15⁴⁵ Konferans 3 (Oturum Başkanı: Prof. Dr. Mustafa SOLAK)

İnsan Y-kromozomunun Genetik ve Moleküler Analizi
Prof. Dr. İlhan SEZGİN
- 15⁴⁵- 16³⁰ Konferans 4 (Oturum Başkanı: Prof. Dr. Sevim BÜYÜKDEVRİM)
Osteoporozun Moleküler Biyolojisi
Dr. Belgin Süsleyici DUMAN
- 16³⁰- 16⁴⁵ Kahve

Sözlü Bildiri I
(Oturum Başkanları: Doç. Dr. Sennur DEMİREL,
Doç. Dr. Sema BOLKENT)
- 16⁴⁵-17⁰⁵ S-1: Türk Toplumunda Nf1 Geni Polimorfik Markerlarında Saptanan Yeni Alleller
Sibel OĞUZKAN, Mine CİNBİŞ, Şükriye AYTER, Banu ANLAR, Sabiha AYSUN
- 17⁰⁵-17²⁵ S-2: Astımlı Hastalarda Anjiotensin Konverting Enzim (ACE) Geni İnsersiyon/
Delesyon (I/D) Polimorfizmi
Meral URHAN, İrfan DEĞİRMENCİ, Emel HARMANCI, Hasan V. GÜNEŞ,
Muzaffer METİNTAŞ, Ayşe BAŞARAN
- Sözlü Bildiri II
(Oturum Başkanları: Doç.Dr. Öztürk ÖZDEMİR,
Doç.Dr. Seyhan ALTUN)
- 17²⁵-17⁴⁵ S-3: Meme Ve Over Kanserlerinde Cyp 17 Gen (T→C) Polimorfizminin
Araştırılması
Hülya YAZICI, Seden KÜÇÜCÜK, Pınar Saip, Nejat DALAY
- 17⁴⁵-18⁰⁵ S-4: Hla-B Alellerinin Dimorfik Primerler Kullanılarak Sbt Yöntemi İle
Saptanması
Fatma Savran OĞUZ¹, Lee Ann BAXTER-LOWE²
- 20⁰⁰. Açılış Kokteyli

19 Eylül 2001, CARŞAMBA

- 9⁰⁰-9⁴⁵ Konferans 5 (Oturum Başkanı: Prof. Dr. Mahmut ÇARİN)
Kan Gruplarının Moleküler Yapısı
Prof. Dr. Ahmet ÇOLAK
- 9⁴⁵- 10³⁰ Konferans 6 (Oturum Başkanı: Prof.Dr. Halit ELYAS)
Genom Evolüsyonu
Prof. Dr.Gülseren BAĞCI
- 10³⁰- 11⁰⁰ Kahve – Poster Tartışması (1-12)
- 11⁰⁰-12⁰⁰ Konferans 7 (Oturum Başkanı: Prof. Dr. Filiz AYDIN)
Genom Projesi Sonrasındaki Gelişmeler ve Beklentiler
Prof.Dr. Şükriye AYTER
- 12⁰⁰-13³⁰ Öğle Yemeği
- 13³⁰-14³⁰ Konferans 8 (Oturum Başkanı: Prof. Dr. Nurten ÖZÇELİK)
Bilinmeyen Gen Bölgelerinin Mikrosatellit Polimorfizm Analizleri ile Tanınlanması
Prof. Dr. Ahmet ARSLAN
- 14³⁰- 15⁰⁰ Kahve - Poster
- 15⁰⁰-16⁰⁰ Konferans 9 (Oturum Başkanı: Prof.Dr. Mehmet GÜRTEKİN)
Sinükleinopatiler ile Taupatiler
Prof. Dr. Turgay DALKARA
- 16⁰⁰-16¹⁵ Kahve
- Sözlü Bildiri I
(Oturum Başkanları: Prof.Dr. Atilla ATALAY,
Doç. Dr. Solmaz ŞİMŞEK)
- 16¹⁵ – 16³⁵ S-5: All Hastalarında Hla-Dr53 Antijen Sıklığı
Yeliz DUVARCI, Çiğdem KEKİK, Yalçın SEYHUN, Mahmut ÇARİN
- 16³⁵ – 16⁵⁵ S-6: Lösemili Olgularda Telomeraz Enzim Aktivitesi
Müjgan ÖZDEMİR, Hasan V. GÜNEŞ, Ayşe BAŞARAN, İrfan
DEĞİRMENCİ, Didem COŞAN, Beyhan DURAK, Nurettin BAŞARAN
- Sözlü Bildiri II
(Oturum Başkanları: Doç.Dr. E. Ferda PERÇİN,
Doç. Dr. Müjgan CENGİZ)
- 16⁵⁵ – 17¹⁵ S-7: C2 Monitorizasyonunda Farklı Dilusyonların Karşılaştırılması
Selvi AYGÜN KAYA , Tülay KILIÇARSLAN AYNA, Hayriye ŞENTÜRK,
Mehmet GÜRTEKİN, Mahmut ÇARİN
- 17¹⁵ – 17³⁵ S-8: Eser Elementler Ve DNA Hasarı
Orkide DONMA, M. Metin DONMA
- 20⁰⁰. Akşam Yemeği

20 Eylül 2001, PERSEMBE

- 09⁰⁰-10⁰⁰ Konferans 10 (Oturum Başkanı: Prof. Dr. Meral SAKIZLI)
Biology and Genetics of Nonsyndromic Hearing Loss
Dr. Bernd WOLLNIK
- 10⁰⁰-10³⁰ Kahve - Poster
- Sözlü Bildiri I
(Oturum Başkanları: Prof.Dr. Çetin ALGÜNEŞ
Doç. Dr. E. Ali ÇAKMAK)
- 10³⁰-10⁵⁰ S-9: Osteomalazili Kişilerde Vitamin D Reseptör Gen Allellerinin Kemik Metabolizması Üzerine Etkilerinin Araştırılması
Belgin Süsleyici DUMAN, Hakkı KAHRAMAN, Melek ÖZTÜRK,
Faruk ALAGÖL, Selma YILMAZER
- 10⁵⁰-11¹⁰ S-10: Sarkoidozlu Hastaların Bronkoalveolar Lavaj Sıvılarındaki İltihabi Hücrelerin Fenotiplerinin İmmunohistokimyasal Olarak İncelenmesi
F.DAĞISTANLI, M.TUNÇDEMİR, G.KANER, N.YILMAZ, G.YILMAZ, S.YILMAZER
- Sözlü Bildiri II
(Oturum Başkanları: Prof.Dr. M. Kemal SOYLU,
Doç. Dr. F. İffet ŞAHİN)
- 11¹⁰-11³⁰ S-11: Deneysel Diabetli Sıçan Periferik Sinirlerinde Igf-1 Ekspresyonu Ve Pyridoxine'nin Etkileri
S.YILMAZER, H.HATEMİ, M.TUNÇDEMİR, F.DAĞISTANLI,
N. ERENŞOY, M.ÖZTÜRK
- 11³⁰-11⁵⁰ S-12: Kangal Kaplıca Balıklarından *Cyprinion macrostomus* Ve *Garra rufa*'nın Pro- Ve Anti-Oksidant Enzim Aktivitelerinin Kıyaslanması
Yavuz SİLİĞ, Öge ÇETİNKAYA, Atilla ATALAY
- 12⁰⁰-13³⁰ Öğle Yemeği
- 13³⁰ Gezi
- 20⁰⁰ Gala Yemeği

21 Eylül 2001, CUMA

09⁰⁰ - 11⁰⁰

PANEL

Moleküler Biyoloji ve Genetik Açısından Kansere Bakış

Prof. Dr. Hüseyin BAĞCI (Moderatör)

Prof. Dr. Selma YILMAZER
Metastaz Biyolojisi

Prof. Dr. Ahmet KARAGÜZEL
Kanser Sitogenetiği

Prof. Dr. Turgut ULUTİN
Kanser ve Apoptoz

Doç. Dr. Tayfun ÖZÇELİK
Kalıtımsal meme kanseri ve *BRCA1* - *BRCA2* genleri

11⁰⁰-11¹⁵

Kahve

11¹⁵-12⁰⁰

Konferans 11 (Oturm Başkanı: Prof. Dr. Melek ÖZTÜRK)
Deneyisel Kanser Modellerinin Oluşturulmasında Ana İlkeler
Prof. Dr. Tuncay ALTUĞ

12⁰⁰-12³⁰

Kongre Değerlendirmesi

12³⁰

Öğle Yemeği

KONFERANSLAR



K-1:

KORUYUCU MOLEKÜLLER, KORUYUCU MELEKLER Mİ?

Prof. Dr. Turgay BUDAK

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD, DİYARBAKIR

K-2:

MİTOKONDRIYAL DNA PATOLOJİLERİ

Doç. Dr. Sıla ÖZTAŞ

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD, ERZURUM

Hücresinin enerji santrali olarak iş gören mitokondriyon; hücre içerisinde yapısı, biyokimyasal fonksiyonları, kendine özgü DNA'sı ve kalıtımı ile iyi gelişmiş ve organize olmuş çok özel bir organeldir.

Mitokondriler kendilerine ait bir mitokondriyal genoma sahiptir. Her mitokondri içerisinde sayısı 2 ila 10 arasında değişen mitokondriyal DNA bulunur. İnsan mitokondriyal DNA'sı 16569 bp (baz çifti) uzunluğunda, biri ağır diğeri hafif olmak üzere çift zincirli ve sirküler yapıdadır. İnsan mitokondriyal genomu 37 gen içerir; bunlardan 28 tanesi ağır zincirde ve 9 tanesi de hafif zincirde bulunmaktadır. Mitokondrinin 37 geninin 22'si tRNA geni, 2'si rRNA (12S ve 16S rRNA) geni ve 13 tanesi de polipeptid şifreleyen mRNA genleridir.

Mitokondriyal kalıtım sitoplazmik bir kalıtım olup, anne yoluyla (ovum) yavrulara aktarılmaktadır (matrilineal kalıtım). Fertilizasyon sırasında spermatozoon'un mitokondriyal DNA'sının zigota katkısı yok denecek kadar azdır. Çünkü spermatozoon'un taşıdığı mitokondriyonlar onun boyun kısmında yer almaktadır. Fertilizasyon esnasında akrozomun zona pellucida'yı eritmesi sonucu spermatozoon'un baş kısmı içerisindeki nükleer genetik materyal zigota dahil olmakta, fakat boyun kısmında yerleşmiş bulunan mitokondriyonlar bu olaya katılmamaktadır.

İnsanda ortaya konulan mitokondriyal DNA patolojileri oldukça yenidir. İlk kez 1988 yılında Wallace mitokondriyal DNA mutasyonu sonucu ortaya çıkan "LHON" (Leber's Hereditary Optic Neuropathy) hastalığını tanımlamıştır. Bu tarihten itibaren günümüze dek yaklaşık 13 yıl içerisinde insanda tanımlanan bazı hastalıkların moleküler temelinde mitokondriyal DNA patolojilerinin varlığı ortaya konmuş olup, bu sayı gün geçtikçe artmaktadır. Ayrıca Tıbbi Genetik alanında çalışanların rehberi olan "İnsan Mendelian Kalıtım" modelleri kataloğunda da (MIM = Mendelian Inheritance In Man) mitokondriyal DNA kalıtımı ve patolojileri için ayrı bir bölüm oluşturulmuştur.

Mitokondriyal DNA'da gözlenen patolojileri başlıca 5 ana grupta toplamak mümkündür

A) Mitokondriyal DNA'daki delesyon veya duplikasyonlara bağlı patolojiler

- 1) Mitokondriyal DNA delesyonu - Progressif Eksternal Oftalmopleji (PEO) (MIM # 550000)
- 2) Kearns-Sayre Sendromu (KSS - 530000)
- 3) Pearsons Marrow-Pancreas Sendromu (MIM #557000)
- 4) Diabetes Mellitus ve işitme kaybı (MIM # 520000)
- 5) Wolfram Sendromu (MIM # 598500)
- 6) Mitokondriyal DNA'da delesyon veya duplikasyonlara bağlı diğer patolojiler

B) Mitokondriyal proteinleri değiştiren tek nükleotid mutasyonları

- 1) Leber's Herediter Optik Nöropati (LHON – MIM # 535000)
- 2) Nöropati, Ataksi, Retinitis Pigmentoza (NARP – MIM # 551500)
- 3) Leigh Hastalığı (Subakut nekrotize ansefalomiyelit)
- 4) Alzheimer hastalığı (MIM # 502500)
- 5) Parkinson hastalığı (MIM # 556500)

C) Mitokondriyal tRNA genini değiştiren tek nükleotid mutasyonları

- 1) Myoklonik Epilepsi, Ragged Red Fiber (MERRF – MIM # 545000)
- 2) Mitokondriyal miyopati, Ensefalopati, Laktik Asidoz, Stroke-like episodes (MELAS MIM # 540000)
- 3) Letal İnfantil Mitokondriyal Miyopati (LIMM)
- 4) Maternally Inherited Myopathy Cardiomyopathy (MMC)
- 5) Kronik intestinal psödoobstrüksiyon, miyopati, oftalmopleji (CIPO)

D) Mitokondriyal rRNA genini değiştiren tek nükleotid mutasyonları

- 1) Streptomisin ototoksitesi (MIM # 580000)
- 2) Kloramfenikol rezistansı (MIM # 515000)

E) Mitokondriyal DNA ve yaşlılık (MIM # 502000)

Sonuç olarak, yukarıda ana başlıklar halinde sunulan, mitokondriyal DNA ve patolojileri bu toplantıda detaylı olarak tartışılacaktır.

K-3:

İNSAN Y-KROMOZOMUNUN GENETİK VE MOLEKÜLER ANALİZ YAPISI

Prof. Dr. İlhan SEZGİN

Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.B.D, 58140-SİVAS

Geçen her gün Y-kromozomu üzerindeki gen ve gen aileleri belirlenerek bunların erkek bireylerde testisin oluşumunda ve spermatogenezis sürecinin her safhasında etkili olduğu gösterilmiştir. Henüz Y-kromozomu üzerinde gen ve gen kümelerinin etkinliği hakkında çalışmalar devam ederken; Yp kolunda SRY geni ve onun üzerinde TDF geni ve Yq kolunda AZFa, b ve c gen kümeleri (clusters) ve bunlara aday genler saptanmıştır. Örneğin AZFb'de en etkin gen RBMY (RNA binding motif on the Y), AZFc'de DAZ (deletion azoospermia faktör) gen ailesi, CDY1 (chromodomain Y1), AZFa gen ailesine ait USP9Y (ubiquitin-specific protease 9, Y chromosome) ve bunlara benzer diğer genler gibi Y kromozomu üzerinde olup X-kromozom ile homolog olan pseudotozomal bölgeler gösterilmiş ve bunlar arasında krosingover olduğu saptanmıştır. Özellikle Yp'de ki pseudotozomal bölgenin Xp'de pseudotozomal bölge ile birlikte eşleştiği saptanmıştır. Böylece krosingover sırasında normalin dışında parça değişimin olduğundan 46,XX erkeklerin oluştuğu ve fakat bunlar Y-kromozom q kolundaki genleri taşınmadığı görülmüştür. Bu durumda spermatogenezis sürecinde yetmezlikler görüldüğü ve dolayısıyla oligoospermia, azoospermia gelişebildiği infertile 46,XX erkekler görülmüştür. 46,XY dışı bireylerde SRY dolayısıyla TDF geni mutasyona, delasyona uğradığı ve bu yüzden bu tür dışı bireylerdeki klinik bulguların Turner Sendromuna uyduğu saptanmıştır. Y-kromozomu üzerinde bir çok gen sadece son zamanlarda belirlenmiştir. Yeni (novel) gen dizisi tamamlandıkça kesin tanım yapılabilir. Şimdiye kadar 30'dan fazla gen veya gen ailesi (gen clusters) bilinmektedir.

Y-kromozomu üzerindeki genler üç grubu ayrılabilir.

- 1- Pseudotozomal genler (ASMTL, MIC2 ve IL9R olarak) Y ve X kromozonlarında aynıdır, nadir hallerde farklı dokularda ifade edilmektedirler.

- 2- NRY (non-recombination Y) X ve Y-kromozomlarında homolog bölgelerde lokalize olmuş genler (örneğin USP9Y, DBY ve UTY) bunlarda çok yüksek aminoasit kimliği olan proteinler üretirler. X-kromozomu üzerinde kodlanmışlardır. Bu genler her zaman (ubiquitous) transkribe olurlar ve buna ilave olarak testise özgü transkripsiyona sahip türler.
- 3- Y spesifik gen aileleri (DAZ, CDY ve TSPY gibi); bunlar çok kopyalı ve Y-kromozomu üzerinde geniş olarak dağılmış veya küçük bir bölgeye kümelenmişlerdir.

Y ve X kromozomu distal uçları pseudootozomal genlerden oluşurken, Yp ve Yq'da geniş bir alan ökromatin bölge olarak bilinmektedir. Yq'nin uzun distal kısmında heterokromatin bölge olduğu görülmüştür. Bu bölge polimorfizm göstermektedir. Bu bölge Yq'nun 0.5/3 veya 2/3'unu işgal etmektedir. Ökromatin bölge Yq11'den başlar Yq11.1, Yq11.2, Yq11.22, Yq11.23 kadar devam etmektedir. Heterokromatin distal bölge ise Yq12'den itibaren ifade bulmaktadır. Y kromozomu Vergnaud tarafından 7 interval bölünürken, Vollrath tarafından 43 subinterval bölünmüştür. Böylece her gün yerleşeceği bölge gidecek daha iyi tanımlanan haritalamaya gidilmiştir.

Çeşitli nedenlerle meydana gelen Y-kromozom mikrodelsiyonları özellikle Yq11'den itibaren başlayan alanda, erkek germ hücrelerinde etkinliği saptanmıştır. Bu genler veya gen kümeleri "azoospermik faktör" olarak tanımlandı. AZF gen grupları ancak STS ve YAC temeline dayanan haritaların geliştirilmesiyle lokusları belirlendi. Bu analizler STS-PCR veya Southern hibridizasyon ile araştırılabilir ve sitogenetik seviyede görülemeyen intesiyel mikrodelsiyonları incelememize yardım etmiştir. Bu mikrodelsiyon analizleri spermatogenezis için (infertil erkeklerde) Yq'de 5 ve 6 intervalinde üç ayrı gen kümesi bölgesinin haritalanmasına yardımcı oldu. Bu spermatogenezis lokusları AZFa, AZFb ve AZFc Yq üzerinde proksimaldan distale doğru adlandırıldı. Hatta henüz teyid edilemeyen AZFd dördüncü bölgesi AZFb ve AZFc arasında olması önerilmiştir.

Vogt ve ark. AZFa interval 5'in (subinterval 5C) proksimal bölgesine yerleştirildi. AZFb alanı ise interval 5'in distal kısmından interval 6'nın proksimal

kısmına lokalize edildi (5O-6B), AZFc ise interval 6'nın distal kısmına yerleştirildi (subinterval 6C-6E). Böylece, AZF bölgesinde bir çok gen yerleşmiştir ve bunlar testis'te kendini ifade etmektedirler. Bu yüzden "AZF Aday Genleri" olarak adlandırıldılar. Bugün infertil hastalarda sadece birkaç genin AZF fenotipi için sorumlu olduğu düşünülmektedir. İlk kez 1993 yılında AZF aday genleri arasından AZFb bölgesi bulundu. İki yıl sonra AZF aday genlerin bir gruba AZFc için izole edildiler. Delasyonların genişletilmesi ile kaybolan genler belirlendi. Örneğin geniş delasyon bloku şu genleri içerdi SMCY-XKRY-CDY2 ve diğer bir blok delasyon PRY-TTY2 genleri idi.

Bu gün için iki gen subinterval 5O-6B'de haritalandı: EIF1AY (essential translation-initiation factor 1A, Y isorform) ve RBMY (RNA binding motif Y). EIF1AY genin bir eIF1AY isoformu Y üzerinde kodlandı. Bir EIF1AY (essential translation-initiation factor) genin bir homologue X-kromozomunda bulundu ve her zaman kendine ifade eden (ubiquitous) gen olarak değerlendirildi. Bu genin her zaman kendini ifade etmesine ek olarak testise özgü transkripsiyon gen olarak düşünülmeyi (ancak o bölgede lokalize edildi). Ancak bu genin spermatogenezisteki rolü tam olarak bilinmiyor ve de bu gene ait spesifik delasyon henüz rapor edilmemiştir.

AZF Aday Genleri arasında rapor edilen genlerden biri RBMYdir. Bu gen interval 6'nın proksimal bölgesindeki bir delasyonla hasta DNA'sı kullanılarak klonlandı. Başlangıçta YRRMI geni olarak adlandırılan genin sonraki AZFb üzerinde "RBMY gen ailesi" olarak adı değiştirildi Y-kromozom üzerine bir çok kopyaları içeren en azında 6 alt aile gen grubu bulundu. Bunlar arasında RBMY-1 ise aktif transkribe olan gendir. Bir çok fonksiyonel kopyası interval 6'da lokalize edildi. Bu AZFb gen ailesinin ana aday genidir. Bu geniş homologue X-kromozomu üzerinde bulundu ve geniş fonksiyon gördüğü saptandı. Ancak Y-kromozomu üzerindeki RBMY geni ise erkek spermatogenezisinde rol oynamaktadır.

RBMY protein RRM (RNA recognition motif)'nin tek RNA binding alan içerir. N ucunda, yardımcı C ucuna doğru 4 çeşit amino asit (serin, arginin, glycin, tyrosin) tekrarı ile 37 amino asit içermektedir. Bu alan (blok) SRGY kutusu olarak bilinmektedir. Bu gen 12 exon ve 37 residue tekrarlı tek exonları içermektedir (ekson 7-10). Onların nükleotid dizileri arasında %85 benzerlik görülmektedir. RBMY genleri

testiste spermatogeneziste (germ line) rol almaktadır (spermatogonia, spermatocytler, ve yuvarlak spermatidler) ancak germ hücre serisi gelişimindeki rolü henüz açık değildir.

DAZ geni her nasılsa RBMY geni ile benzerlik göstermektedir. DAZ'da tek RNA bağlanması alanı (domain) bir protein kodlanmaktadır. Aşağı yukarı 42-kb olan DAZ transkripsiyon unitinde 16 exonu vardır. Exon-1 başlama kodunu içerirken, exon 7a-7g ise tek DAZ tekrarlarını içermektedir. DAZ'ın transkripsiyon sayısı belli değildir. Ancak RT-PCR çalışmaları taşıyıcı her birinde iki veya daha fazla DAZ transkripsiyonun içermektedir. DAZ transkriptleri alternatif splicing veya farklı DAZ genleri vasıtası ile aynı genden meydana gelmişlerdir. RBMY geni gibi DAZ geninde de transkripsiyon ve translasyonları yalnızca erkek germ hücrelerinde olmaktadır. DAZ geni bugüne kadar sadece insan, eski dünya maymunları ve şempanzelerinin Y-kromozomunda bulunmuştur. Diğer memelilerde tek gen olarak 3p24'te lokalize olan DAZL1 geni, DAZ genin homologudur. DAZL1'in Y-kromozomu üzerine transpoze olmuş, 2.4-kb'lik genomik dizisinde 7 ve 8 eksonların ard arda tekrarı ile ve tüm transkripsiyon unitesinin amplifiye olması ile çok kopyalı gen ailesini meydana getirdiği şeklinde yorumlanmaktadır.

DAZ Yq'nun distalinde interval 6'da yerleşmiş tek gen değildir. Onun infertil erkeklerdeki yüksek delasyon prevalansı onu AZFc'ye aday yapmıştır. Bu ihtimal Drosophila infertil erkek genleri ile homolog olması ve mutasyon sonucu spermatogenezis'in durması ile kuvvetlendirilmiştir. Daha ileri bir çalışma olarak steril farelerde DAZ'ın transgen homologu olan DAZL yerine DAZ verildiğinde bir kısmının fertil olduğu görülmüştür. Yine bu bölgede bulunan CDY1 (chromodomainY1), BPY2 (basic protein Y2), PRY (PTA-BL related Y) ve TTY2 (testis transcriptY2) gibi genleri tam fonksiyonu bilinmemekte birlikte kendilerin sadece testiste ifade ettikleri bilinmektedir.

Son zamanlarda AZFa bölgesinin yapısı ve gen yapısı tasvir edilmiştir. Bu bölgede USP9Y (ubiquitin spesifik protease 9 Y chromosome) geni AZF aday genleri olan DAZ ve RBMY genlerinden oldukça farklılık göstermektedir. Bu genin RNA bağlama protein için kodunu yoktur. Fakat C terminalinde ubiquitous hidrolazı olarak fonksiyon görmektedir. Bu bölge üç gen içermektedir ve fare Y-kromozomu kısa kolundaki SXRb intervalı ile uyumlu bir homologudur. Bu intervalin delasyonu şiddetli

spermatogenezis yetmezliğe sebep olmaktadır. Bu bulgular AZFa delasyonlu hastalarda rastlanan bulgulara benzerdir.

USP9Y tek kopya gendir ve onun X-kromozomu üzerinde homologu X-inaktivasyonundan kaçmaktadır. Gen kendini her zaman testise özgü oluşundan ziyade dokuların geniş bir oranında ifade etmektedir. USP9Y'den meydana gelen dokuz kalıcı peptid graft rejeksiyonu ile ilgili HLA-A1 tarafından sunulan bir yeni minor histokompatibilite antijeni (H-Y antijen) temsil ettiği görünmektedir. USP9Y geni AZFa'nın yarından daha azını işgal etmektedir. AZFa delasyonlarını taşıyan infertil erkeklerde tüm intervalin yokluğu gösterilmiştir. Bu bulgular, bu bölgede diğer genlerin ya tek olarak yada USP9Y geni ile kombine olarak AZFa delasyonlu hastalarda gözlenen spermatogenik bozukluk için sorumlu olabileceğini önermektedir.

Gerçekte kıyaslama yoluyla haritalama çalışmaları gösteriyor ki hem Sxrb intervalda hemde AZFa'da iki tane daha X-homolog gen vardır. Bunlar spermatogeneziste rol oynadığı ihtimali taşınmaktadırlar: DBY (dead box on the Y) ve UTY (ubiquitous TPR motif on the Y) genleri olarak. Son zamanlarda bu bölgede yeni ifade edilen gen dizisi haritalanmıştır (AZFaT1). Bütün böyle genler her zaman ve her yerde (ubiquitously) kendini ifade etmektedirler. Bu özellik fare homologlarından farklılık göstermektedir. Fare Dby bir çok dokuda kendini ifade etmektedir ve Dffry geni testise özgüdür. Açıkça AZFa'ya sınırlı olan delasyonlu hastaların üzerinde USP9Y veya AZFaT1'in yetmezliği veya her ikisi erkek infertilitesine sebep olduğu önerilmektedir. İlave DBY genin delasyonu fenotipi daha da kötüleştirir. USP9Y'nin spermatogenezis geni olduğu hakkında anlamlı kanıtlar rapor edilmiştir çünkü bir azoospermik erkekte kesilmiş proteine yol açan 4-bp delasyonu keşfedilmiştir. İnterval 5C/D'de delasyonu olan infertil hastalarda ifade analizi ve kapsamlı delasyon AZFa'nın ayrıntılı haritası yapmak ve bu bölgede ana spermatogenezis genini temsil eden DBY genini göstermek bize fırsat vermiştir.

DBY, USP9Y'den daha sık delasyona uğramaktadır. Bu genler her zaman (ubiquitous) transkripsiyona ilave olarak testise özgü transkripsiyonlar göstermektedirler. DBY geninin insan spermatogenezisinde rolünü fare protein PL10 ile anlamlı homoloji göstermesi nedeniyle daha da desteklemiştir. Bu homoloji testise özgüdür yalnızca germ hücrelerinde ifade bulmaktadır. DBY geni 17 exondan

oluşmaktadır. ATP'ye bağlı RNA halikazı kodlar. Çünkü bu gen dead box proteine aittir. Ancak bu genin (DBY geni) erkek germ hücre gelişmesine özgü fonksiyonu bilinmemektedir. AZF Aday Genlerin DAZ, RBMY, USP9Y ve DBY karakteristiklerini mukayesesi tablo-1'de görülmektedir.

Tablo-1:

AZF Aday Genleri olan DAZ, RBMY, USP9Y ve DBY'nin karakteristikler Mukayesesi (Foresta, C., Moro, E., Ferlin, A.: Y Chromosome Microdeletions and Alterations of Spermatogenesis, Endocrine Reviews 22(2): 226-239, 2001.)

	DAZ	RBMY	USP9Y	DBY
Lokalizasyon	Yq (AZFc)	Yp ve Yq. AZFb'de fonksiyonel kopyası var.	Yq (AZFa)	Yq (AZFa)
Gen Organizasyonu	Gen ailesi (kümesi)	Gen ailesi (20-50 gen ve pseudotozomal genler hemen hemen 6 altı alt aileye ait olarak)	Tek gen	Tek gen
Gen Yapısı	16 exon (Exon 7'nin çoklu kopyalarını içererek) DAZ çeşitli sayı ve sırada kendini tekrarlar (her biri 72 bp)	12 Exon SRGY kutuları (her biri 111 bp)	46 Exon	17 Exon
İfadesi	Testise özgü gen (germ hücreleri)	Testis özgü (spermatogonia, spermatosit, yuvarlak spermatidler)	Ubiquitous	Ubiquitous'a ve testise özgü transkriptler
Protein	RNA'ya bağlı	RNA'ya bağlı	Ubiquitin hidrolase	RNA helicase

Y kromozomu üzerinde PCR markıları kullanılarak haritalama yapılmaya başlamıştır. PCR markıları STSler (sequence-tagged sites) olarak bilinmektedir. 300'den fazla STSler fizik olarak haritalandı. Her STS incelenmesinde genomik DNA dizisi olarak bilinmektedir. STS markıları üç kategoriye bölünmektedir.

- 1- Tek kopyalı olan markıları; örneğin SRY, USP9Y, DBY veya UTY genleri gibi bunlar STSler spesifitesi için bilgi vericidir, yokluğunda spesifik gen kaybını göstermektedir.
- 2- Y-kromozomunu küçük bölgesinde kümeleşen çok kopyalı markılar örneğin DAZ gen ailesi gibi, gen ailesinin tüm üyelerinin kaybı negatif PCR ile sonuçlanmaktadır.

3- Y-kromozomunun geniş bölgesi boyunca yazıla çakdu kopyaları olan markırlar ki

Bunlar RBMY, CDY, TSPY veya kromozom üzerinde geniş olarak dağılmış diğır gen aileleridir.

İnfertil erkeklerde özellikle oligospermia veya hipospermia olgularında ICSI (intracytoplasmic sperm injection) tekniğı kullanılarak yapılan dölenmelerde Yq microdelasyonlarından kaçmak her zaman olası değildir. Spermatogenezis sürecindeki yetmezlik testikulopathy olaylarında Y microdelasyonlarına ait giderek hipotezler üretilirken yapılan çalışmalar Y-kromozomu analizine, gen dizi haritalanmasına ve spermatogenezis üzerinde etkili gen ve gen ailelerini kesin ve kombine rolün bize açıklayacaktır. X-kromozomundan farklılaşarak gelişen Y-kromozomu sırlarının gen düzeyinde çözülmesi, kromozomal evrim için son derece önemlidir. Toplumsal çalışmalarda, adli olgularda değışim bölgelerinin korunması sebebiyle önemli gelişmelere yardımcı olacaktır.

*İnfertil bir erkekten alınan bir spermatozomda
46,XY, infertil olarak saptanmıştır.*

K-4:

OSTEOPOROZUN MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ

Dr. Belgin Süsleyici DUMAN

Kadir Has Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İSTANBUL

Osteoporoz, düşük kemik kütlesi ve kemik dokusunun mikroskopik ve ultrastrüktürel yapısının bozulması sonucunda kemik kırılabilirliğinin artması ile karakterize bir hastalıktır. Kırık ve deformite tarzında komplikasyonların ortaya çıkmadığı dönemde osteoporoz bir belirti vermez. Düşük kemik kütlesi ile karakterize ve kırksız bu dönem osteopeni olarak adlandırılır ⁽¹⁾. Osteoporoz tanımları, Dünya Sağlık Örgütü tarafından kemik mineral yoğunluğu veya kemik mineral içeriğinin ölçümlerine dayandırılır. Dual Enerji X-Ray Absorbsiyometre (DEXA) yöntemi kullanılarak elde edilen kemik mineral yoğunluğu (KMY) veya kemik mineral içeriği (KMI) değerlerine veya kırık varlığına göre yapılan bu tanımlar aşağıda belirtilmiştir. Genç erişkine kıyasla kemik mineral yoğunluğunun 1 standard sapmanın (SD) altında olması normal, -1.0 SD ile -2.5 SD arasında olması osteopeni, -2.5 SD'dan fazla olması osteoporoz, KMY'nun -2.5 SD'nin üstünde olması ve ayrıca bir veya daha fazla sayıda kırık olması ise yerleşmiş osteoporoz olarak tanımlanır ⁽²⁾. Kişide herhangi bir sebeple meydana gelen kemik kaybı yerleşim açısından çoğunlukla homojenite göstermez. Pekçok insan kendiliğinden veya bir travma sonucu femur başı, omurga, kaburga ve bilek kemikleri kırıkları ile karşılaşana kadar osteoporozlu olduğunun farkında değildir, ancak kemik mineral yoğunluğu'nun ileri ölçüde azaldığı bölgelere özgü, kişiyi canından bezdiren ağrılar hem yaşam kalitesini bozar hem de işgücünü düşürür. Bu aşamaya gelindiğinde ise hastalığın tedavisi pahalı ve zordur. Böylece yaşam kalitesi üzerine etkili olan osteoporozun önlenmesi için kemik mineral yoğunluğunu etkileyen faktörleri bilmek ve bu konuda toplumu eğitmek osteoporozun önlenmesini büyük ölçüde sağlayacaktır. Osteoporoz riskini belirleyen faktörler arasında cinsiyet, yaş, fiziksel aktivite, ırk, sigara ve alkol kullanımı, beslenme, hormonal etkiler, gebelik, farmakolojik sebepler, endokrin hastalıklar ve genetik özellikler yer alır.

Erkeklerin iskeletlerinin daha büyük olması, doruk kemik kütlelerinin (peak bone mass) kadınlara kıyasla fazla olması, hızlı hormon değişimi sürecinin olmaması ve kemik kaybının daha geç başlamasından dolayı osteoporoz erkeklerde kadınlara kıyasla daha seyrek görülür.

Osteoporoz genelde ileri yaşlarda görülür ve kadınlar arasında menapozdan sonra yaygın olarak rastlanır. Fiziksel aktivitenin doruk kemik kütlesine pozitif etkileri bulunmaktadır. Sigara içimi ile kemik yoğunluğunun azalması arasında direkt bir ilişki vardır. Bunun yanı sıra sigara kullanımının anti-östrojenik etkileri de unutulmamalıdır. Beslenme koşulları da osteoporoz riski üzerine direkt etkili olabilmektedir. Şöyle ki, vejeteryan ve düşük yağ içeren diyetler osteoporoz riskini azaltırken, kafein, fazla protein alımı, şeker, tuz kullanımı ve karbonatlı içecekler kemik kaybının artmasına yardımcı olur.

Kemik metabolizmasında fonksiyon gören hormonların fazlalığı veya eksikliği osteoporozu yol açmaktadır. Gebelikle ilgili ortaya çıkan osteoporozun, annenin idrarla kalsiyum kaybetmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Gebelikteki osteoporozun kadında önceden mevcut koşullara bağlı olarak mı yoksa gebelik sonucunda mı oluştuğu kesin olarak bilinmemektedir. Osteoporozun farmakolojik nedenleri arasında uzun süreli kortikosteroid kullanımı, immünosupresif ilaçlar, antikonvülsan ilaçlar yer almaktadır. Osteoporoz oluşumuna neden olan hastalıklar arasında hiperparatiroidizm, böbrek hastalığı, hipertiroidi, otoimmün kökenli olanlar sayılabilir. Etnik farklılıkların kemik yoğunluğu ve osteoporoz riski üzerinde etkili olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir. Asya'lı ve beyaz kadınlar Afrika'lı ve Amerika'lılara oranla osteoporozu daha fazla eğilimlidirler⁽³⁾. Benzer diyetle beslenmelerine rağmen siyah ırk insanların idrarlarındaki kalsiyum miktarının beyaz ırk insanına göre daha düşük olduğunun tespiti, bu ırkın kemik dokusunda artmış kalsiyum düzeyini açıklar⁽⁴⁾.

Osteoporoz risk faktörleri arasında yer alan genetik özelliklere gelince, bunlar, son yıllarda moleküler genetik ve moleküler biyoloji alanında kaydedilen gelişmelerle giderek daha iyi anlaşılmaktadır. Osteoporozun kalıtsal geçişinde pek çok faktör etken olabilir. Soygeçmişlerinde osteoporoz hikâyesi olup belirgin çevresel riskler taşımayan kişilerin genetik yatkınlığı olduğu düşünülür. İkizler üzerinde yapılan çalışmalar, genetik faktörlerin çevresel faktörlerden ayırd edilmesi açısından önem taşır.

Osteoporozun genetik temellerinin araştırılması sırasında, kemiğin şekillenmesi ve kaybı ile ilişkili pek çok gen ürününün fonksiyon gördüğü poligenik bir hastalık olduğu görüşü ağırlık kazanmıştır. Osteoporozda kemik kütlesinin genetik olarak belirlenmesinde rol aldığı düşünülen aday gen lokusları Tablo 1’de görüldüğü gibi, Vitamin D reseptör 3’ ucu, Vitamin D reseptör başlangıç kodonu, östrojen reseptörü, paratiroid hormonu, glukokortikoid reseptör ekson 2, kalsitonin reseptör ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I)’dür.

Tablo 1. Kemik kütlesi ile ilişkili aday gen lokusları ve sık rastlanan allelik polimorfizmlerinin frekansları ⁽¹⁾

Gen lokusu	Marker	Genotip frekansı	
		Caucasian	Asyalı
Vitamin D reseptör 3’ ucu	BsmI	BB 18%, Bb 46%, bb 36%	BB1-2%, Bb 21%, bb 77%
	TaqI	TT 36%, Tt 48%, tt 16%	TT 78%, Tt 21%, tt 1%
	Apal	AA 24%, Aa 46%, aa 28%	AA 9%, Aa 48%, aa 43%
Vitamin D reseptör başlangıç kodonu	FokI	FF 36%, Ff 49%, ff 15%	FF 33%, Ff 53%, ff 14%
	PvuII	PP 18%, Pp 53%, pp 29%	PP 18%, Pp 52%, pp 30%
	XbaI	XX 10%, Xx 48%, xx 42%	XX 5%, Xx 31%, xx 64%
Paratiroid hormonu	BstBI	Tespit edilmemiş	BB 82%, Bb 17%, bb 1%
Glukokortikoid reseptör ekson 2	A ¹²²⁰ -G*	Heterozigot 6%	Tespit edilmemiş
Kalsitonin reseptör	C ⁴⁴⁷ -T*	RR 49%, Rr 44%, rr 7%	Tespit edilmemiş
	TaqI	TT 11%, Tt 50%, tt 39%	Tespit edilmemiş
IGF-I	CA tekrarı	Tespit edilmemiş	(6 genotip)

* dizi varyasyonu

Polimorfik lokuslar taşıyan pekçok aday gen arasında KMY'nu etkilediği ilk olarak gösterilen ⁽⁵⁾ gen lokusu; BsmI, Taq I, ApaI alleleri bulunan Vitamin D reseptör 3' ucu'dur.

Bu gen polimorfizmleri kemik mineral yoğunluğundaki azalmanın %60'ını teşkil etmekte ve kalsiyum emilimini etkilemektedir ^(6, 7, 8). Özellikle B, A ve t allelleri daha düşük KMY'larına sebep olarak osteoporoz riskini arttırmaktadır. Vitamin D reseptör proteini transkripsiyon düzenleyici faktörler arasında bulunur ve 1,25-dihidroksi vitamin D3'ün biyolojik etkilerini düzenler. VDR geni 12q12-14'de lokalize olmaktadır. Bu gen içerisinde yer alan allelik varyasyonların kemik mineral yoğunluğu ve metabolik parametreleri üzerine etki ettiği yapılan çalışmalar ile gösterilmiş olmakla birlikte bunu her zaman saptamak mümkün olamamaktadır. Nitekim Finlandiyalı premenapozlu kadınlar ⁽⁹⁾ ve Koreli osteoporotik kadınlar ⁽¹⁰⁾ üzerinde yapılan çalışmalarda vitamin D reseptör polimorfizmi ile KMY arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır.

Türk toplumundaki bireyler üzerinde yapılmış olan çalışmalar vitamin D reseptör gen polimorfizmlerinin osteoporoz riski ile bağlantılı olup olmadığı sorusuna açıklık getirmekteyse de, bunlar sağlıklı genç bireylerde ⁽¹¹⁾ ve idiyopatik hipogonadotropik hipogonadizimli erkekler üzerinde ⁽¹²⁾ yapılmıştır. Buna karşılık biz İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda, istatistiki değerlendirmeye yetecek sayıda hasta ve kontrol grubunun sağlanması ve klinik değerlendirmeleri ile İ.Ü Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı'nın desteği ile bir çalışma gerçekleştirdik. Bana bu konuda çalışma imkânını sağlayan ve yetişmemde büyük etkileri olan sevgili hocam sayın Prof.Dr.Selma Yılmaz'ın ve klinik değerlendirmeleri yaparak hasta kan örneklerini istifademize sunan Sayın Prof.Dr.Refik Tanakol'a şükranlarımı sunarım. Bu çalışmamızda osteoporozlu ve sağlam postmenapozlu kadınlar üzerinde Vitamin D reseptör 3' uç gen lokusunda TaqI, ApaI ve BsmI polimorfizmlerinin KMY ve kemik mineral metabolizması parametreleri üzerine etkilerini tespit ettik. Bu çalışmamızın dikkat çekecek bulgularından bazıları arasında aşağıda belirttiğim hususlar dikkate değer. ApaI Taq I ve BsmI genotiplerinin frekansları saptanmış olup en sıklıkla rastlanan genotiplerin heterozigotlar (Aa, Bb, Tt) olduğu bulunmuştur. Elde ettiğimiz

sonuçların Türk insanında yapılacak VDR genotipi osteoporoz ilişkisi için önemli bir veri tabanı teşkil ettiği düşüncesindeyiz. Çalışmamızın ayrıntılarına konferans esnasında değineceğim.

Östrojen reseptör (ER) geninin PvuII ve XbaI restriksiyon parça uzunluk polimorfizmlerinin KMY üzerine etkili olduğunu bildiren çalışmalar yanında ⁽¹³⁾ aksine bulgular sunan araştırmalar da ⁽¹⁴⁾ mevcuttur. IGF-I geni kemik kütlesini etkilediği öne sürülen son aday genlerden biridir. IGF-I geni'nin promotör bölgesi yakınlarında yer ala CA tekrarlarının sayısına göre tespit edilen alleller üzerinde yapılmış çalışmalar çok sınırlı sayıdadır. 192 CA tekrarı ile karakterize IGF-I mikrosatellitinin spesifik bir allelinin homozigotluğu idiyopatik osteoporozlu erkeklerde düşük IGF-I düzeyleri ve femur boynu KMY'ları ile korele bulunmuştur ⁽¹⁵⁾, ancak bu sonuçlar diğer araştırmacılar tarafından konfirme edilmemiştir ^(16, 17). Kalsitonin reseptör geninin C-terminal bölgesinde amino asit değişikliğine yol açan allelik varyantın KMY'nu düşürdüğü rapor edilmiştir ⁽¹⁸⁾. PTH geni'nin intronik polimorfizminin daha yüksek omurga KMY değerlerine eşlik ettiği bulunmuştur ⁽¹⁹⁾. Kemığın önemli proteinlerinden biri olan tip I kollajen, COLIA1 VE COLIA2 genleri tarafından kodlanır. Bu gen mutasyonları osteogenesis imperfekta'ya neden olmaktadır ⁽²⁰⁾. COLIA1'de G/T heterozigotların (Ss) G/G homozigotlara (SS) göre daha düşük kemik yoğunluğuna neden olduğu gösterilmiştir ⁽²¹⁾. Osteogenesis imperfekta (OI) ve osteoporoz arasındaki fenotip benzerliği, tip I kollajen genlerinin ailesel osteoporozda rol alabileceğini düşündürmektedir. Grant ve arkadaşları, lomber bölgede düşük kemik yoğunluğu bulunanlarda timidin yerine guanozin'in yer aldığı bir tip I kollajen polimorfizmi tanımlamıştır ⁽²²⁾. Osteoporozun muhtemel son bir aday geni ise androjen reseptör geni'dir. Bu lokusdaki (AGC)_n VNTR tekrarlarının femur boynu lomber vertebredaki KMY ölçümleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır ⁽²³⁾.

Erkeklerde androjenlerin kemik kütlesinin belirlenmesine olan katkıları ile ilgili bilgilere kadınlarınkilerin de eklenmesi androjen reseptör geni ile ilgili çalışmalara olan ilgiyi arttırmış ve ivme kazandırmıştır.

Sonuç olarak, kemik mineral yoğunluğu ve mineral metabolizma parametreleri üzerine etki eden genetik faktörler fonksiyonları ile birlikte araştırılıp ortaya konmaya devam etmektedir. Osteoporozdan sorumlu gen lokuslarının bulunması ile erken tanı

mümkün olabilecek ve koruyucu önlemler alınabilecektir. Pek yakın bir gelecekte bahsi geçen gen hatalarının tedavisinin genetiğin önemli bir alanını oluşturacağından şüphe edilmemelidir.

Kaynaklar:

- 1- Rizzoli R, Bonjour JP, Ferrari SL. Osteoporosis, genetics and hormones. *Journal of Molecular Endocrinology* 26:79-94, 2001
- 2- World Health Organization: Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1994
- 3- Gilsanz V, Roe TF, Mora S, Costin G, Goodman WG. Changes in vertebral bone density in black girls and white girls during childhood and puberty. *New England Journal of Medicine* 325 (23): 1597-1600, 1991
- 4- Anderson JJ, Pollitzer WS. Ethnic and genetic differences in susceptibility to osteoporotic fractures. *Adv Nutr Res* 9:129-49, 1994
- 5- Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 367:284-7, 1994
- 6- Zmuda JM, Cauley JA, Danielson ME, Wolf RL, Ferrell RE. Vitamin D receptor gene polymorphisms, bone turnover, and rates of bone loss in older African-American women. *J Bone Miner Res* 12(9):1446-52, 1997
- 7- Hustmyer FG, Peacock M, Hui S, Johnston CC, Christian J. Bone mineral density in relation to polymorphism of the vitamin D receptor gene locus. *J Clin Invest* 94:2130-34, 1994
- 8- Spector TD, Keen RW, Arden NK, Morrison NA, Major PJ, Nguyen T, et al. Influence of the vitamin D receptor genotype on bone mineral density in postmenopausal women: a twin study in Britain. *Br Med J* 310:1357-60, 1995
- 9- Kröger H, Mahonen A, Ryhanen S, et al. Vitamin D receptor genotypes and bone mineral density. *Lancet* 345:1238, 1995
- 10- Lim SK, Park YS, Park JM, Song YD, et al. Lack of association between vitamin D receptor genotypes and osteoporosis in Koreans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 80(12):3677-81, 1995
- 11- Dayangaç D, Özaydın E, Coşkun T, Hayat E. Sağlıklı Türk populasyonunda VDR gen polimorfizmi. VI Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi Özet kitabı. S.19. 2-5 Kasım 2000
- 12- Özışık G, Mergen H, Özata M, Bolu E, Beyhan Z, Uyanık C, Çağlayan S, Turan M, İlgin S, Öner R, Çorakçı A, Kutlu M, Özdemir İÇ, Cihan O. Vitamin D receptor gene polymorphisms and vertebral bone density in men with idiopathic hypogonadotrophic hypogonadism. *Journal of Endocrinological Investigation* Vol 23, Suppl 7, p 19 Abs no.32 2000
- 13- Kobayashi S, Inoue S, Hosoi T, Ouchi Y, Shiraki M, Orimo H. Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene. *Journal of Bone and Mineral Research*. 11:306-11, 1996
- 14- Han KO, Moon G, Kang YS, Chung HY, Min HK, Han IK. Nonassociation of estrogen receptor genotypes with bone mineral density and estrogen responsiveness to hormone replacement therapy in Korean postmenopausal women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 82:991-95, 1997

- 15- Rosen CJ, Kurland ES, Vereault D, et al Association between serum insulin growth factor I and a simple sequence repeat in IGF-I gene: implications for genetic studies of bone mineral density. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 83:2286-90, 1998
- 16- Rizzoli R, Ferrari S, Rosen C, Manen D, Bonjour JP. IGF-I gene 5' polymorphism influences serum IGF-I levels in relation to dietary calcium intake in healthy young males. *J Bone Miner Res* 15(Suppl 1) S364, 2000
- 17- Berg JP, Lehmann EH, Stakkestad JA, Haug E, Halse J. IGF-I gene microsatellite polymorphisms and serum levels of insulin like growth factor I, IGF-I-binding protein 3 and bone mineral density in young individuals. *Proceedings of the Annual Meeting of the Endocrine Society. Abs no. 1743, 2000*
- 18- Masi L, Becherini L, Colli E, et al. Polymorphisms of the calcitonin receptor gene are associated with bone mineral density in postmenopausal Italian women. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 248:190-5, 1998
- 19- Hosoi T, Miyao M, Inoue S, et al. Association study of parathyroid hormone gene polymorphism and bone mineral density in Japanese postmenopausal women. *Calcified Tissue International*. 64:205-8, 1999
- 20- Spotila L, Colige A, Sereda A, Deltas C. Mutation analysis of coding sequences for type I procollagen in individuals with low bone density. *J Bone and Mineral Research*. 9:923-32, 1994
- 21- Grant SF, Reid DM, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston SH. Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in collagen type I alpha 1 gene. *Nat- Genet* 14:203-5, 1996
- 22- Grant SFA, Reid DA, Ralston SH. Osteoporotic fracture and reduced bone density related to a polymorphism in the transcriptional control region of the collagen type alpha 1 gene. 17th annual meeting of the American Society for bone and mineral research. Baltimore, s165, 1995
- 23- Sowers M, Willing M, Burns T et al. Genetic markers, bone mineral density, and serum osteocalcin levels. *J Bone Miner Res* 14:1411-19, 1999

K-5:

KAN GRUPLARININ MOLEKÜLER YAPISI

Ahmet COLAK

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD 58140-SIVAS

ÖZET

Kan grupları adli tıp, klinik (transfüzyon) ve genetik yönden büyük önem taşımaktadır. Biz daha çok kan gruplarının genetiği ve moleküler yapısı üzerinde durarak, bu konu hakkında yapılmış son yıllardaki çalışmaları da aktararak, konuyu yeniden gözden geçirmeye (review) çalışacağız. Günümüze kadar 500 den çok kan grubu saptanmıştır, ancak bunların başlıcaları ABO kan grubu, Rh kan grubu ve Diğer kan grubu sistemleri olmak üzere üç başlık altında toplanabilir.

ABO KAN GRUBU SİSTEMLERİ

Landsteiner 20.yüzyılın başlarında eritrositlerde A ve B antijenlerini bulmuş ve A,B ve O olmak üzere üç gruptan oluşan ilk kan grubu sistemini açıklamıştır. Von Decastello ve Struli'de kısa bir süre sonra dördüncü grup olan AB'yi saptamışlardır. Brenstein 1924 yılında A, B ve O'dan oluşan üç allel geni tanımlamış, bunlardan A ve B alleleri dominant ve O alleleri resessiftir ve anne-babadan herbirinden bir gen aktarılacak suretiyle kalıtımın iki genle gerçekleştiğini ve bu genlerin de eritrositlerdeki ABO antijenlerinde bulunduğunu saptamıştır. O geni amorfik bir yapıdadır ve kalıtıma yanıt verecek antijeni yoktur. Thomson 1930 da kalıtımda dördüncü bir allelin var olduğunu ve allel genlerin A1, A2, B ve O biçiminde olduğunu belirtmiştir. A ve B genlerinin eritrosit ya da vücut sıvılarınca ekspresyonu sonucu bağımsız olarak Hh, Sese ile A ve B genleri olarak kalıtılır. ABO genleri 9 nolu kromozomun uzun kolu (9q34) üzerinde bulunmakta ve A ve B genlerinin kodominant özelliği ile birlikte kalıtımda Mendel kurallarını izler. A ve B antijenleri yeni doğmuş bebekte tam olarak gelişmez, ancak doğumdan kısa bir süre sonra güç kazanır. O grubu insan ırklarında A ve B grubuna göre daha çok yaygındır ve almanca ohne (yok)' nin baş harfiyle ifade edilir. A, B ve H antijenleri lineer oligosakkaritlerin sadece bir terminal ucuna H ve sonra A ve B eklenmesiyle predominant bir yapı gösterirler. A ve B genleri eritrositlerdeki ekspresyonu sonucu kalıtılırlar, ancak H, A ve B antijenleri H, A ve B

genlerini doğrudan üretmezler. Her gen özel bir transferaz enziminin üretimiyle kodlanır ki prekürsör maddelerde verici bir substrattan bir monosakkarit molekülünün transferini katalizler. Amerika’da insanların aşağı-yukarı % 78 i suda çözünen H, H ve A ya da H ve B antijenleri salgılar. Tükürükte ve diğer vücut sıvılarındaki A, B ve H antijenleri bağımsız kalıtılan A, B ve H genleri bir sekretor gen tarafından kontrol edilir. Sekresyonda ABH antijenlerinin ekspresyonu için en az bir Se geni gereklidir. Se geni eritrositlerdeki A, B ve H antijenlerinin oluşumunu etkilemez, hemotopoitik dokuda A, B ya da H transferaz enzimlerinin varlığını da kontrol etmez. A ve B transferaz enzimleri karşılaştırıldığında A ya da B antijenlerine benzemez, sekretörün durumuna bakmayarak A1 ya da B bireylerin salgılarında bulunmuştur. A genini, α 1-3 N-asetilgalaktozaminil transferaz, B genini, α 1- galaktozil transferaz, AB genini de her iki transferaz enzimi birden , H genini, α -L -fukozil transferaz enzimleri üretirler. O grubunda ise A ve B grubundaki her iki enzim de yoktur. ABH antijenlerinin moleküler yapısı;

Prekürsör zincir: Cer-GALNAc-GAL-GLNAc-GAL

H antijeni : Cer-GALNAc-GAL-GLNAc-GAL

I
FUC

A antijeni : Cer-GALNAc-GAL-GLNAc-GAL-GALNAc

I
FUC

B antijeni : Cer-GALNAc-GAL-GLNAc-GAL-GAL

I
FUC

(Cer: seramid, GALNAc: N-asetilgalaktozamin, GLNAc: N-asetilglukozamin ve FUC: fukoz) biçimindedir.

A grubu antijenleri A1 ve A2 gibi iki alt gruba ayrılırlar. Populasyonların ortalama %78’i A1 , kalanların büyük çoğunluğunun A2 olduğu bildirilmiştir. A1 ve A2 arasındaki serolojik ayırım çeşitli antiserumlarla eritrositlerin reaksiyonlarına dayanır.

A antijeninin yaygın olmayan alt gruplarından kuvvetli olan A3 ile en zayıf olan Aend'e kadar devam eder.

B grubunun alt grupları ve varyantları A'nın subgruplarından daha azdır. B antijeni subgruplarının yoğunluğu bazı ırklarda fazladır. Örneğin Taivanın %24'ü gibi. Eritrositlerdeki ABH antijenlerinin ekspresyonu çeşitli faktörler tarafından değişebildiği, özellikle bazı AB'delerde A antijeni eksikliğine normal A1 ya da A2 transferaz enzimin rekabeti sonucu ve bir süperaktif B transferaz enziminin varlığının neden olduğu bildirilmektedir. Nadiren görülen Bombay Oh, A ya da B genlerini özellikle taşıyabilir, ancak bu genler H geninin ve eritrositik membrandaki H-bağlı yapıların eksikliği nedeniyle eritrositlerdeki A ya da B antijenleri gibi kendi kendilerini eksprese edemezler. Şiddetli enfeksiyonlarda O ya da B grubu bireylerde kazanılmış A örnekleri bildirilmiştir. Tn aktive edilmiş eritrositlerde kazanılmış A antijeninin varlığı da gösterilebilmektedir. Kazanılmış B benzeri antijenine kolon ya da rektum kanserlerinde, intestinal obstruksiyonlarda, gastrointestinal sistemin yoğun enfeksiyonlarında ve septisemide rastlanmaktadır. Eritrositler kalıtsal olarak ya da kazanılmış poliağlutinasyon üretir. T, Tn ve Cad olmak üzere üç tip poliağlutinasyon saptanmıştır. Zayıf A antijenine lösemide rastlanmış, B ve H antijenleride deprese edilmiş ancak bazı durumlarda A ya da B antijen düzeyinin düşmesine karşın eritrositlerde H antijen düzeyinin arttığı saptanmıştır.

İnsan anti H'sinin iki tipi vardır biri genellikle A1 ya da AB grubu bireylerin serumlarında görülen soğuk-reaksiyon tipi antikordur. Diğer tip ise eritrositlerinde H antijeni olmayan nadir görülen Oh (Bombay) fenotipidir. Zayıf ya da eksik antikor reaksiyonlarına depresyon ya da antikor üretiminin yokluğu neden olabilir. Yaş da dahil hipogamaglobülinemi, agamaglobülinemi ve kimerizm gibi şartlar eksik antikor reaksiyonları üretir. Beklenmeyen antikor reaksiyonlarına, soğuk otoantikorlar beklenmeyen izoaglutininler ve antikorlar rouleaux formasyonu (eritrosir agregasyonu) neden olabilir.

Rh KAN GRUBU SİSTEMLERİ

Rh kan grubu sistemi 1940 yılında Landsteiner ve Weiner tarafından bulunmuş ve en az 40-45 antijen içerdiği saptanmıştır. Rhesus maymunlarında saptanan antijen D

ve antikor D insan eritrositlerinde de saptanmıştır. Antijen taşıyanlar Rh+, taşımayanlar ise Rh- olarak değerlendirilir. İnsanların %85'i Rh+ ve %25'i Rh- yapıdadır. Rh kan grubunu belirleyen genler 1 nolu kromozomun kısa kolu (1p34-36) üzerine lokalizedir ve otozomal dominant kalıtılır. Rh+ kan grubu iki polipeptit zincirine sahipken, Rh- kan grubu ise crossing-over esnasındaki delesyon nedeniyle bir polipeptit zincirine sahiptir. Rh antijenleri protein yapısında olup, tek gen üzerinden sentezlenir. Rh sistemine ait D, C, E, c ve e olmak üzere 5 temel gen bulunmaktadır (Fisher-Race ve Wiener teorileri). En yaygın allel gen çifti C/c ile E/e biçimindedir. CDE ve Rh+/rh- sistemleri farklı adlandırma şekilleri olup CDE sistemi en sık kullanılanıdır. Rutin testlerde anti-D kullanılır, ancak laboratuvarlarda 5 antiserum bulunur ve bu reaksiyonlar Rh fenotiplerini temsil eder. Rh gen bölgeleri genotipik çeşitlilik gösterir ve bu genlerden sentezlenen antijen sayısı 10 bin - 33.500 arasında değişir. Laboratuvarlarda Rh kan grubu analizinde anti-D antiserumuyla zayıf reaktivite saptanırsa bu durum zayıf D (Du) olarak gösterilir. D+ hücrelerde bir ya da birkaç bileşen eksikse, bazıları anti-D serumuyla pozitif reaksiyon, bazıları da anti-D ile zayıf reaktivite gösterirler ve bu durum D-mozaik ya da D varyant olarak tanımlanır. Günümüzde ise bu durum parsiyal -D olarak adlandırılır. Rh antijenlerinin popülasyonlardaki frekansları ırklara göre çeşitlilik gösterir. Eritrosit hücre membranlarında hiç Rh antijeni sentezlenmezse bu durum Rh- null, bir kısım gen ifade edilirse Rh- mod olarak adlandırılır. Bu durumda membran bozuklukları gözlenir ve eritrositlerin ömrünün azaldığı belirlenmiştir. Bu durum toplam 14 farklı aileye ait 43 kişide saptanmıştır. Rh gen delesyonları D - - olarak gösterili ve D ile G antijenlerini üretirler.

DiĞER KAN GRUBU SİSTEMLERİ

Diğer kan gruplarına birden fazla kan grubu dahil edilmektedir. En yaygın olarak kullanılanların başında; Lewis, MNS, Xg, Kell, Lutheran, Duffy, Kidd, Diego, Sid, Cad, Scianna, Colton, Cromer, Knops, Kx, P, I, Cartwright, Dombrock ve Gerbich gelmektedir. Bu kan grubuna bağlı olarak yaklaşık 300 adet farklı antijen bildirilmiştir. Bunlardan Xg ve Kell (Kx ve Ko) kan grupları sekse bağlı olarak geçen nadir kan grubu sistemleridir. Dombrock kan grubu sisteminde Do(a+) ve Do(b+) olmak üzere iki farklı antijen tipi bildirilmiştir. Beyaz ırkta bu antijen oranları %67 Do(a+) ve %83Do(b+) antijeni bulunurken, zencilerde, kızıladerililerde ve ortadoğu

populasyonlarında Do(a+) antijen frekansı daha düşüktür. Diego kan grubu antijeni Di-a şeklinde gösterilir ve ilk kez 1955 yılında tanımlanmıştır. Bütün beyaz populasyonların tamamı Di(-a) , Güney Amerika kıızılarılarında %36 oranında Di(a+) antijen frekansına sahip oldukları bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan moleküler çalışmalar sonunda Duffy kan grubunu belirleyen genlerin 1 nolu kromozom üzerinde (1q12-21), Kidd kan grubu genlerinin 2 nolu kromozom (2p), P kan grubunun 6 nolu kromozom, Lewis kan grubunun 19 nolu kromozom (19p13-q13) ve Lutheran kan grubunu belirleyen genlerin ise yine 19 nolu kromozom uzun kol terminaline (19qter) lokalize oldukları saptanmıştır. MN ve Ss kan grubu genleri ise 4 nolu kromozom üzerine lokalize (4q28-31) genlerce belirlenmektedir.

K-5:

GENOM EVRİMİ

Prof. Dr. Gülseren BAĞCI

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD, ANTALYA

Genomlar dinamik yapılar olup çok uzun zaman süreci içerisinde evrimleşirler. Genom evriminin moleküler temeli nedir? Genom evrim paternleri nedir? ve organizmalar arasındaki evrimsel ilişkileri konu alan moleküler filogenetik nedir? Bu soruların cevapları GENOM EVRİMİNİ açıklayan temel olaylardır.

Genom Evrimi ile ilgili ana fikirler şunlardır:

1. Mutasyon ve rekombinasyon genom evriminden sorumlu anahtar proseslerdir.
2. Mutasyonların çoğunun DNA tamir prosesleri ile düzeltildiği,
3. Mutasyonların genom fonksiyonu üzerine etkileri olduğu,
4. Rekombinasyonların genomda yeniden yapılanmayla sonuçlandığı,
5. Rekombinasyonlar için Heterodubleks formasyonların önemli olduğu,
6. Rekombinasyon olaylarında transpozon ve retro elementlerin işe karıştığı,
7. İlk biyokimyasal sistemlerin RNA temelli olduğu, ilk DNA genomunun RNA molekülünden sonra oluştuğu,
8. Genomların genom ve gen duplikasyonları ile yeni genler kazandığı,
9. Moleküler filogenetiğin DNA sekansları arasındaki evrimsel ilişkiye dayandığı,
10. Moleküler saatin atasal sekansların ayrılma zamanını hesaplamada kullanılabileceği genom evriminin ana fikirleridir.

Sebagai RNA lain DNA juga mempunyai struktur yang berbeda?

11.00 million
(c)

23 gift (+)
46 gift -
23 -

201

24

K-7:

İNSAN GENOM PROJESİ SONRASI GELİŞMELER VE BEKLENTİLERİMİZ

Prof. Dr. Sükrîye AYTER

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji A.B.D. ,ANKARA

İnsan Genom Projesi çalışmaları hedeflenen zamandan daha önce ancak taslak diyebileceğimiz bir biçimde tamamlandı. Bugün isteyen herkesin bu bilgiye ulaşması ve kullanması mümkündür ancak kesin olmayan sekansa ulaşılması projenin sonlanması anlamına gelmemekte tam aksine bundan sonra bu ham bilginin işlenmesi ve tekrar değerlendirilmesi gerekmektedir. Genom dizisinde henüz çözülmemiş boşluklar mevcut bunların tamamlanması, sekanslama çalışmaları genler üzerinden sürdürüldüğünden kodlamayan bölgelerin de analizi gereklidir.

İnsan genomunun yaklaşık % 99'u ortak olmakla birlikte bireysel farklılıklar mevcut, SNP (Single nucleotide polymorphisms) adını verdiğimiz bu değişimler hastalıklara, tedaviye ve çevresel faktörlere dirençte farklılık yarattığından önemli bir kavram olarak karşımıza çıkmaktadır. SNP haritalarının çıkarılması ile hastalıkların önceden tahmin edilmesi, bireysel tedavi formüllerinin uygulanması mümkün olabilecektir. Genomun sekanslanması çalışmalarından genlerin yerleşimi öğrenildi ancak yerleşimden daha önemli olan fonksiyonel genomiks çalışmaları hala tamamlanmış değildir. İnsan genomundaki gen sayısının beklenenin çok altında çıkmış olması genlerin ekspresyonu, kontrolü konularına geri dönüp protein – protein etkileşimlerini gözden geçirmemiz gerekliliğini bir kez daha vurgulamış ve çalışanları bugün başlı başına büyük bir proje olma yolunda olan proteomikse yönlendirmiştir. Burada sadece birkaç örnekle vurgulamaya çalıştığımız konular konuşma sırasında detaylandırılacak elimizdeki genom bilgisinin tasnif edilmemiş bir bilgi yığını olduğu dolayısı ile bu bilginin tasnifinin ne kadar önemli olduğu konusu üzerinde durulacaktır.

K-8:

**BİLİNMEYEN GEN BÖLGELERİNİN MİKROSATELLİT POLİMORFİZM
ANALİZLERİYLE TANIMLANMASI**

Ahmet ARSLAN

Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, GAZİANTEP

DNA teknolojisindeki ve moleküler biyolojideki gelişmeler arttıkça moleküler tıbbın sağlık hizmetlerine katkısı da artmaktadır. Özellikle toplum taramalarında ve teşhiste moleküler yöntemlerin daha güvenilir hale gelmesi, kanser, Tıp II diyabet gibi sonradan edinilen hastalıklar ile kalıtsal metabolik hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanılabilecek moleküler yaklaşımlar üzerinde bir hayli çalışmalar yapılmaktadır. Gen tedavisinin uygulanabilirliği cerrahi veya kemoterapik tedavilerin hem etkinliğini ve hem de rasyonel kullanımlarını arttırabileceği gibi alternatif bir tedavi yöntemi olarak da kullanılabileceği giderek önem kazanmaktadır.

Tarama yapılacak genin önce amaca göre moleküler olarak tanımlanması gerekir. Tanımlanan hasta gen parçası prob olarak tariflenir ve bu gen parçasının toplumda veya hastanın aile bireyleri arasında yaygınlığını tesbit için prob ile genomik DNA belli laboratuvar şartlarında eşleştirilir ki buna melezleme (hibridizasyon) diyoruz. Tanımlanan hasta DNA probuyla melezlenebilenlere taşıyıcı yada hasta diyoruz. Eşleşmeyen DNA'lar ise sağlıklı bireylerdir. Yani hibridizasyon analizleriyle hastalardan sağlıklı bireyleri ayırmış oluyoruz. Bazende sağlıklı tanımlanmış gen parçasını toplum taramasında kullanarak genomik DNA'sı eşleşmemiş bireyleri hastalık veya polimorfik yapı sebebiyle de incelenir. Kalıtsal yapının bu amaçlarla taranması özelliğine genetik tarama denir. Genetik tarama ile bireylerin genotipik yapısının: 1. Bir kalıtsal hastalıkla ilişkisi olup olmadığı yada bir hastalığa yatkınlık seyrini, 2. Kendilerinden gelecek nesillere hasta allelin geçiş seyri (aktarıp aktarmayacağı) tayin edilebilir. Yeni doğanların kalıtsal metabolik hastalıklar yönünden incelenmesi birinci şıkka örnek iken heterozigotların mesala Tay-Sachs ve sistis fibrozis bakımından incelenmesi ikinci şık için örnek gösterilebilir. Genetik taramada kullanılacak metodun geçerliliği önemlidir. Metodun geçerliliğini tayin eden ana unsurlar o metodun

metodun geçerliliği tayin eden ana unsurlar o metodun

hassasiyeti ve özgünlüğüdür. Metodun hassasiyeti hastalıklı geni doğru olarak tanıyabilmesi ile ilgilidir. Moleküler metodun özgünlüğü de sağlıklı geni hastalıklı genden ayırabilmektir. Başka bir deyişle hassasiyet düşükse hatalı negatiflik derecesi de artacaktır. Bu bağlamda metodun özgünlüğü düşükse bu sefer hatalı pozitiflik derecesi artacaktır. Bu yüzden probun moleküler niteliği oldukça önem arz etmektedir ve çalışırken de çok titiz olmamız gerektiğini vurgulamaktadır.

Tanımlanmış hasta gen bölgesi prob olarak epey bilgi sağlar. Mesela toplumun prob olarak kullanılan haploide sahip olma sıklığının tanımlanmasında, hastalığın teşhisinde ve belki de gen tedavisinin seyrinin takibinde çok önemlidir. Moleküler biyolojik yöntemlerin giderek gelişmesi hastalıklı gen bölgelerinin daha kolay ve daha kısa zamanda tanımlanmasını sağlamaktadır. Mesela 10-12 yıl önce kullandığımız yöntemlerle nükleotid dizi analizinde bütün deney safhaları (klonlama transformasyon, miniprep) başarılı ise deneye başladıktan 3 hafta sonra başlayabilirken bugün PCR'dan hemen sonra nükleotid analizine başlayabilmekteyiz hatta ertesi sabah geldiğimizde nükleotid dizi tayini de bitmiş oluyor. Sunuda gösterilen örnekler RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism, restriksiyon enzim kesimi, klonlama, transformasyon veya transfeksiyon yöntemiyle restriksiyon kesim haritaları ile kromozom üzerinde yürüme) ve VNTR (Variable Number Tandem Repeats, birbirini takip eden minisatellit uzunluklarının polimorfizmi ile genomik yapıyı tanıma) yöntemleri RFLP'de olduğu gibi restriksiyon kesim protokolü ile tanımlanmış DNA bölgesi prob olarak kullanılarak restriksiyon enzim kesim yerinin kazanılması ya da kaybedilmesi ile analiz yapılırken VNTR yönteminde Alu dizileri gibi minisatellit elementleri prob olarak kullanılır. Hem RFLP ve hem de VNTR yöntemi Southern blot ve hibridizasyon gerektirdiğinden oldukça zaman alıcı, emekli ve yoğun yöntemlerdir. Buna mukabil 2, 3 ve en fazla 4 baz çifti uzunluğundaki çoğu zaman 80-200 bp nadiren 400 bp uzunluğuna varan mikrosatellit işaretleyicilerinin polimorfizmine dayanan bilinmeyen gen bölgesinin tanımı bugünkü tartışmanın temelini oluşturmaktadır. Mikrosatellit işaretleyicileri ile üretilen PCR ürünlerinin denaturing gradient gel elektroforezi (DGGE) veya denaturing sequencing jel elektroforezi (DSGE), akrilamid jel elektroforezlerinin analizi işlemidir ve RFLP ve VNTR analizi yöntemlerinden çok daha basit ve çabuk netice alınan bir yöntemdir. Bu yöntemde örneklerle gösterildiği gibi iyi bir aile ağacının çıkartılması analizi hem daha çok kaloylaştırır ve hem de maliyetini düşürür. İlk aşamada iyi bir aile

ağacı ile özellikle otozomal resesif fenotiplerin tanımlanmasında akraba evliliği de varsa mutasyonun olduğu muhtemel allel rekombinasyonunun nerede başladığının belirlenmesinde yardımcı olacaktır. İkinci aşama heterozigositesi yüksek oldukça polimorfik mikrosatellit işaretleyicilerinden 46 kromozom için 10-25 cM aralıklarla tarama planı düzenlenir. Bu kaba tarama ile muhtemel kaybolmuş heterozigosite (veya kazanılmış homozigosite) gen bölgeleri belirlenir. Bu gen bölgeleri rekombinasyonun sık görüldüğü bölgelerdir. Genomik yapıda o ailenin hasta bireylerinde yakalanan homozigosite bölgeleri bu sefer daha yoğun mikrosatellit işaretleyicileri ile bu bölgenin yukarı ve aşağı bölgeleri mümkünse 1 cM veya daha düşük aralıklarla taranarak rekombinasyonun nerede başlayıp nerede bittiği tesbit edilmeye çalışılır. Rekombinasyonda allel devamlılığı var ise bu büyük bir olasılıkla aramış olduğumuz bölgedir. İnternette gen data istasyonlarından (CEPH=Centre d'Etude du Polymorphisme Humain,; GDB= Genethon data base CA dinukleotid mikrosatellit gen data bankası, CHLC= The Cooperative Human Linkage Center üçlü veya dörtlü mikrosatellit gen data gen bankası, NIH/CEPH ortak kromozom çalışma grubu, the University of UTAH, Whitehead Institute (WIT) ve Stanford University Sanger Center) bu bölge içindeki gen(ler) çıkartılır. Bu aday gen(ler)in nukleotid dizilerinden yeni primerler sentezlenerek PCR ve SSCP (single Strand Conformation Polymorphism) analizleriyle mutasyonun olduğu gen bölgesi nukleotid dizi analizleriyle de nihai olarak belirlenir. İleriki aşama mutasyonun yol açtığı fenotipin Western blot ile tesbiti ve proteinin yapısal-işlevsel bozukluğu ile klinik fenotip arasında ilişki kurularak o gene ait hasta allel tanımlanmış olur. Özet olarak polimorfik mikrosatellit işaretleyicileri sentezlenmiş PCR ürünlerinin DGGE analizlerinin aile ağacı içinde akraba evliliğine dayanan ortak atasal gen haritasının hasta ve sağlıklı çocuklara sahip ailenin kendisinin ve bazı seçilmiş yakın akrabalarının genomik yapısının ilinti (linkage) analizleriyle hastalıklı gen bölgesinin tanıtımı anlatılmaya çalışılmıştır. Son zamanlarda tek nukleotid polimorfizmine (single nucleotide polymorphism) dayanan, restriksiyon enzim kesimi, metilasyon ve PCR tekniklerinin bileşiminden oluşmuş genomik eşleşeme mutasyon tarama (genomic minisatellite scanning=GMS) yöntemi ile microarray veya microchip teknolojisi ile bilinmeyen gen bölgesinin tanımlanmasıdır. Her ne kadar bu yöntemle çalışanların mikrosatellit analizlerinden daha kolay ve hızlı olduğu iddia edilirse de bu metodun insan genom analizlerinde hala problemleri vardır. Ayrıca bu

teknik yoğun klonlamayı ve çok iyi bir istatistik analizi ve yorumlarını gerektirdiğinden Türkiye Üniversitelerinde bu metodla araştırmalar yapmak henüz mümkün görünmemektedir manevimdayım.

Kullanılan Kaynaklar

1. Arslan A. 4.1 bant proteini, G6PD haplotiplenme ve korteks heterotopiası üzerindeki yayınlanmamış çalışmaları.
2. Mao L, Schoenberg MP, Scicchitano M, Erozan YS, Merlo A, Schwab D. Molecular detection of primary bladder cancer by microsatellit analysis. Science 271:659-662, 1996.
3. Ringwald M, Baldock R, Bard J, Kaufman M, Eppig JT, Richardson JE, Nedanu JH, Davidson D. A database for mouse development. Science 265:2033-2034, 1994.
4. Cox DR, Green ED, Larder ES, Lohen D, Myers RM. Assesing mapping progress in the human project. Science 265:2031-2032, 1994.
5. Knoppers BM, Chadwick R. The human genome project under an international ethical microscope. Science 265:2035-2036, 1994.
6. Lander ES, Schork NJ. Genetic dissection of complex traits. Science 265:2037-2048, 1994.
7. Lander E, Kruglyak L. Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. Nature Genetics 11:241-247, 1995.
8. Murray JC, Beutow KH, Weber JL, et al. A comprehensive human linkage map with centimorgan density. Science 265:2049-2054, 1994.
9. Cheung VG, Gregg JP, Gogolin-Ewens KJ et al. Linkage-disequilibrium mapping without genotyping. Nature Genetics 18:225-230, 1998.
10. Jarde LB, Carey JC, Bamshad MJ, White RL. Medical Genetics. 2nd Ed. Mosby, St. Louis: 1999.

K-9:

SİNÜKLEİNOPATİLER İLE TAUPATİLER

Prof.Dr. Turgay DALKARA

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi

K-10:

BIOLOGY AND GENETICS OF NON-SYNDROMIC HEARING LOSS

Dr. Bernd WOLLNIK

İstanbul Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Tıbbi Genetik Bilim Dalı, İSTANBUL

Sensorineural deafness is the most common inherited disorder of a sensory system in humans. When present before speech acquisition it is severely disabling, as affected individuals will not be able to communicate in a normal way thereby leading to a delay in intellectual and psychosocial development and impaired social integration. It is estimated that approximately 60% of congenital cases of deafness are caused by genetic factors. Regarding congenital profound deafness it is estimated that approx. 1 in 1000 children is born deaf, which makes congenital hearing loss one of the most common genetic diseases.

Concerning the genetic basis of deafness it is known that all possible inheritance patterns occur, yet the majority of congenital profound deafness is inherited as an autosomal recessive trait (approx. 85%). In contrast, monogenic progressive hearing loss more often shows an autosomal dominant inheritance pattern. Although the phenotype is rather uniform, epidemiological and genetic studies have suggested that non-syndromic hearing loss (NSHL) can be caused by mutations in up to 100 different genes! To date, genetic studies have identified 36 autosomal dominant, 29 autosomal recessive, 6 X-linked recessive, and 5 mitochondrial forms of deafness, yet just 15 autosomal and X-linked deafness genes have been identified. Mutations in one particular gene, called connexin 26, are suggested to account for more than half of all inherited NSHL cases in certain European or American populations. Connexin 26 belongs to a family of genes encoding the polypeptide components of gap junctions, which are macromolecular integral-membrane complexes that allow for the passive diffusion of water and small solutes between adjacent cells. It is expressed within discrete regions of the cochlea. A specific mutation in the gene, known as 35delG, represents a „hot spot“ mutation and is found in approx. 2/3 of the detectable connexin mutations.

Furthermore, molecular genetic analyses already done in humans or murine models have proven a fundamental importance for the following "physiological systems": (a) Mutations in different transcription factors disturb the proper development or maintainance of inner ear structures in several forms of NSHL and syndromic hearing loss (SHL); (b) Mitochondrial mutations lead to an insufficient energy supply in the inner ear and can cause NSHL and SHL. Interestingly, one specific mitochondrial mutation has been shown to predispose to the pathological ototoxicity of aminoglycosid-antibiotics; (c) Alterations in cytoskeletal proteins cause a break down and disorganisation of stereocilia which are necessary for hearing; (d) In a similar way, alterations of extracellular matrix composition of the inner ear (e. g. in the tectorial membrane) can cause hearing loss; (e) Dysfunction of ion-channels lead to altered endolymph homeostasis which results in hearing impairment.

Elucidation of genetic defects in non-syndromic hearing loss over the last few years greatly improved our understanding of the development and the physiology of the inner ear. In fact, molecular genetic studies now provide a most fascinating picture of the inner ear and of the molecular identity of key players in the hearing process. This knowledge allows a better understanding of the hearing process in general and is essential for an improvement of the clinical management of the deaf patients.

Genetik - *Genetik*
 Association - *Association*
 Onset - *Onset*
 Type - *Type*
 Mixed

Genetik - *Genetik*
 Association - *Association*
 Onset - *Onset*
 Type - *Type*
 Mixed

51 gbk 23 del 6 - 22 - 34%
 119 del 6 - 2 del
 2 del - 1 del
 145

Mit - 121RANAGTAA
 Modif - 121RANAGTAA
 121RANAGTAA
 121RANAGTAA

K-11:

**DENEYSEL KANSER MODELLERİNİN OLUŞTURULMASINDA ANA
İLKELER**

Prof. Dr. Tuncay ALTUĞ

Güntümüz biyolojik bilimlerinin en yoğun araştırma yaptığı alanlardan birincisi hiç kuşkusuz ki kanserdir. Kanserın meydana geliş mekanizmalarının ve tedavilerinin oldukça az aydınlatılmış olması ve heterojenliği bu konunun bilinmeyeninin çok fazla olmasında etkindir.

Kanserle ilgili yukarıdaki problemlerin çözümüne yönelik değişik araştırma modelleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Kanser dışındaki birçok hastalık için de hayvan modeli geliştirilmektedir. Fakat bu modeller arasında gerekli verimi alabilmek için en fazla titizlik gösterilmesi gereken araştırma alanı yine kanserle ilgili olanlardır. Çünkü bu modelin oluşmasının birçok aşaması bulunmaktadır. Bu aşamalardan bir tanesinde bile yapılacak aksaklık modelin oluşumunda istenen verimin meydana gelmesini engeller. Ben, özellikle hayvanlarda kanser modelleri oluşturulurken meydana gelebilecek hataların neler olabileceğini ve bunların nasıl aşılacağını vurgulamak istiyorum.

Deney hayvanlarında kanser oluşturabilecek metodları şu şekilde sıralayabiliriz:

Karsinojen kullanılarak,

Mevcut çeşitli tümör cell-line'larının hayvanlara transplantasyonu ile,

Özel immun yetmezliği olan hayvan soylarına insan tümörleri implante edilerek,

Transgenik hayvan oluşturma yöntemleriyle onkogen nakledilerek.

Sayılanlar içerisinde en yaygın olarak kullanılanı karsinojenlerin verilmesi yoludur. Özellikle kanser oluşumunu engellediği düşünülen çok sayıda maddenin

denenmesi için en uygun yöntemdir. Fakat belki de verim açısından en sıkıntılı olan metod da budur. Karsinojen kullanılarak kanser oluşturmada karşımıza çıkabilecek sorunları şu başlıklar altında toplayabiliriz:

Uzun sürede kanserin oluşması,

Deneklerin tümünde tümörün gelişmemesi,

Hayvanlarda tümör gelişim dönemlerinin zamana yayılması.

Karsinojenin uygulanmasından sonra uzun sürede tümörlerin oluşması özellikle başarılı model oluşturup oluşturulmadığının görülmesi açısından çok önemli olmaktadır. Birçok karsinojenin uygulanmasından sonra tümörlerin belirgin hale gelmesi 5-6 ay sürmektedir. Dolayısıyla yapılan hata sonucu meydana gelebilecek başarısızlıklar ancak 5-6 ay sonra anlaşılabilir. Deneklerin çok iyi seçilmelerine karşılık tüm hayvanların karsinojene cevabı aynı olmamaktadır. Sonuçta deneye başlarken hesaplar iyi yapılmadığı takdirde 5-6 ay sonra istatistiksel açıdan grup kuramayacağımız kadar az sayıda tümörlü hayvanımız oluşur. Oluşan hayvan sayısı deney gruplarını kurmaya yetismeyeceği için deneyi yeniden planlamak gerekir. Bu durumda zaman, madde ve hayvan kaybına neden olur. Boş yere hayvan kaybedilmesi ise deney hayvanları hakları ile ilgili yasaların ana ilkesini oluşturan 3R kuralının reduction maddesine aykırı davranışa neden olur.

Hayvan seçiminde karsinogenez aşamalarının gerektirdiği düzeyde titiz davranılmadığı takdirde, az sayıda kanserli hayvan oluşturmalarının önemli bir nedeni de hayvanlarda farklı zamanlarda tümörün meydana gelmesidir. Profilaksi çalışmalarında çok büyük sorun yaratmamakla birlikte kanser tedavi araştırmalarında çalışmaya başlarken homojen ve yeterli sayıda tümörlü hayvan oluşturulması gerektiği için önemlidir.

Gerek kimyasal karsinojenler vererek, gerekse transplantabl tümör oluşturulurken yapılması gereken ilk işlem kimyasal maddenin en etkili olduğu veya transplantabl tümörün rejekte olmadan en iyi tuttuğu hayvan soylarının hangileri olduğunun araştırılmasıdır. Bu yapıldığı takdirde elde edilen tümörlü hayvan sayısı yeterli olacaktır. Bunun yanında seçilen soydaki hangi cinsiyette daha etkili olduğu da incelenip hayvan seçimi ona göre yapılmalıdır.

Örneğin Hardin yaptığı çalışmada CBA/H/T6J soyu fareleri kullanmış, bu farelere 6 haftalık tek doz 250mg/kg Streptozotocin uygulanmıştır. Sonuçta erkeklerde %30, dişilerde %60 oranında malign renal tümörler oluşmuştur; ayrıca dişilerdeki renal tümörler akciğere metastaz yapmaları ile ideal renal kanser modeli meydana getirmişlerdir.

El-Bayoumy K. ve arkadaşları 6-nitrochrysene yeni doğmuş farelere dimetilsülfoksit çözücü içerisinde 100nmol/fare dozu intraperitoneal olarak uygulamıştır. Bu dozda erkeklerde karaciğer kanseri gelişmiştir.

Mc Cormick D.L. dişi sıçanlarda 50 günlükken intragastrik olarak gavajla 8mg tek doz 7,12 DMBA uygulamasıyla 210 gün içerisinde meme kanseri oluşturduğunu bildirmektedir.

Tamano S. erkek B6C3F1 farelerinin adlibidum olarak tükettikleri içme suyuna 36 hafta %0,025 (N-ethyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine katılarak ideal mesane tümörü oluşturulabileceğini bildirmektedir.

Yukarıda da belirttiğim gibi bazı kanser modelleri tek bir karsinojen verilerek oluşturulabildiği halde, bazı kanser modelleri ancak iki farklı karsinojen kullanılarak meydana getirilebilmektedir.

Örneğin Ward J.M. ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi F-344 sıçanlarına sadece MNU'nun 16 kez intrarektal uygulanması ile kolon kanserleri oluşturulurken Nishikawa A.'nın araştırmasında Wistar albino erkek sıçanlarda 6 haftalıkken %5'lik NaCl solüsyonu içerisinde 100ppm N-methyl-N nitroso-N-nitrosoguanidine uygulandıktan sonra 57 hafta boyunca klorlanan sularda bulunan bir mutajen olan MX(3-chloro-4-dichlorometyl 19-5-hydroxy-2(5H) furanone 30 ppm dozunda verilip başarılı bir şekilde Glandüler mide kanseri modeli elde edilebilmiştir.

Kullanılan karsinojenlerin de ilk teslim alınış tarihinden kullanım aşamasının tamamlanmasına kadar geçen süreçte başarı açısından dikkat edilmesi gereken durumlar bulunmaktadır. Bunları şu şekilde sıralayabiliriz:

Karsinojenin saklanma koşulları,

Karsinojenin sulandırılması,

Karsinojenin verilme yolu,

Karsinojenin verilme yaşı,

Karsinojen verilirken ve verildikten sonra dikkat edilmesi gerekenler,

Etkisini göstereceği dönem.

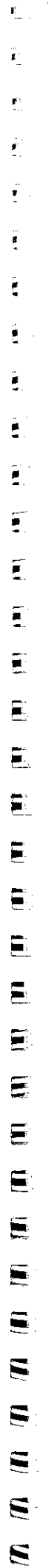
Karsinojenin verilirken ve verildikten sonra dikkat edilmesi gereken koşullar deneyin başarısı kadar bu maddeleri kullananların ve çevrelerindeki insanların sağlığı açısından da önemlidir. Bu maddelerin kontaminasyon biçimi, kontamine olurlarsa nasıl ve neyle deşrede edilebilecekleri, hayvana verildikten sonra yarılanma sürelerinin ne kadar olduğu, metabolitlerin hayvanın vücudundan hangi yolla atıldığı ve bu sırada bulaşmanın nasıl engelleneceğı bilinmeli ve çevremizde çalışanlar da bu konuda eğitilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Bobek P, Galbavy S, Ozdin L.Effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on pathological changes in dimethylhydrazine-induced rat colon cancer. *Oncol Rep* 1998; 5:727-30.
2. El-Bayoumy K, Desai D, Upadhyaya P, Amin S, Hecht SS.Comparative tumorigenicity of nitrochrysene isomers in newborn mice. *Carcinogenesis* 1992; 13: 2271-5.
3. Hard GC.Identification of a high-frequency model for renal carcinoma by the induction of renal tumors in the mouse with a single dose of streptozotocin. *Cancer Res* 1985 ; 45:703-8.
4. McCormick DL, Major N, Moon RC. Inhibition of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced rat mammary carcinogenesis by concomitant or postcarcinogen antioxidant exposure. *Cancer Res* 1984 ; 44:2858-63.
5. Nishikawa A, Furukawa F, Lee IS, Kasahara K, Tanakamaru Z, Nakamura H, Miyauchi M, Kinae N, Hirose M.Promoting effects of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone on rat glandular stomach

- carcinogenesis initiated with N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine. Cancer Res. 1999 ; 59:2043-9.
6. Strobel P, Klimck F, Zerban H, Kopp-Schneider A, Bannasch P. Xenomorphic hepatocellular precursors and neoplastic progression of tigroid cell foci induced in rats with low doses of N-nitrosomorpholine. Carcinogenesis 1998 ; 19:2069-80.
 7. Tamano S, Hagiwara A, Suzuki E, Okada M, Shirai T, Fukushima S. Time- and dose-dependent induction of invasive urinary bladder cancers by N-ethyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine in B6C3F1 mice. Jpn J Cancer Res 1991; 82:650-6.
 8. Thompson HJ, Adlakha H, Singh M. Effect of carcinogen dose and age at administration on induction of mammary carcinogenesis by 1-methyl-1-nitrosourea. Carcinogenesis 1992; 13:1535-9.
 9. Ward JM, Sporn MB, Wenk ML, Smith JM, Feeser D, Dean RJ. Dose response to intrarectal administration of N-methyl-N-nitrosourea and histopathologic evaluation of the effect of two retinoids on colon lesions induced in rats. J Natl Cancer Inst 1978; 60:1489-93.

PANEL



MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK AÇIDAN KANSERE BAKIŞ

Moderatör: Prof. Dr. Hüseyin BAĞCI



METASTAZ BİYOLOJİSİ

Prof. Dr. Selma YILMAZER

İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Kanser hücrelerinin en önemli iki özelliği komşu dokulara yayılma ve uzak bölgelere giderek metastaz yapma yetenekleridir. Son yıllarda araştırmacılar bir hücreyi önce kanser hücresi olmaya daha sonrada metastatik olmaya iten hücresel değişiklikler belirlemede önemli ilerlemeler kaydetmişlerdir.

Kanser hücrelerinin metastaz yapabilmesi için belli aşamaların geçilmesi gerekir. Bunlar;

1-Çevrelerindeki hücrelerden kopma 2-Bazal membranı geçme 3-Ekstraselüler matriks içinde ilerleme 4-Kan veya lenf damarlarına girme 5-Dolaşımda canlı kalabilme 6-Dolaşımdan yeni bir doku bölgesine çıkma 7-Burada angiogenezi de içeren bir olaylar serisi ile metastaz halinde gelişmedir.

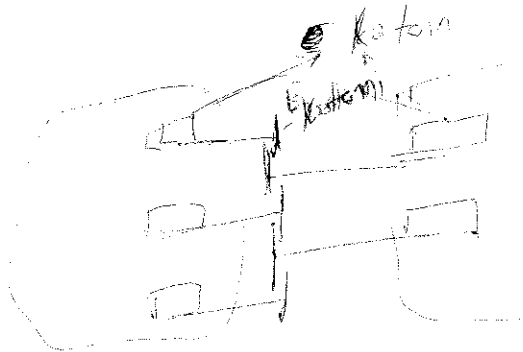
Kanser hücrelerinin bulundukları yerden koparak uzaklaşması basit bir olay değildir. Çünkü normal hücrelerin çoğu, kendilerini komşu hücrelere ve çevrelerindeki bağ doku matriksine bağlayan moleküller ile sıkıca yerlerinde tutulurlar. Kısacası bu hücreler vücutta dolaşamazlar ve diğer organlarda yerleşemezler. Metastatik kanser hücreleri ise öyle değişiklikler geçirirlerki, çevreleri ile olan bağlantılarını koparır ve çevrelerini sınırlayan bağ doku proteinlerinin oluşturduğu duvarları yıkararak uzaklara gider, başka doku ve organları işgal ederler. Eğer bu durum böylesine zararlı ve hasar verici olmasa metastaz çok enteresan bir hücresel değişim olarak değerlendirilebilirdi. Fakat metastatik tümörün çoğu zaman primer tümörden daha tehlikeli olduğu da bir gerçektir.

Normal hücreleri çevrelerine bağlayan moleküler bağlara ek olarak çoğu normal hücre, hareketli hücrelere özgü göç mekanizmalarından yoksundur. Hareketsiz hücrelerin metastaz yapabilmeleri için göç edebilme özelliği kazanmaları gerekir. Gezgin hücreler psödopoda benzer sitoplazmik uzantılar çıkarırlar. Hareketsiz bir hücrenin sitoplazmik uzantı çıkarabilmesi için sitoiskeletin yeniden düzenlenmesi gerekir. Metastatik hücre konak dokuyu terk etmeden önce yapılacak tek şey iç

yapısının yeniden düzenlenmesi değildir. Bağ dokuyu oluşturan matriks proteinleri adeta kapısı olmayan bir duvar oluştururlar. Özellikle epitel kökenli kanserlerde epiteli bağ dokudan ayıran bazal membranın aşılması komşu dokuların işgalinde ilk adımdır. Bunun için kanser hücresi bu bariyeri yıkma yeteneği kazanmalıdır. Bu amaçla kanser hücreleri ve kanserle ilişkili stroma hücreleri çeşitli proteazlar üretirler. Bu proteazların özelliklerinin anlaşılması yoğun bir ilgi konusudur. Çünkü onların inhibe edilmesi metastazı önlemede önemli bir mesafe alınması anlamına gelecektir. En çok matriks metalloproteazları denen proteaz ailesi üzerinde çalışılmıştır. Metastaz sırasında etkinliği araştırılan diğer iki proteaz ailesinde katepsin B ve urokinaz tipi plazminojen aktivatörüdür.

Kanser hücreleri çevrelerindeki dokuyu işgal ettikten sonra uzak bölgelere yayılmak için dolaşıma geçerler. Kan damarları metastatik hücrelerin yeni dokulara ulaşmaları için bir yol oluşturmakla beraber, bu tehlikeli bir yolculuktur. Dolaşıma giren onbin hücreden sadece biri yaşamını sürdürebilir. Canlı kalan kanser hücreleri endotel hücrelerine tutunarak çevre dokuları işgal etmek için kullandığı mekanizmalarla damar dışına çıkar ve konak dokuda göç eder. Kanser hücresi artık burada çoğalmaya ve yeni bir tümör oluşturmaya hazırdır.

Tüm metastaz aşamaları kanser hücreleri tarafından ekspresyonu yapılan integrinler, kaderinler, kateninler, I CAM-1, Muc 18 , V CAM-1 ve CD44 gibi çok sayıda adezyon molekülü ile yakından ilişkilidir. Uygun bölgede yerleşen kanser hücreleri konak dokuda otokrin ve fokal büyüme faktörlerine cevaben büyür ve gelişir.



Ekstram ve kateninlerin metastazdaki rolü.

Metastazın tümörün ve kateninlerin ekspresyonu ile ilişkisi.

KANSER SİTOGENETİĞİ

Prof. Dr. Ahmet KARAGÜZEL

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD, TRABZON

THEODOR BOVERİ (1914) meşhur kitabında (Zur Frage der Entstehung Maligner Tumoren=Malign Tümörlerin Patogenezi), yer verdiği hipotezine göre; “kromozomal anomaliler hücrel değişikliklere sebep olur ve normal bir hücrenin malignant proliferasyona geçişine neden olur” demiştir.

Bundan sonraki gelişmelerde kanser sitogenetiğindeki ilk önemli tespit ve başarı; 1960 yılında NOWELL ve HUNGERFORD’un küçük bir karyotipik markır keşfetmesidir ki bu markır Philadelphia kromozomudur. Kronik miyeloid lösemili bir hastadaki bu tespit aynı zamanda belirlenen ilk kromozomal anomalidir

Kanserde Nonrandom Kromozom Anomalileri

Modern kanser sitogenetiğinde ortaya çıkan temel sonuç; tümör hücrelerinde sitogenetik değişikliklerin genomda düzensiz şekilde dağılmış olmalarıdır. Farklı kromozom bölgeleri ve bandları farklı neoplazmalar içerebilir. Bununla beraber artan spesifik anomaliler özel neoplasm veya neoplasm gruplarında bulunmuştur.

“Catalog of Chromosomal Aberration in Cancer; Mitelman 1983, 1985, 1987” adlı katalogla kromozom banding enformasyon veren insan neoplasm sayısı 8000 den fazladır. MİTELMAN VE LEVAN (1986) 5345 vakada 77 farklı anomali rapor etmiştir. X ve Y dışında 161 kırılma noktası ve 77 aberrasyon tipi belirlenmiştir. 83/329 band noktası ve içerdikleri genlerde tümör oluşumu belirlenmiştir (1987).

Primer ve sekonder kanser kromozom anomalileri

Primer aberrasyonlar; kanserde sıklıkla tek bir anomali olarak bulunurlar. Bunlar aynı zamanda spesifik olarak özel tümör tipleri ile birliktedirler. Sekonder aberrasyonlar diğer yandan soliter değişiklikler olarak nadir veya hiç bulunmazlar. Bunlar primer anomalilere ek olarak sıklıkla dominant olarak hastalığın daha sonraki devrelerinde görülürler. Primer değişikliklerden az görülmesine rağmen sekonder aberrasyonlar nonrandom özelliktedir. Önemli bir tespit olarak kanser kromozom anomalilerinde coğrafik heterojenite vardır. Coğrafik olarak farklı etnik gruplarda kanser frekansının fark gösterdiği uzun zamandır bilinmektedir. Bu olay çevre şartlarına, karsinojenlere ve DNA tamir kapasitesine bağlı olabilir.

Neoplastik prosese kromozom anomalileri ne zaman oluşur

Sekonder değişiklikler yalnız hastalığın geç evresinde oluşur, neoplasmanın oluşumunda etkili değildir, yani tümör gelişiminde etkili olmayabilir. Primer anomaliler için “ne zaman” sorusunu cevaplamak zordur. Vakaların çoğunluğunda teşhis ve klinik tanımlama aşamasında oluşum bir hayli ilerlemiş durumdadır. Bununla beraber; Örneğin kronik miyeloid lösemilerde (CML) sitogenetik değişikliklerin gelişimi en önemli kriter olarak değerlendirilebilir. Enzim polimorfizmi v.b. data ve translokasyonlar daha sonraki olaylardır. Burkitt’s lenfoma’da spesifik translokasyonun hangi erken aşamada olduğuna dair [t(8:14)] fikir birliği yoktur. Bununla beraber primer kromozom anomalilerinin çok erken safhada oluştuğu ve multistep geliştiği görülmektedir.

Bütün tümörlerde kromozom anomalileri var mıdır?

Bu soruya hayır cevabının verileceği açıktır. Çok sayıdaki tümörde normal metafaz bulunmuştur. Bununla beraber bugün ki verilere göre önemli miktarda tümör tipinde sitogenetik anomaliler yeteri kadar incelenmemiştir. Ancak teorik olarak “bütün neoplazmaların gelişmelerinde sitogenetik değişiklikler olacağı” kabul edilmektedir. Somatik mutasyon teorisi tüm neoplazmalar için doğru olsa bile anomalilerin tümünün sitogenetik metodlarla detekte etmek mümkün değildir. Bugün ki sitogenetik tetkiklerle $10^6 - 10^7$ bp bir bölge görsel metodlarla detekte edilebilmektedir. Bu arada devreye FISH ve moleküler sitogenetik girmektedir.

KANSER KROMOZOM ANOMALİLERİNİN OLUŞUMUNA NEDEN OLAN FAKTÖRLER

Kanser şüphesinin belirtileri nelerdir?

KNUDSON’un (1985) kanserin somatik hücre teorisine göre; populasyon kansinogenesis açısından 4 farklı kategoriye ayrılmaktadır. Bunlar:

I Encodem: Kanser kaçınılmaz background seviyesi:En az muhtemel kanser insidansı. İnstabil genetik materyalin kalıtılması ve çevrede kaçınılmaz küçük seviyedeki mutagenler, (örneğin kozmik radyasyon). Bu tip kansere “birinci encodem” denir Nedeni çok kere açıklanamaz.

II Encodem: İkinci encodem tümörleri kapsar ki bazal seviyede mutajenik bir etkiye bağlıdır. İlave faktörler de vardır.

III. Encodem: Üçüncü enkodemde kişinin karsinogen etkilere karşı genetik yetersizlikleri vardır.

IV. Encodem: Dördüncü encodemde sonuç olarak çevresel etkenlerin önemi yoktur. Bu vakalar otozomal dominant neoplazmlardır. Başlatıcı mutasyon germ-line hücrelerle aktanılır.

Exsojen uyaranlar açısından önemli encodemler 2. ve 3. Gruplardır. Mutajenik zarar ile tamir mekanizması arasında bir denge söz konusudur.

1. C-band polimorfizmleri

İnsan karyotipinde heterokromatik bölgeler sıklıkla polimorfiktir. Özellikle geniş heterokromatik bloklar kromozom 1, 9, 16 ve Y kromozomlarında görülür. Genellikle yapısal heterokromatin polimorf bölgelerin fenotipik bir sonuç vermediği düşünülmüştür. Son yıllarda heterokromatik variantlar ile lösemi ve solid tümörler arasında pozitif bir korrelasyon olduğu konusunda birçok rapor vardır. Bölgenin genişliği ve pozisyonu önemlidir. Özellikle farklılıklar kromozom 1’de gösterilmiştir.

Yapılan çalışmalarda kontrol ve kanser hastaları arasında C-band patternleri arasında önemli farklılıklar bulunamamıştır. Yapısal heterokromatinin dağılımı ve miktarı ile malignant tümör gelişimi arasındaki hakiki ilişki bir muamma şeklinde kalmıştır. Genel kanı ise heterokromatin polimorfizm, kanser şüphesini artırmakla beraber genelde kesin bir şey söylemek mümkün değildir.

Önemle söylenebilir ki; kanser şüphesi ile özel C-band patterni arasında sadece populasyon seviyesinde istatistiki farklılıklar bulunmuştur. Bu nedenle polimorfizm kişiler için kanser riski göstergesi olarak kullanılamaz.

2. *Fragile site (frajil bölgeler)*

Fragile kromozom bölgelerinin genel özellikleri, (SUTHERLAND ve HECHT, 1985):

- 1- Kromozom gapları olarak görülür.
- 2- Ko-dominant traitler olarak kalıtlanırlar.
- 3- Frajilite; asentrik fragment oluşumu, radial figürler veya delesyonlu kromozomlar olarak tanımlanır. Bazı frajile bölgeler nadir, bazıları ise geneldir. Bunlar in-vitro olarak çevresel faktörler tarafından indüklenir; örneğin; flat açlığı veya etkisi amphidocholin, distamycin A, 5-azacytidine veya 5-bromodeoxyuridine (BrdU) kimyasalları etkilidir.

Birçok rapor göstermiştir ki, insanda belirli kanser kırılma noktaları ve fragile bölgeler bazı kanserlerle uyumludur. Diğer yandan yapısal olarak duyarlı fragile

bölgelerin bulunuşu kromozomal düzensizliğe eğilimi oluşturur ve kansere yol açabilir. Bugün için hangi genlerin fragile bölge fenomeninden sorumlu olduğu bilinmemektedir. Gelecekte bu fragile bölge indükleyen genlerin tanımlanması ve karakterizasyonları ile kanser şüphesindeki potansiyel ve parametreler anlaşılacaktır.

3. Kromozom kırık sendromları

Bazı nadir otozomal resesif kromozomal insitabilite sendromlarında tümör gelişme riskinde insitabilitenin rolü olduğuna ait kuvvetli deliller vardır.

Bunlar:

Ataxia telangiectasia (AT)

Xeroderma pigmentosum (XP)

Fanconi anemia (FA)

Bloom sendrom (BS)

Bütün tümör tiplerinde olmamasına rağmen kromozomal kırıklar yukarıdaki 4 kondisyonda kanser sıklığını artırmakla karakterizedirler.

BS hastalarda; homolog rekombination eğilimi artar, quadriradial formasyon, SCE sıklığında artış vardır.

FA hastalarda; somatik hücrelerde kromozom aberasyonlarında genel bir artış vardır, SCE sıklığı normaldir.

AT hastalığında strüktürel kromozom aberasyonlarında artış vardır, stabil düzensizlikler fakat normal SCE.

XP hastalığında temel anormallik DNA tamir mekanizmasındaki azalmadır.

Bazal şartlarda bu kromozom kırık sendromunda kromozomal aberasyonlar normal seviyededir, fakat sistem uygun bir mutajence baskı altına alınırsa, (örn. UV) O zaman anomaliler artar.

4. Yapısal ve sayısal anomalilerin genel etkileri

Burada genel konsept kromozomal aberasyonlar bir veya birkaç kanser geninin etkisini değiştirir ve sonuçta transforme hücre davranışı değişimi ile normal hücre neoplastik davranışa girer. Prensip olarak kromozomal mutasyon kromozomlarda artışa, kayba veya kromozomal segmentlerin relokalizasyonuna sebep olur.

4.1. Kromozomal materyalde net kayıp

Bu durum ya delesyonla ya da kromozom kaybı ile olur (monosomi). Bu değişiklikler tümör supressör genlerin kaybı ile karsinogenik bir değişiklik ile sonuçlanabilir. Eğer delesyon interstisial ise genlerin kırılma noktalarında yer değiştirme etkisi (position effect) ile oluşan rekombinasyon karsinogenik olabilir.

4.2. Kromozomal materyalde net artış

Düzensiz segregasyon trisomi veya polisomiye yol açabilir. Belirli kromozomal bölge veya segmentlerinde duplikasyon dengesiz gen ürünlerine sebep olur. Sonuç olarak kanser oluşturan genlerdeki amplifikasyon bazı durumlarda önemli bir mekanizma olabilir.

4.3. Genetik materyalde net miktarının (content) değişmemesi fakat sekansta lokalizasyonun değişmesi

Yeniden düzenlenme interkromozomal (translokasyonlar ve insersiyonlar) veya intrakromozomal (inversiyonlar ve insersiyonlar) olabilir. Bu durumda DNA zincirinin rekombinasyonu ile genler zarar görebilir, yeni füsyon genler oluşabilir veya regülör kontrol interfere olabilir. Bu “position effect” birçok insan neoplasmlarında onkogen ile aktivasyonuna sebep olabilir.

SPESİFİK DÜZENSİZLİKLERDE KROMOZOMAL ANOMALİLER

Bir çok neoplastik proste kromozomal düzensizlikler belirlenmiştir. Özellikle lösemilerde ve lenf kanserlerinde belli oranda karsinogeneze spesifik yapısal ve sayısal anomaliler belirlenmiştir. Özellikle kromozomal translokasyonlar başta olmak üzere diğer düzensizliklere de rastlanmaktadır.

Bu yazının çerçevesi tüm bu anomalileri belirtmeye izin vermemektedir.

KANSER VE APOPİTOZ

Prof.Dr. Turgut ULUTİN

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü İstanbul

Apoptozis veya programlanmış hücre ölümü bütün organizmalar için faydalı bir işlev gören gere bağlı olarak hücrelerin kendini yıkmaları olarak tanımlanır. Apoptoz ihtiyaç kalmayan veya sahip olunması organizma için tehlikeli olan hücrelerin multiselüler organizmalar tarafından seçici olarak çıkarılmasına izin verir. Apoptotik sürecin basitleştirilmiş çerçevesi hücre öldürücü süreçte kapsanan molekül veya faktörlerle birlikte görülmektedir. Hem fizyolojik hem de patolojik pek çok uyarının apoptotik programı başlattığı bilinmektedir. Fizyolojik koşullar altında pek çok hücre doğal olarak ölür. Örneğin embriyonik gelişme apoptoz yoluyla spesifik hücrelerin delesyonuna gerek duyar. Bağışıklık sisteminde, otoreaktif veya aktive lenfositler apoptoz tarafından delet edilirler. Fizyolojik apoptozun diğer örnekleri normal doku turn-overı ve hormona bağlı organların regresyonunu içerir. Hücreler ayrıca hasar sonucu ölebilirler. Apoptozu neden olan bu hasarlar arasında hipoksi, iyonize U.V. radyasyonu, toksinler, kimyasal zehirler, mikrop infeksiyonları, aşırı ısı sayılabilir. Bir kez fizyolojik veya patolojik sinyal oluştu mu, hücresel moleküllerin kompleks şebekesi farklı ve kompleks yollardan sinyali modüle etmeye başlar. Bazı moleküller öldürücü sinyalleri hücre yüzeyinden iç kısma aktarmak için hizmet görürler(Örn. Fas , TNFR) diğerleri hücre ölümünü iletirler(Bax), ancak Bcl-2 gibi ölüm sinyalini bloke edenler de vardır. Öldürücü sinyalin nasıl başladığına bakılmaksızın, hücre bir kez ölmeye karar verdi mi, program başlar. Bu programın çekirdeğinde kaspazlar denen bir enzim ailesi vardır. Kaspazların memeli hücrelerinde en az on üyesi bulunmuştur. Kaspazların apoptoz esnasında Aktin, Laminler, Fodrin gibi çeşitli protein substratlarının yıkımına yol açan kaskadı aktive ettiğine inanılmaktadır. Ayrıca aktive olan bir endonükleaz apoptotik hücrelerde çift iplikli bir DNA'yı ayırmaktadır. C. Elegans'da daha basit bir apoptotik kontrol vardır. Bu organizmada 14-16 genin apoptotik süreçle ilgisi bulunmuştur. Ced-3 ve Ced-4 genleri gelişme esnasında hücre ölümü için esastır. Bu iki geninin mutasyonla inaktive edilmesi yaşamın devamına olanak tanır. Ced-9 bu iki genin aksi yönde etki yapar .

Kanser ve Apoptoz:

Esas olarak kanser, hücre proliferasyonu ile oluşturulan yeni hücre sayısının hücre ölümüyle elimine edilen hücre sayısını aştığı doku homeostaz bozukluğu olarak tanımlanmaktadır. Bu açıdan bakıldığında ya hücre proliferasyonunun artmış hızı ya da hücre ölümünün azalmış hızı kansere yol açabilir. Artık bilinmektedir ki hücre ölümü genetik kontrol altında düzenlenen bir süreçtir ve kontroldeki değişimlerin kansere yol açtığı da bilinmektedir. Dört sınıf gen doku homeostazını etkileyebilir.

- 1- 1- Hücre proliferasyonunu arttıran onkogenler(Örn. myc, ras)
- 2- 2- Tümör baskılayıcı genler. (P₅₃ ve Rb hücre proliferasyonunu bloke eder.)
- 3- 3- Hücre ölümünü uyaran hücre ölüm genleri(c.elegans'da Ced3 , memelide bax)
- 4- 4- Yaşam ilerletici genler, bunlar hücre yaşamını artırır. (C- elegansda Ced-9 ; memelide bcl-2)

Bazılarını inceleyelim.

P53 geni:

Moleküler onkolojide yakın zamanlardaki heyecan verici gelişme P53 geni hakkındadır. Tüm insan kanserlerinin yaklaşık %50'si P53 gen mutasyonu ile ilgilidir. P53 mutasyonlarının da %80-90'ı missense mutasyonlar geri kalanı ise delesyonlar, inversiyonlar, nonsense ve diğer mutasyonlardır. P53 mutasyonları genellikle kanser gelişim riskinin artmasıyla ilişkili olan inaktivasyonlara yol açar. Örneğin Li. Fraumeni Sendromunda, P53 geni germlerde mutasyona uğrar ve etkilenmiş bireyler yüksek bir kalıtsal kanser riski taşırlar. Böyle bireylerin %50'si 30'lu yaşlarda %90'ı 65 yaşında kanser geliştirirler. Tümörler erken göğüs kanseri, beyin tümörleri, adrenokortikal karsinomlar, lösemiler, sarkomları kapsar. Her iki P53 alelli inaktive edilmiş olan fareler 10 aylıkken tümör geliştirirler. P53 geni 17p13 kromozomunda lokalize olmuştur ve transkripsiyon faktörü olduğu düşünülen 393 amino asit kalıntılı bir nükleer fosfoproteini kodlar. Normal fizyolojik koşullar altında P53 proteini bütün hücrelerde düşük konsantrasyonlarda mevcuttur. Bununla beraber hücreler çift iplik kırılması gibi bir DNA hasarına rastladığı zaman, P53 protein düzeyi hızla artar (bazen 60 kat ve daha

fazla) yükselmiş P53 protein düzeyi hücreler üzerinde iki farklı ve ayrılabilir biyolojik etkiye sahiptir. Hücre siklusunun G1 'de tutulmasına veya apoptoza uğramasına yol açar. Hücre siklus tutulmasına P21 ve gadd49 adı verilen 2 gen ekspresyon artışının neden olduğuna inanılmaktadır. P21 geni siklin bağlı kinazların güçlü bir inhibitörüdür. Bu da hücre siklüsünü yürüten bir enzimdir.p21 proteini ayrıca replikasyon için gerekli olan proliferatif hücre nükleer antijenine bağlanır. Ve onu inaktive eder. Bu etki Gadd 45 proteinince de paylaşılır. Halen p53ce aktive edilen genler arasında hangisinin apoptotik cevaba katıldığı bir soru işaretidir. Bax ve fas adı verilen 2 pro-apopitotik genin antiapopitotik bcl-2 gibi p53 ce uyarılan apoptozisde rol oynaması mümkündür. Reaktif oksijen türleri oluşturan enzimleri kodlayan bazı genlerin p53ce uyarıldığı bulunmuştur,böyle genler apoptotik sürece katkıda bulunabilirler.Bütün p53 bağlı apoptozun gen aktivasyonuna gereksinimi olmayabilir.Mutant p53 transaktive edilemiyebilir. Örneğin HeLa hücrelerinde apoptoz hala yapılabilir. Ayrıca bazı hücre tiplerinde,DNA hasarınca başlatılan p53 kökenli apoptoz RNA inhibitörlerinin veya protein sentezinin mevcudiyetinde oluşabilir. Bu durum p53ün apoptozu ya spesifik genleri aktive ederek ya da gen aktivasyonunu kapsamadan uyarılabileceği göstermektedir.p53 aktivasyonunun 2 hücresel cevabı malignant transformasyona karşı hücre savunmasınca bir kısmı olabilir.DNA hasara uğradığı zaman, p53 aktivasyonu G1 uyarımını durduracak ve bu DNA onarımına izin verecektir. Eğer apoptozis oluşursa, hasarlı hücreler elimine olurlar. Halen hücrelerin bu 2 süreç arasında nasıl seçim yaptığı bilinmemektedir.Buradan yola çıkarak p53 mutasyonlarının kanser patogenezinde rol oynadığı söylenmektedir. Bütün insan kanserlerinin yaklaşık % 50-60'ı p53 mutasyonlarını kapsar. Böyle tümörlerin çoğu, p53 allellerinin biri missence sence mutasyonla etkilenmişken diğer allel genellikle defekt olmuştur (Heterozigosite kaybı), ve bu p53 fonksiyonunun tümünden kaybına yol açar. Bu yüzden p53 fonksiyon kaybının kanser gelişimi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. İkincisi, normal p53 fonksiyonunu kaybeden hücreler mutasyonla, gen amplikasyonları veya kromozomal düzenlemelerde genomik instabilitelerin delilidir. Yalnızca p53 fonksiyon kaybı doğrudan kansere neden olmaz fakat genetik aberasyonların birikmesine izin vererek tümör onkogenez riskini artırır. Kanser riski normal p53 gen ekspresyonu olduğu halde eğer p53 protein fonksiyonu herhangi bir nedenle etkilenmemişse de artabilir. Onkogenik olduğu bilinen pekçok DNA virüsü p53 fonksiyonunu bozan proteinler

üretebilirler. Serviks kanserine neden olan insan papilloma virüsünün E6 proteinini p53 proteinine bağlanmakta ubiquitin yoluyla degradasyonu ilerletmektedir. Yine adenovirüsün E1B-55K onkoproteini p53 e bağlanır ve inaktive eder. Yani p53 gen ekspresyonundan bağımsız olarak viral proteinlerce p53 fonksiyon bozulumu viral karsinogenezde önemli bir basamaktır. Hücresel proteinlerde p53 fonksiyonunu etkileyebilir. p53 uyarıcı gen mdm-2 tarafından kodlanan nuklear bir protein p53 proteinine bağlanma ve onu inaktive etme yeteneğindedir. Fizyolojik koşullar altında mdm-2 proteininin p53 fonksiyonunun feedback düzenlemesini sağladığına inanılır, ancak aşırı eksprese olma durumunda p53 fonksiyonu bozulur ve tümör riski artar. Bu durum insan sarkomlarında rapor edilmiştir. Kısaca p53 genomik polis gibi işlev görür. Hasar saptandığında p53 hücre proliferasyonunu durdurur veya apoptozu uyarır böylece oluşan genetik hatalar önlenir işe p53 ün fonksiyonu karıştığında arkadan kanser beklenir.

Bcl-2 ailesi:

bcl-2 geni B-hücreli non-hodkin lenfomalar üzerine yapılan çalışmalarda keşfedilmiştir. Böyle tümörlerin yaklaşık %85'inde bcl-2 geninin kromozom 18q21 deki normal pozisyonunda güçlü bir immünoglobulin ağır zincir promotörü etkisi altında bulunan kromozom 14q32'ye transloke olduğu bulunmuştur. Başlangıçta lenfomaların aşırı ekspresyonu yüzünden, bcl-2'nin başka bir onkogen olduğu düşünülmüş ancak sonraki çalışmalar gen ürününün ana etkisinin hücre proliferasyonunu inhibe etmek değil hücre yaşamını uzatmak olduğunu göstermiştir. Şimdi bcl-2 gen ürününün dış mitokondrial membran, nuklear zarf ve Endoplazmik Retikulumla tutunan 239 amino asit kalıntısı içeren 25 kilodaltonluk bir transmembran proteini olduğu bilinmektedir. Özellikle proliferatif hücreler (hematopoietik hücreler ve epitel) ve uzun yaşayan hücreler (nöronlar) olmak üzere pek çok dokuda bulunmuştur. Fizyolojik rolü tam olarak bilinmemekle beraber olgun periferik B ve T lenfositlerinin yaşamının sürdürülmesinde rol aldığı görülmektedir. Bcl-2 proteininin ana biyolojik etkisi apoptotik hücre ölümünü bloke etme yeteneğidir. Örneğin uv ve gama radyasyonu, ısı, iskemi, glukokortikoidler, kalsiyum iyonoforları, serbest radikaller, kemoterapik ajanlar, oksidanlar, viral enfeksiyonlar ve büyüme faktörleriyle uyarılan apoptozu bloke ettiği gösterilmiştir. Bcl-2'nin apoptozu bloke etme

mekanizması oldukça karmaşıktır. Yakın çalışmalar bcl-2'nin sitokrom-C'nin mitokondriden sitoplazmaya salınımını bilettiği düşünülmektedir ki bu süreç apoptotik süreç esnasında kaspasların aktivasyonu için gereklidir. Sit-C mitokondriden salındıktan sonra apoptotik proteaz aktivite edici faktör-1 (Apaf-1) gibi diğer sitozolik faktörlerle işbirliği yapar. Apaf-1 c.eleganslarda kaspasları aktive eden Ced-4'ün memelideki homologudur. Bcl-2 homologlarının bazıları fiziksel olarak diğerlerine bağlanabilir ve homo ya da heterodimer oluşturabilirler. Bcl-2 proteinin bcl-xl, bcl-xs, md-1, A1, Bax ve Bad e bağlandığı gösterilmiştir. Bax, bcl-2, bcl-xl, md-1 ve A1 ile dimer oluşturur. Böyle kompleks etkileşimlerin biyolojik önemi henüz araştırılmaktadır. Bir modele göre hücre apoptozu bax/bax homodimer oranlarının bcl-2/Bax heterodimer oranlarıyla düzenlediğidir. Bcl-2'nin bax'a bağlanarak antiapoptotik etki gösterdiğine inanılmaktadır. Ancak bcl-2 doğrudan apoptozu bloke etme yeteneğine sahiptir. bcl-2 ailesinde neden bu kadar çok antiapoptotik ve preapoptotik faktörlerin mevcut olduğu bilinmemektedir. Bcl-xl ile dimerize olan ve yaşam etkisini bloke eden preapoptotik bad proteini bir örnektir. Hücreler büyüme faktörleriyle muamele edildiği zaman, Bad fosfoinozotid 3' kinaz yoluyla fosforillenir ve fosforillenmiş Bad Bcl-xl'e bağlanmaz, bcl-xl de hücre yaşamını sürdürmek üzere salınır. Böylece Bad, bcl-2 aile proteinlerinin ekstraselüler yaşam sinyal bağlantılarında rol oynar ve ekstraselüler sitokinler ve büyüme faktörleri hücre ölümünü inhibe etmek için bcl-2 ailesini ateşlerler.

Bcl-2 aile proteinlerinin kanserle ilişkisi nedir?

- 1- 1- Artmış bcl-2 ekspresyonu yalnız başına malignant transformasyonuna neden olmak için yetersiz olabilir. Ancak hücre yaşamlarının uzamasıyla ilave mutasyonlara izin verilir, diğer genetik değişiklikler birikir ve bcl-2'nin kanser geliştirme riski artar.
- 2- 2- Bcl-2 ve bcl-xl'nin artmış ekspresyonu ekseriya insan malignancilerinde görülür. Örneğin bcl-2'nin yüksek düzeyleri tüm kanserlerin %50'inde, kollarrektal karsinomların %90'ında, B hücre lenfomalarının %85'inde nazofarengeal kanserlerin %80'inde mide kanserlerinin %60'ında ve küçük hücreli akciğer kanserlerinin %20'inde rapor edilmiştir. Böyle kanserlerin çoğunda bcl-2'nin yüksek düzeyi gen translokasyonuna bağlı değildir.

- 3- Kanserde anormal yüksek bcl-2 ekspresyonu ekseriya tedavi ile kanserin artmış rezistansı ile ilişkilidir ve prognozu zayıftır. Kanser tedavisinin hemen bütün formlarının kanser hücrelerinde apoptozu uyardığına inanıldığından bu sürpriz değildir. Artmış bcl-2 düzeyleri kemoterapik ajanlarca uyarılan apoptozu bloke etmeye meyileder.

Fas/FasL:

Fas aynı zamanda APO-1 olarak bilinir. Antikorla reaksiyona giren hücre yüzey antijeni apoptozu neden olan Fas/ Apo-1 antijenidir. Bu hücre membran proteini tümör nekroz faktör reseptör (TNFR) ailesine ait 325 a.a kalıntısı içerir. Fas ligantı denen endojen ligant sitotoksik T-Hücre hibridomadan izole edilmiştir ve 40 kd'lık glikozillenmiş bir membran proteindir. Nötral killer hücreler, aktive T lenfositler ve makrofajlarda bulunmuştur. Fas ligant Fas'a bağlandığı zaman apoptotik hücre ölümü saatler içinde uyarılır. Olay zamanının şu şekilde hücre ölümüne yol açtığına inanılmaktadır. Fas L Fas'a bağlanır, ligat Fas FADD denen (Fas ilişkili death domain proteini) hücresel proteini oluşturur. Bu Caspaz 8'e bağlanır , Caspazın aktivasyonu hücre ölümüyle sonuçlanır. Fas/ Fas L sistemi immün regülasyonda önemli rol oynar. İmmün cevaptan sonra aktive lenfositlerin eliminasyonunda, Timus dışındaki olan aktif T ve B hücrelerinin eliminasyonunda rolü vardır. Bozulmuş Fas/Fas L fonksiyonunun immün regülasyon üzerine etkisi Fas geni ile (veya Fas L geni). Fas/Fas L sistemi ayrıca sitotoksik lenfositler tarafından viral olarak infekte hücrelerin öldürülmesini de kapsar. Fas/Fas L sistemi ve kanser arasında bir ilişki var mıdır? Prensipde apoptozu uyaran herhangi bir sistemin bozulması kansere neden olur. Ancak, Fas/Fas L sistemi kanser gelişiminde p53 ve Bcl-2 gibi bir etki göstermemektedir. Fas/Fas L sistemi tümorogenezi i başka yoldan iletebilir. Bazı tümör hücreleri Fas L' i eksprese eder ve Fas eksprese eden naturel killer hücreleri öldürür. Fas L'nin eksprese edilmesi tümör hücrelerinin immün sisteme karşı atak yeteneğini geliştirir. Böylece, ya primer lokalizasyon yerinde yada metastaz bölgesinde immün yıkımdır. Bu süreç melanomlar, karaciğer kanserleri ve kolon kanserlerinde tanımlanmıştır.

c-myc:

Protoonkogen c-myc hücre proliferasyon düzenlenmesinde yer alır. Örneğin; fibroblastlar büyüme faktörlerince uyarıldığında, c-myc uyarılır ve hücreler proliferasyon olur. Büyüme faktörlerinin çekilmesi c-myc'i down regüle edecek, hücreler siklüsün G1 fazında takılacaktır. C-myc ayrıca apoptozun indüksiyonunda rol alır. Örneğin, eğer c-myc rat fibroblastlarında aşırı eksprese edilirse, hücreler G1'de tutulmak yerine apoptoza uğrar. Büyüme faktörlerinin mevcudiyetinde c-myc ekspresyonu hücrelerin proliferasyonuna neden olacaktır. Büyüme faktörlerinin yokluğunda ise c-myc ekspresyonu apoptozu uyarmaya devam edecektir. C-myc ile uyarılmış apoptoz kalıtıma gerek duyar. C-myc ekspresyonunun apoptozu uyardığı koşullar altında Fas death pathway bloke edilir. Bu da apoptotik cevabın indirgenmesine yol açar. C-myc ve kanserin ilişkisi nedir? C-myc hücre proliferasyonunu ilerlettiği için iyi bilinen bir onkogendir. Ancak apoptozu da uyarır. Böylece c-myc hücre büyümesi ve apoptoz arasında bağlantı işlevi görür. Bu bağlantı doku homeostazında, hücre ölümü ve proliferasyonu arasında denge sağlayabilir. C-myc'in aşırı ekspresyonu eğer apoptotik mekanizmalar aşırı ekspresyonun blokasyonu durumunda ise kansere neden olabilir. Birçok kanser hücrelerinde c-myc'in aşırı ekspresyonu Fas mediated hücre ölümüne duyarlılığın kaybına neden olur.

Kalıtımsal meme kanseri ve *BRCA1* - *BRCA2* genleri

Doç. Dr. Tayfun Özçelik
Bilkent Üniversitesi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Meme kanseri kadınlarda en sık rastlanan kanserlerden biridir. Doğuştan gelen gen mutasyonlarının meme kanserlerinin yaklaşık %5 – 10'undan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Over kanserinde meme kanseri ile ilişkili olan ve kalıtımsal komponenti olan bir hastalıktır. Kalıtımsal meme kanserine ile ilişkili iki gen tanımlanmıştır. Bunlar 17q12-21 kromozom bölgesine haritalanmış olan *BRCA1* (*Breast Cancer 1*) ve 13q12-13 kromozom bölgesinde bulunan *BRCA2* (*Breast Cancer 2*) genleridir. Bu genlerin kalıtımsal meme kanseri ile ilişkisini belirlemek amacıyla yapılan popülasyon genetiği çalışmalarında değişik toplumlarda *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyonlarının sıklıklarının önemli farklılıklar gösterdiği görülmüştür. Örneğin üç veya daha fazla kadının meme ve/veya over kanseri hastası olduğu ailelerde yapılan çalışmalarda *BRCA1* mutasyonu sıklığı İzlanda'da %9 iken Rusya'da %79 olarak bulunmuştur. Yine *BRCA2* geni içinde önemli farklılıklar saptanmıştır. Şöyle ki yukarıda belirtilen özelliklere sahip Finlandiya'lı ailelerde %8, İzlanda'lı ailelerde ise %64 oranında mutasyon tespit edilmektedir.

Meme kanseri Türk kadınlarında da en sık rastlanan kanserler arasında yer almaktadır. Türk toplumunda meme/over kanserine neden olan gen mutasyonları hakkında elimizde yeterli bilgiler bulunmamaktadır. *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyonlarının meme ve/veya over kanserleri ile ilişkisini saptamak amacıyla dört gruba ayrılan toplam 50 adet hastada bu genlerin seçilmiş bölgelerinde heterodupleks analizi ve direkt DNA dizilemesi ile mutasyon taraması yaptık. Hastalar kalıtımsal meme ve/veya over kanseri (n=6), ailesel meme ve/veya over kanseri (n=7), erken yaş meme kanseri (n=27) ve erkek meme kanseri (n=10) gruplarına ayrılıyordu. En az iki adet birinci derece akrabasında, veya hastanın kendisi bilateral meme kanseri ise bir adet birinci derece akrabasının memc/over kanseri olan hastalar kalıtımsal gruba alındılar. Ailesinde bir kişinin daha meme ve/veya over kanseri olduğu hastalar ailesel grubu oluşturdular. Aile hikayesi göze alınmadan seçilen ve yaşları 35'in altında olan kadınlar ise erken yaş meme kanseri grubunda yer aldılar. Kalıtımsal grupta erken protein sonlanmasına neden olan iki adet, bir tanesi ilk kez görülen (6880 insG) ve diğeri daha önce rapor edilmiş (3034 delAAAC), *BRCA2* mutasyonu (%33) saptandı. Erken meme kanseri grubunda *BRCA1*'de erken protein sonlanmasına neden olan yeni bir mutasyon (1200 insA) ve bir yanlış anlam mutasyonu (2080A→G) bulundu (%7). Böylece toplam dört adet hastalığa neden olan *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyonu (%8) saptanmış oldu. Bunun yanında 23 hastanın *BRCA1* geninde dizi farklılaşması görüldü. Bu sonuçlar Türk toplumunda görülen kalıtımsal meme kanserlerinin bir bölümünden *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyonlarının sorumlu olduğunu ortaya koydu.



ALTAN GÜNALP ÖDÜLLERİ

COMPETITIVE-ARMS: RAPID AND COST-EFFECTIVE DETECTION OF
THE COMMON *CONNEXIN 26*(Cx 26) 35DelG MUTATION IN THE
TURKISH PATIENTS

Ersan KALAY¹, Refik CAYLAN², Nilüfer SAHİN¹, Mustafa CALAPOGLU³,
Ahmet KARAGUZEL¹

¹Department of Medical Biology, Medical School of Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey

²Department of Otolaryngology, Medical School of Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey

³Department of Biochemistry, Medical School of Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey

e-mail: ersankalay@hotmail.com

Mutations in the *Connexin 26* (GJB2) gene are the major cause of autosomal recessive non-syndromic hearing loss. A single mutation, 35delG, was found in most recessive families and sporadic cases of congenital deafness, among Caucasians, with relative frequencies ranging from 28% to 63%. Mutation 35delG is difficult to detect because it lies within a stretch of six guanines flanked by thymines. In the present study, we developed and optimized a simple competitive amplification refractory mutation system which easily discriminates normal and 35delG alleles. By using this method, we screened 96 unrelated autosomal recessive non-syndromic congenital deaf patients from Turkish families having at least 2 affected individuals. Homozygous 35delG was found in 20 (20.8%) patients and heterozygous 35delG was found in 4 (4.2%) patients. Our data show that the frequency of 35delG mutation in Turkish patients with autosomal recessive non-syndromic hearing loss is much lower than the other Mediterranean background populations. We conclude that competitive ARMS with the ability to detect 35delG mutation in a single polymerase chain reaction and polyacrylamide gel electrophoresis provides a simple, sensitive, rapid and cost-effective method for the diagnosis and the carrier detection of common deafness mutation 35delG in the *Connexin 26* gene.



SERUM PARAOXONASE AND ARYLESTERASE ACTIVITIES IN INDIVIDUALS WITH NON INSULIN DEPENDENT DIABETES MELLITUS

Belgin SÜSLEYİCİ¹, Monique Vincent VIRY², Bernard HERBETH², Melek ÖZTÜRK³, Selma YILMAZER³, Hüsrev HATEMİ⁴, and Gerard SIEST²

¹ Kadir Has University, Medical Faculty, Medical Biology and Genetics Department, Istanbul-TURKEY

² Centre de Medecine Preventive, Vandoeuvre Nancy-FRANCE

³ Istanbul University, Cerrahpaşa Medical Faculty, Medical Biology Department, Istanbul-TURKEY

⁴ Istanbul University, Cerrahpaşa Medical Faculty, Endocrinology and Metabolism Department, Istanbul-TURKEY

Paraoxonase is a high-density-lipoprotein-associated enzyme capable of hydrolysing lipid peroxides. Thus might protect lipoproteins from oxidation. It has two isoforms, which arise from a glutamine (A isoform) to arginine (B isoform) interchange at position 191. This substitution is responsible for different serum activities which can be measured by the ratio salt-stimulated PON/arylesterase reflecting the differential activities observed according to the different phenotypes. The serum activity of PON varies among populations of different ethnic background. We measured basal and salt-stimulated paraoxonase activities using paraoxon as substrate in absence or presence of NaCl and arylesterase activity using phenylacetate as substrate. Our aim was to determine the distribution of paraoxonase activities and their effects over lipids and apolipoproteins in 119 NIDDM and 111 healthy Turkish subjects. Both the basal and salt-stimulated paraoxonase activity were lower in diabetics compared to control, $p<0.001$, whereas no significant difference was observed for arylesterase between case and control. The ratio of serum PON activity (units per liter) divided by apoA-I was also significantly lower in the patients than controls. This data suggests that PON polymorphisms influence apoA-I concentrations in type 2 diabetics. The frequency of A allele was significantly high, $p<0.01$ in diabetics compared to control, whereas the frequency of B allele was lower, $p<0.01$ in diabetics compared to control. AA phenotype was found high, $p<0.05$ in male diabetic individuals, whereas no significance was found for females. There was a correlation between basal PON and apoA-I levels in controls ($p=0.01$), but not in diabetics. The same correlation was observed also for stimulated-paraoxonase and apoA-I levels ($p=0.048$). A significant correlation was detected for arylesterase and apoA-I levels both in diabetics and controls respectively as $p=0.007$, $p=0.001$. No significant correlation was found between basal-PON, stimulated-PON, arylesterase and HbA1c.

INCREASED CELL PROLIFERATION AND R. MSP1 FRAGMENTATION
INDUCED BY 5-AZA-2'-DEOXYCYTIDINE IN RAT TESTES RELATED TO
THE GENE IMPRINTING MECHANISM

Ö. ÖZDEMİR¹, H.E. BULUT², M.KORKMAZ³, B.ONARLIOĞLU², A.ÇOLAK¹

¹ Department of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, Cumhuriyet University, Sivas, TURKEY

² Department of Histology-Embryology, Faculty of Medicine, Cumhuriyet University, Sivas, TURKEY

³ Department of Medical Biology, Health High School, The University of Balıkesir, TURKEY

Summary

DNA methylation is one of the crucial mechanisms for cellular and tissue differentiation during developmental stages in mammals. 5-aza-2'-deoxycytidine, a specific cytosine DNA Methyltransferase inhibitor, is known to cause DNA hypomethylation in CpG, CpNpG and CCGG sequences. Therefore the present study was designed to determine the effects of 5-aza-2'-deoxycytidine on the germinal cells of the adult rat testicular tissue.

Rat testicular tissues from the 5-aza-2'-deoxycytidine treated experimental and non-treated control groups were processed for light microscopy and also for genomic DNA isolation assays. The isolated genomic DNAs were digested with R.MspI in order to determine the methyl pattern differences in the enzyme cognate CCGG sequence.

Testicular tissues from treated rats showed increased cell proliferation when investigated at the light microscopical level. On the other hand, genomic DNA of these proliferative tissue showed high fragmentation sizes of R.MspI digestion when compared to controls. While the R.MspI digested control group DNA fragmentation condensed at approximately 4700-5100 bps size, the experimental group DNA fragmentation was condensed at 700-900 bps size. In addition, 5-aza-2'-deoxycytidine has effects on increased cell proliferation via the loss of somatic *de novo* gene imprinting. These results imply that abnormally imprinted normal somatic cells in mammals are susceptible to epigenetic modification. These results also suggest that the genomic DNA of testicular tissues from control rats is resistant to R.MspI while DNA from the experimental group testicular cells demonstrating high proliferation rate could not resist to R.MspI digestion due to DNA hypomethylation in CCGG sequence.

In conclusion, it could be suggested that the reversal of gene imprinting in germinal cells may cause an increased cellular proliferation and R.MspI fragmentation when induced by 5-aza-2'-deoxycytidine.

HLA-DRB1*15 AND PEDIATRIC APLASTIC ANEMIA

*Dr. Fatma S OĞUZ¹, Assoc. Prof. Dr. Nevin YALMAN², Dr A Sarper DİLER¹,
Dr Rüçhü OĞUZ¹, Prof. Dr. Sema ANAK¹, Dr M Teyfik DORAK³,
Prof. Dr. Mahmut N CARİN¹*

¹*Dept of Medical Biology, Istanbul University, Istanbul Medical School,
Istanbul, 34390 TURKEY*

²*Dept of Haematology-Oncology and Our Children Leukaemia Foundation Health Center;*

³*Dept of Epidemiology and International Health, School of Public Health, University of
Alabama at Birmingham, AL 35294-0022, USA*

SUMMARY

Background and Objective: Previously reported associations of HLA-DRB1 alleles with severe aplastic anemia (SAA) suggest genetically determined susceptibility and an immunological background.

Design and Methods: To examine HLA-DRB1 association in this disease, we investigated its polymorphism in pediatric SAA patients (n=33) and in healthy controls (n=97) using molecular genotyping by polymerase chain reaction.

Results: We found a strong positive association HLA-DRB1*15 (P=0.0001; relative risk = 5.10; 95% CI= 2.24 to 11.59) and a negative association with DRB1*13 (P=0.045; relative risk= 0.21, 95% CI=0.05 to 0.97). A paradoxically favorable influence of the susceptibility allele on the clinical response to immunosuppressive therapy has also been noted. Seventeen patients received immunosuppressive therapy and 16 patients underwent bone marrow transplantation from HLA-matched siblings. The overall response rates to immunosuppressive treatment in DRB1*15-positive and DRB1*15-negative patients were significantly different (83.3% vs 20.0%; P=0.02).

Interpretation and Conclusion: These results confirmed HLA-DRB1*15-associated susceptibility to SAA along with responsiveness to immunosuppressive treatment in pediatric patients. The findings were interpreted as indicator of an HLA-DRB1*15-mediated immune mechanism in a subgroup of SAA which benefits from immunosuppressive treatment.

THE EFFECTS OF *BRASSICA OLERACEAE* VAR *CAPITATA* ON EPIDERMAL
GLUTATHIONE AND LIPID PEROXIDES IN DMBA-INITIATED-TPA-
PROMOTED MICE

T. İSBİR, İ. YAYLIM, M. AYDIN, Ö. ÖZTÜRK, H. KOYUNCU, Ü. ZEYBEK,
B. AĞAÇHAN, H. YILMAZ

*University of Istanbul, Institute for Experimental Medical Research, Department of Molecular
Medicine, Istanbul, TURKEY*

The objective of the present study was to determine if modulation of GSH-dependent antioxidant protective system by *Brassica oleraceae* var *capitata* might inhibit the molecular mechanism of skin tumor promotion. Materials and Methods: In a two stages skin carcinogenesis model, the protocol used included a single topical application of 200 nmol of the initiator 7, 12-dimethyl-benz(a)anthracene (DMBA) to the backs of mice, followed 1 week later by promotion with 10 nmol of 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13 acetate (TPA) twice weekly for 30 weeks. In addition to this regimen, 0.1 g/L brassica extract was added water week prior to the initiating dose of DMBA in the treatment group. Tissue glutathione (GSH) contents and levels of lipid peroxidation products (measured as thiobarbituric acid (TBA)-reactive substances) were quantitated in the skin tumors generated by the initiation-promotion protocol. Results: It was observed that the tumor incidence and tumor multiplicity in the treatment group was highly significantly low compared to the first group of mice ($p < 0,001$ and $p < 0.001$, respectively). In the treatment group, GSH content in the papillomas was higher than in the non-involved skin surrounding the papillomas. Conclusions: We suggest that the anticarcinogenicity of *Brassica* may be linked to its ability to facilitate or enhance the activity of the natural GSH-dependent antioxidant protective system of the epidermal cells during the later stages of skin tumor promotion.

**IS THERE ANY ASSOCIATION BETWEEN APOLIPOPROTEIN E AND
ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME GENE POLYMORPHISM IN
PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE AND DEMENTIA IN
TURKISH POPULATION?**

Bedia AĞAÇHAN, PhD; Hülya YILMAZ, PhD; Makbule AYDIN, PhD; Turgay İSBİR, PhD

*¹Institute of Experimental Medical Research, Department of Molecular Medicine, University of
Istanbul, Istanbul, TURKEY*

ABSTRACT

The genetic factors which predispose individuals to dementia in old age have not been fully defined. The ϵ 4 allele of the gene encoding apolipoprotein E (Apo E) is the only well replicated genetic risk factor for non-autosomal dominant forms of Alzheimer's disease (AD). Recent reports indicate that the Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Deletion (D) polymorphism is associated with a high risk for coronary heart disease and may effect longevity/survival into old age. Since there is no study concerning polymorphism of the Apo E and ACE gene and dementia subtypes in Turkish population, we have examined the these polymorphism in patients with dementia and Parkinson's disease.

We determined the apo E and ACE genotypes for 21 patients with Parkinson's disease (PD), 45 patients with dementia and 29 age-matched healthy elderly controls in Turkish population. PCR (Polymerase Chain Reaction), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), and agarose gel electrophoresis techniques were used to determine the apo E and ACE genotypes. The apo E ϵ 4 allele frequency was 0.047 for PD, 0.133 for dementia and 0.017 for controls. There was a significant association of Apo ϵ 4 with dementia, but not with PD. And we found no association between ACE genotypes and dementia and PD.

aygachanb@yahoo.com

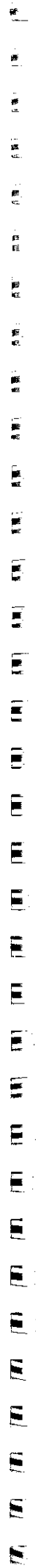
IS ϵ 4 ALLELE OF APOLIPOPROTEIN E ASSOCIATED WITH MORE
SEVERE END-ORGAN DAMAGE IN ESSENTIAL HYPERTENSION?

Hülya YILMAZ, Turgay İSİRİ, Bedi AĞAÇHAN and Makbule AYDIN

*Institute of Experimental Medical Research, Department of Molecular Medicine, University of
İstanbul, İstanbul, TURKEY*

The aim of the present study comparing patients with mild to moderate hypertension with controls, was to explore a possible association between hypertension-related target organ damage and evaluation found in the gene encoding apolipoprotein E (apo E) genotype. Detailed medical history was recorded and physical examination was performed for all patients in the study (88 hypertensives, 63 normotensive controls). PCR (Polymerase Chain Reaction), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) and agarose gel electrophoresis techniques were used to determine the apo E genotypes. The frequencies of apo ϵ 2, apo ϵ 3, and apo ϵ 4 alleles were 3.97, 88.06. and 9.95%, respectively in the hypertensive group. The frequencies of apo ϵ 2, apo ϵ 3, and apo ϵ 4 alleles were 5.5, 92.0. and 2.38%, respectively in the control group. There were about twice as many individuals in the heterozygote hypertensive group who had apo E3/4 as compared to the control group (7.30 vs. 2.38%) ($p=0.07$). The hypertensive patients who were carriers of the apo ϵ 4 had significantly higher organ damage (left ventricular hypertrophy ($p < 0.001$), dilated left atrium ($p < 0.05$), retinopathy ($p < 0.05$)) as compared to those who were not carriers of apo ϵ 4. These results showed a trend for the ϵ 4 allele to be associated with a higher prevalence of target organ damage in patients with mild to moderate hypertension.

SÖZLÜ SUNUMLAR



S-1:

TÜRK TOPLUMUNDA NF1 GENİ POLİMORFİK MARKERLARINDA SAPTANAN YENİ ALLELLER

Sibel OĞUZKAN¹, Mine CİNBİŞ², Şükriye AYTER¹, Baran ANLAR³, Sabiha AYSUN³

¹ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

² Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalı, DENİZLİ

³ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Nöroloji Bilim Dalı, ANKARA

Nörofibromatozis tip 1 (NF1); otozomal dominant olarak kalıtılan, insidansı 1/4000, penetransının tam, ekspressivitelerinin değişkenlik gösterdiği nörokutanöz bir hastalıktır. Hastalıktan sorumlu olan NF1 geni kromozom 17q11.2'de lokalize 350 kb uzunluğunda bir gen olup 60 ekzon içeren bir mRNA kodlar. Gen ürünü nörofibrominin 360 amino asitlik bölgesi GTPaz aktive edici proteinlerle ilişkili bölge olarak adlandırılır. Bu protein Ras onkogeninin “down” regülatörü olduğundan NF1 geni tümör supressör genidir.

Komplikasyonları nedeniyle yaşam kalitesini düşüren ve tümörler nedeniyle hayatı tehdit edici olan bu hastalığın moleküler analizi önem taşımaktadır. Ancak genin büyük olması, mutasyonların heterojen oluşu (246 mutasyon), transkripsiyon ve translasyon sonrası modifikasyonlar direkt analizi güçleştirmektedir. Bu nedenle indirekt analiz yöntemi ile hastalığın aile içinde geçişini takip ederek presemptomatik ve prenatal tanı verilmesi önem kazanmaktadır.

Araştırmamızda 12 NF1 ailesi çalışma kapsamına alınarak gen dışı ve gen içinde bulunan polimorfik markerlar kullanıldı. Bu markerlar; genin proksimalinde bulunan pHHH202, p11.3C4.2, distalinde bulunan pEW206, pEW207, p2.F9.8 isimli RFLP markerlar ve gen içinde 50 kilobazlık bir bölgeyi kapsayan Alu (AAAT tekrarı), EVI-20 (CA tekrarı), IVS38GT53.0 (GT tekrarı), IVS27AC24.8 (AC tekrarı) mikrosatellitlerdir. Her aile için haplotip analizi yapıldı. Bu çalışma sonucunda EVI-20 ve Alu markerlarında diğer toplumlarda görülmeyen yeni alleller gözlemlendi. Alu marker için 395 baz çiftlik bir allel saptanırken EVI-20 marker için 213 ve 215 baz çiftlik iki yeni allel tespit edildi.

S-2:

ASTIMLI HASTALARDA ANJİOTENSİN KONVERTİNG ENZİM (ACE) GENİ
İNSERSİYON/DELESYON (I/D) POLİMORFİZMİ

*Meral URHAN¹, İrfan DEĞİRMENCİ¹, Emel HARMANCI², Hasan V. GÜNEŞ¹,
Muzaffer METİNTAŞ², Ayşe BAŞARAN¹*

¹ Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, ESKİŞEHİR

² Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, ESKİŞEHİR

Bu çalışmanın amacı; Eskişehir yöresinde astımlı hastalarda ACE gen polimorfizmi insidansını belirlemek ve bu hastalık ile ACE gen polimorfizmi arasında gerçekten bir bağlantı olup olmadığını tesbit etmek ve aynı zamanda ACE gen polimorfizmi ile serum ACE aktivitesi arasında bir ilişki olup olmadığını belirlemektir. Çalışmada Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalında astım tanısı konmuş 100 astımlı hasta ile kontrol amacıyla 88 sağlıklı kişi olmak üzere toplam 188 kişiden oluşan araştırma grubu bireylerinden elde edilen genomik DNA'lar kullanıldı. Genomik DNA'lar venöz kandan tuz yöntemi kullanılarak elde edildi. Genomik DNA'lar ACE geninin 16. intronunda 287 bp'lik DNA fragmentinin varlığı veya yokluğuna göre belirlenen I/D polimorfizminde genotipleri saptamak amacı ile, PCR yöntemi kullanılarak amplifiye edildi. PCR ürünleri elektroforeze tabi tutularak CCD kamera ile değerlendirildi. Ayrıca serum ACE aktiviteleri de ACE kiti kullanılarak ölçüldü. Yapılan çalışmadaki veriler Ki kare testi, t testi ve tek yönlü varyans analiz yöntemi (ANOVA) ile değerlendirildi. Sonuç olarak; kontrol grubuna göre, astımlı hastalarda ID genotipinde önemli derecede bir azalma gözlemlendi. Gruplar arası ACE geni genotip dağılımı ile ACE aktivitesi karşılaştırıldığında, II genotipine sahip bireylerdeki ACE aktivitesinin DD genotipine sahip bireylerdeki ACE aktivitesine göre önemli derecede azaldığı gözlemlendi. Kontrol grubuna göre, astımlı hastaların ACE aktivitesinde artma gözlenmekle birlikte önemli bir farklılık belirlenemedi.

S-3:

**MEME VE OVER KANSERİNDE CYP 17 GEN (T—C) POLİMORFİZMİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Hülya YAZICI¹, Seden KÜÇÜCÜK², Pınar SAİP², Nejat DALAY¹.

¹Ü. Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL,

²Ü. Onkoloji Enstitüsü, Klinik Onkoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL.

Meme ve over kanseri kadınlarda en sık görülen kanser tipleridir. Türkiye’de 1994 istatistiklerine göre meme kanseri insidansı 6.4/100000, over kanseri insidansı ise 1.88/100000 dir. Söz konusu yıl için kadınlarda görülen kanserlerin % 23 gibi büyük bir çoğunluğunu meme kanseri oluştururken ikinci sırayı % 7 ile over kanseri almaktadır. Bugün meme kanserinin %10 unun, over kanserinin ise % 10-15’inin kalıtsal, geri kalanın ise sporadik olduğu kabul edilmektedir. Günümüzde kalıtsal meme ve over kanserinde rol oynayan BRCA1 ve BRCA 2 olmak üzere iki gen bilinmektedir. Bugüne kadar bu genlere ilişkin 500 den fazla mutasyon tanımlanmıştır. Anlaşıldığı gibi meme ve over kanserinin büyük bir çoğunluğunda durumun hangi nedenle gerçekleştiği halen bilinmemektedir. Söz konusu bu iki genin dışında başka genlerin de bu hastalığın oluşumunda rol oynadığı ayrıca erken yaş meme kanseri oluşumunda daha farklı mekanizmaların işlerlik kazandığı düşünülmektedir. CYP 17 geni steroid metabolizmasında ve dolayısı ile meme gelişiminde birden fazla rolü olan önemli bir gendir. Bu gendeki bir polimorfizmin promotörde aşırı ekspresyona sebep olduğu ve genc kadınlarda meme kanser riskini arttırdığı bildirilmiştir. Çalışmamızda, BRCA1 ye BRCA2 mutasyonları taşıyıp ve taşımadığını daha önceden bildiğimiz 50 erken yaş meme kanserli ye 50 over kanserli hastanın DNA örneklerinde CYP 17 genindeki T—C polimorfizmi ve bu polimorfizmin çeşitli klinik parametrelerle ilişkisi araştırılmıştır.

S-4:

HLA-B ALELLERİNİN DİMORFİK PRİMERLER KULLANILARAK

SBT YÖNTEMİ İLE SAPTANMASI

Fatma Savran OĞUZ¹, Lee Ann BAXTER-LOWE²

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

² *UCSF Dept. of Surgery, Immunogenetic & Transplantation Laboratory, CA USA*

Hasta ve donör arasındaki HLA (Human Leucocyte Antigen)'nin genetik farklılığı graft versus host hastalığı, graft rejeksiyonu veya hastalığın nüks etmesi gibi transplantasyon sonrası olayları etkiler. Bu nedenle kesin HLA tiplemesi kemik iliği transplantasyonlarında son derece önemlidir. Kord kanı transplantasyon projesi (COBLT) kapsamı içinde kord kanı örneklerinin HLA-A,-B,-DR tiplendirmesi SBT (Sequenced Based Typing)- DNA Dizi Analizi ile yapılmaktadır. HLA sınıf I (A,-B) alellerinin tiplendirilmesi amacı ile özellikle çok fazla polimorfik kısımlar içeren A ve B locus genlerinin ekson 2 ve ekson 3'ün dizi analizi ile yapılmaktadır. Tiplendirilmesi tamamlanmış olan örneklerde bazı heterozigot B alellerinin tam olarak ayrımlanamadıkları saptanmıştır.

Bu çalışma retrospektif olarak, tam ayrımlanamamış B lokus alelleri olan örneklerin, selektif amplifikasyon metodlarından biri olan dimorfik primerler kullanılarak, SBT ile yeniden araştırılması amacı ile yapılmaktadır. Çalışma halen devam etmekte olup ilk 20 vaka sonuçları değerlendirilmiştir.

Genomik DNA "Qiagen-DNA izolasyon" kiti ile izole edildi. PCR amplifikasyonu intron 1'de 75-77, CGG ve TGA pozisyonlarında dimorfik kısımlar (CG ve TA kısımları) için 5BIN1-TA ve 5BIN1-CG primerler ve lokus spesifik intron 3 reverse primer 3BIN3-37 kullanılarak yapıldı. Saflaştırılan PCR ürünleri, sekans primerleri (B lokus ekson 2F, ekson 2R, B lokus ekson 3F,ekson 2R) ve big dye terminators ile II. PCR aşamasından (cycle sequencing) sonra ABI 377 otomatik DNA sekans cihazında polyakrilamid gel üzerine yüklendi (ABI DNA Sequencing Software v 3.0 veya 3.3). Dendrogramlar ABI Match Maker, Match Tools ve MT Navigator Software programları ile analiz edildi.

Dimorfik primerler kullanılarak SBT ile tiplendirilmiş olan B alellerinin bir kısmının CG bir kısmının TA primerleri ile ayrımlandığı görüldü. Bu primerlerin diğer PCR'a dayalı HLA-B tiplendirme metodları içinde uygun olacağını düşünüyoruz.

ALL HASTALARINDA HLA-DR53 ANTİJEN SIKLIĞI

*Yeliz DUVARCI, Çiğdem KEKİK, Yalçın SEYHUN, Mahmut ÇARİN**İ.Ü. İst. Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji ABD. Çapa – İSTANBUL*

Lösemi, hematopoietik hücrelerin habis transformasyonu sonucu gelişen, heterojen bir hastalık grubudur. Morfolojik yönden lösemi, hastalığa tutulan hücre dizisinin tipine göre (myeloid ya da lenfoid) ve proliferen olan kan hücresinin genç ya da olgunlaşmış olmasına göre (akut ya da kronik) sınıflandırılır. Akut lenfoblastik lösemi (ALL) erişkin lösemilerinin %20 sini, çocukluk lösemilerinin %80 ini oluşturur. Lösemik hücrelerin kökenine göre T ve B olarak sınıflandırılır. B lenfosit kökenli ALL olguları, matür B-ALL ve B cell prekürsör ALL olarak iki ana gruba ayrılır. Çalışmamızda 334 ALL hastası ile, kontrol grubunu oluşturan 642 sağlıklı kişinin DR53 antijeni sıklığı açısından değerlendirildi. HLA-DR grubu için Polimerase Chain Reaction-Sequence Spesifik Primers (PCR-SSP) yöntemini kullanıldı. HLA-DR53 antijeni ,doku grubu değerlendirmelerinde DR4, DR7, DR9 antijenleri ile birlikte görülen internal kontrol antijenidir. Bu çalışmaların sonucunda 334 ALL hastasının 97 tanesinde (% 29) ve kontrol grubunu oluşturan 642 sağlıklı kişiden de 416 tanesinde (% 65) DR53 antijenini saptadık. Hasta grubunda DR4 antijenini % 15, DR7 antijenini %13 ve DR9 antijenini de %0,9 oranlarında, kontrol grubunda ise DR4 antijenini %24, DR7 antijenini %9 ve DR9 antijenini %0,8 oranlarında saptandı. Çalışmamızda, istatistiksel sonuçların elde edilmesinde ki-kare yöntemini uyguladık. Hasta ve kontrol gruplarının DR53 internal kontrolü ile Class II grubunun dağılımını incelediğimizde : DR7 antijeninin $p<0,0001$ değerini, DR4 antijeninin $p=0,0154$ değerini, DR9 antijeninin $p=0,3689$ değerini anlamlı olarak gösterdiğini saptadık. DR7 antijenini homozigot olarak taşıyan grupta $p=0,0005$ değerini anlamlı olarak saptarken, DR4 ve DR9 antijenini homozigot olarak taşıyan grupların istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gördük. DR4, DR7 ve DR9 antijenlerini DR53 internal grubu içinde genel olarak değerlendirdiğimiz zaman : DR53 antijenini homozigot olarak taşıyanların $p=0,0043$ değerini anlamlı olarak gösterdiğini saptadık. Bu nedenle yaptığımız bu çalışma, DR53 antijeninin homozigot halde bulunması ile ALL hastalığının birliktelik gösterdiğini düşündürdü.

S-6:

KRONİK LENFOSİTİK VE AKUT MYELOBLASTİK LÖSEMİLİ HASTALARDA TELOMERAZ ENZİM AKTİVİTESİNİN TAYİNİ

*Müjgan ÖZDEMİR¹, Hasan V. GÜNEŞ¹, Ayşe BAŞARAN¹, İrfan DEĞİRMENCI¹,
Didem COŞAN¹, Beyhan DURAK², Nurettin BAŞARAN²*

¹Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, ESKİŞEHİR

²Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Bilim Dalı, ESKİŞEHİR

Ökaryotik lineer kromozomların uçlarında yer alan ve tekrarlayan DNA dizileri ile özel proteinlerden oluşan telomerler, kromozom uçlarını yıkıma karşı korurlar. Telomer boyu, telomer proteinleri ve telomeraz enzim kompleksi tarafından kontrol edilir. Telomeraz aktivitesi, fetal ve ergin testisler, fetal ovaryum, tamir gören dokuların çoğalan hücreleri, hematopoietik kök hücreleri, lenfositler, saç folikülleri ve barsak kript hücreleri dışındaki normal somatik hücrelerde tayin edilememiştir. Bununla birlikte insan malignansilerinin %85'inde (örneğin; hematolojik malignansiler) yüksek telomeraz aktivitesi belirlenmiştir. Bu nedenle telomeraz aktivitesinin, kanser teşhisinde önemli bir marker olabileceği şüphülmemektedir. Çalışmamızda, yeni tanı 7 kronik lenfositik lösemi (KLL), 7 akut myeloblastik lösemi (AML) hastası ve 7 sağlıklı kişiden elde edilen toplam 21 periferik kan örneğinde telomeraz aktivitesi, TeloTAAGGG Telomerase PCR ELISAPLUS (Roche) kiti kullanılarak tayin edildi. PCR reaksiyonunun doğruluğundan emin olmak için PCR ürünleri poliakrilamid jelde yürütüldü ve gümüş boyama yöntemi ile bantlar görünür hale getirildi. Sonuç olarak; KLL'li hastalarda kontrol grubuna göre düşük, AML'li hastalarda ise kontrol grubuna göre yüksek oranda telomeraz aktivitesi belirlendi. Ancak gruplar arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı değildi. FISH yöntemi ile de telomer kaybının olup olmadığı değerlendirildi.

S-7:

C2 MONİTORİZASYONUNDA FARKLI DİLUSYONLARIN KARŞILAŞTIRILMASI

Selvi AYGÜN KAYA, Tülay KILIÇARSLAN AYNA, Hayriye ŞENTÜRK,

Mehmet GÜRTEKİN, Mahmut ÇARİN

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Çapa Tıp Fakültesi, İSTANBUL

1976' da Tolypocladium inflatum'dan elde edilen Cyclosporin (CsA), transplantasyonda önemli yer tutan bir immunsupresif ajandır. CsA, plazmada kalmodilini inaktive ederek etkisini gösterir. Böylece T hücrelerinin aktivasyonu süresince kalsiyuma bağlı sinyal transdüksiyonu engellenir. Bu ajan yardımcı T hücrelerinden özellikle IL-2, bunun yanı sıra IL-3, IL-4 salınımını inhibe etmektedir. Kritik doz ilaç sınıfına giren CsA' nın bu özelliğine uygun olarak, rejeksiyon riskine ve oluşabilecek yan etkilere karşı kan düzeyinin tespit edilmesi gerekmektedir. Günümüze kadar CsA' nın çukur düzeyi (C0) belirlenerek ilacın toksisitesini azaltmak amaçlanırken, son aylarda AUC' nin (eğri altında kalan alan) önemi ortaya çıkmıştır. Bu alanın 4 saat boyunca ölçülmesi; maliyet, birden fazla kan örneği ile çalışılması, ve formülle hesabı gerektiğinden dolayı güçtür. Bu nedenle AUC' ye en iyi korele olan C2 monitorizasyonunun yapılması önem kazanmıştır. C2 ölçümü ile hastalar arasındaki emilim değişkenliğinden doğacak sorunlar ortadan kalkmaktadır. Böylece ilacın emilim hızı ve düzeyi ile ilgili tahminler sağlanmakla kalmaz CsA' ya maruz kalın alanı da belirlenmiş olmaktadır. C2 monitorizasyonu ile akut rejeksiyon ve renal disfonksiyon insidansında azalma olduğu tespit edilmiştir.

C2 düzeyinin hedef değerleri, 1500-1800 ng/ml olduğundan dolayı rutin testte dilusyon yapılmasını gerektirmektedir. Çalışmada, Tıbbi Biyoloji ABD. İmmunsupresif ölçüm laboratuvarında, yeni transplante olan hastaların C2 düzeyleri, tam kanda EMIT (Enzyme multiple immunoassay)-Dade Behring yöntemi ile, 2 farklı dilusyon çalışması yapılarak ölçüldü. x4 yöntemi'nde (Dade Behring' in önerdiği yöntem) 50µl hasta kanı+150 µl 0 kaibratör, 600 µl çöktürme solüsyonu, x7 yöntemi' nde (Behring' den x4 bilgisi ulaşmadan önce Tıbbi Biyoloji ABD' nin geliştirdiği ve kullanmakta olduğu yöntem) ise 14,28 µl hasta kanı+85,72 µl 0 kalibratör, 300 µl çöktürme solüsyonu kullanılmıştır. Çalışmada değerlendirmeye alınan kan örneklerinin (n=46) 4'ünde, x4 sonuçları >2000 olarak tespit edildi, x7 sonuçları da buna uygun olarak 2000' den büyük değerlerde idi. Paired t testi ile kalan 42 örneğin ortalaması, x4 yönteminde $1064,09 \pm 445$, x7 yönteminde ise $1157,14 \pm 142$, x4' e kıyasla x7' de daha yüksek sonuçların (n= 31) olduğu çalışmada, sonuçlar arasındaki farkın ortalaması= 93,04, $t=4,171$, $r=0,951$, ($p<0,0001$) olarak bulundu.

Sonuç olarak, her iki yöntemin de kullanılabilir olduğuna karar verildi.

S-8:

ESER ELEMENTLER VE DNA HASARI

Orkide DONMA¹, M. Metin DONMA²

¹*Istanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İSTANBUL*

²*Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İSTANBUL*

Mutajenik olan ve direkt olarak DNA hasarına neden olan karsinojenlerin incelenmesi konusundaki değerli ilerlemelerin yanı sıra, eksojen ve endojen karsinojenler de gen ekspresyonunu, hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını değiştirerek etki edebilmektedirler. Mekanizmalar, kusurlu DNA metilasyonu, oksidatif hasar, azot oksit ve nitrit metabolizması üzerine etkiler, reseptör ve transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, siklinler ve diğer hücre siklus proteinleri gibi faktörleri içermektedir. Metal ya da metalloidler ile, onların yardımı ile kolaylaştırılan anahtar biyolojik/biyokimyasal transformasyonlar arasındaki ilişkilerin biyolojik sistemlerdeki önemleri göz ardı edilemez. Eser elementlerin biyolojik sistemler içindeki rolleri arasında belki de en önemli olanı onların DNA ile olan etkileşimleridir.

Çeşitli eser elementlerin normal düzeyleri, oksidatif hasarın ortaya çıkmasının önlenmesi için bir gereksinim olup, eksiklikleri etkilenebilirliği artırmaktadır. Öte yandan, aralarında bakır ve demirin de bulunduğu bazı eser elementlerin fazlalığının ters etkilere yol açtığı da gösterilmiştir. Eser elementlerin diyetin yanı sıra toprak, bitki, mikroorganizmalar, su, hayvan vb. biyolojik ortamlarda bulunma özellikleri konunun önemini daha da artırmaktadır.

Sanayi kimyasalları olarak kullanılan krom, kobalt, nikel ve kadmiyum; hava, su ve toprakta yüksek oranlarda bulunan arsenik, oksidatif hasarı katalizleyen demirin DNA hasarı üzerine olan etkileri son derece önemlidir. Fizyolojik önemi olan bakırın da endojen DNA hasarı ve mutagenezde etkili olabileceği öngörülmüştür. Bu nedenle, eser elementlerin ekotoksikolojik yönleri ile değerlendirilmeleri insan sağlığını etkileyebilme potansiyelleri açısından önem kazanmaktadır.

S-9:

**OSTEOMALAZİLİ KİŞİLERDE VİTAMİN D RESEPTÖR GEN ALLELLERİNİN
KEMİK METABOLİZMASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

*Belgin Süsleyici DUMAN¹, Hakla KAHRAMAN², Melek ÖZTÜRK³, Faruk ALAGÖL⁴,
Selma YILMAZER³*

¹ Kadir Has Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İSTANBUL

² Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı İSTANBUL,

³ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

⁴ İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı, İSTANBUL

Osteomalazi D vitamini eksikliği veya metabolizmasındaki bozukluk sonucunda kemik matriksinin mineralizasyon defekti sonucunda meydana gelen bir hastalıktır. Erişkin bireylerde kemik yapım-yıkım döngüsü bozulmuş ve mineralize olmamış kemik oranı artmıştır. Vitamin D Reseptör (VDR) proteini transkripsiyon düzenleyici faktörler arasında bulunur ve 1,25-dihidroksi vitamin D3'ün biyolojik etkilerini düzenler. VDR geni 12q12-14'de lokalize olmaktadır. Bu gen içerisinde yer alan allelik varyasyonların kemik mineral yoğunluğu (KMY) ve metabolik parametreleri üzerine etki ettiği bazı toplumlarda yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Ancak bu çalışmaların çoğunluğu osteoporozlu kişiler üzerinde yapılmış olup osteomalazili kişiler üzerindeki bilgiler son derece sınırlıdır. Bu nedenle çalışmamızda osteomalazi'li Türk insanların VDR geninin intron 8/ekson 9 polimorfik bölgesinde yer alan BsmI genotiplerinin kemik mineral metabolizması göstergeleri üzerine mevcut etkilerinin araştırılması amaçlandı. Çalışma grubumuz İÜ Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Kliniği'nde tedavi altında olan 38 osteomalazik hasta (33 kadın, 5 erkek) ve sağlıklı 31 kontrol (29 kadın, 2 erkek) kişi'den oluşturuldu. Hasta grubu, polikliniğe osteomalazi'yi düşündüren klinik (kas ağrısı, kas güçsüzlüğü, vücut ağrısı) ve radyolojik (pseudofraktür, deformite, vb) bulgularla başvuran ve laboratuvar verileri (25-OH vitamin D düşüklüğü, kalsiyum-fosfor metabolizması değişikliği, yüksek paratiroid hormon, alkalin fosfataz artışı) ile tanısı kesinleştirilen kişiler arasından seçildi. Osteomalazik bulguları değiştirecek tedavi alan ve hipofosfatemik hastalar çalışmaya dahil edilmedi. VDR geni BsmI polimorfizmleri'nin belirlenmesi için, hedef gen bölgesi polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltıldıktan sonra, bu PZR ürünlerinin restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemi tiplendirilmesi yöntemleri uygulandı. VDR geninin BsmI genotipleri, hasta grupta, BB:%31.5, Bb:%44.7, bb:%23.6; kontrol grupta, BB:%19.3, Bb:%61.2, bb:%19.3 olarak bulundu. VDR geni BsmI genotipleri ile, osteomalazili kişilerin kemik mineral metabolizması göstergeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı herhangi bir ilişki saptanmadı.

S-10:

**SARKİDOZLU HASTALARIN BRONKOALVEOLAR LAVAJ SIVILARINDAKİ
İLTİHABİ HÜCRELERİN FENOTİPLERİNİN İMMUNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK İNCELENMESİ**

E.DAĞISTANLI¹, M.TUNÇDEMİR¹, G.KANER², N.YILMAZ³, G.YILMAZ³, S.YILMAZER¹

¹ İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

² İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

³ İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İSTANBUL

Sarkoidoz patogenezi iyi bilinmeyen sistemik bir hastalıktır. Olguların %50 sinde akciğer tutulumu görülür. Pulmoner sarkoidozla birlikte görülen kontrolsüz T hücre proliferasyonu ve zararlı kimyasal mediatörlerin salınması gibi patolojik olaylar immunolojik mekanizmalar ile açıklanabilir. Son zamanlarda akciğerlerin astım gibi diğer immunolojik hastalıklarında aktive olmuş T lenfositlerinin katılımı gösterilmiştir.

Bu çalışmada sarkoidozlu hastaların akciğerlerinde görülen iltihabi olayların başlaması ve devamından sorumlu olan hücre tiplerini ve bu iltihabi reaksiyonları yönlendirmede önemli olabilecek kimyasal mediatörler olan sitokinlerin ekspresyonunu araştırmayı amaçladık.

Çalışmada 7 adet sarkoidozlu hasta ile 7 adet sağlıklı kontrol ve hasta kontrol grubu olarak da 7 adet sklerodermalı hastadan alınan bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısından sitosantrifüjde hazırlanan preparatlar kullanıldı. Tüm örneklerle CD4 ve CD8 monoklonal antikörleri ile immun boyama yapılarak T hücre alt tiplerinin dağılımı araştırıldı. Ayrıca Th1 tipi (T yardımcı Tip1) sitokinlerden olan interferon gamma ve bir makrofaj antijeni olan CD68 ekspresyonu da incelendi.

Sarkoidozlu hastaların Bronko Alveolar Lavaj (BAL) sıvılarından hazırlanan sitosantrifüj preparatlarında lenfosit sayısında sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı ($p<0,05$) ve skleroderma grubuna kıyasla ileri derecede anlamlı ($p<0,001$) bir artış saptandı. T lenfosit alt gruplarının incelenmesi sonucunda CD4(+) yardımcı T hücrelerinin ($\%21,59\pm0,87$) CD8 (+) baskılayıcı T hücrelerine ($\%10,40\pm0,59$) kıyasla baskın olduğu gözlemlendi. T yardımcı / T baskılayıcı hücre (CD4+ / CD8+) oranı sarkoidoz grubunda 2/1 olarak saptandı. Sarkoidozlu hastaların BAL preparatlarında interferon gamma ekspresyonu yapan T hücrelerinin diğer gruplara kıyasla çok daha fazla sayıda olduğu görüldü. CD68 ekspresyonu sarkoidozlu grupta, çoğu makrofajlarda, bazı dev hücreler, lenfositler ve polimorf nüveli lökositlerde ve artmış olarak bulundu. Sarkoidoz patogenezinde yardımcı T lenfosit artışının önemli bir faktör olduğu ve artmış lenfositlerin Th1 tipi sitokinlerin ekspresyonunu tercih ettiği sonucuna varıldı.

S-11:

**DENEYSEL DİABETLİ SIÇAN PERİFERİK SINIRLERİNDE IGF-1
EKSPRESYONU VE PYRIDOXİNE'NİN ETKİLERİ**

S.YILMAZER¹, H.HATEM², M.TUNÇDEMİR¹, F.DAĞISTANLI¹, N. ERENSOY¹, M.ÖZTÜRK¹

¹ İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

² İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İSTANBUL

Son zamanlarda yapılan çalışmalar diabetik nöropati patogenezinde ve tedavisinde büyüme faktörlerinin etkili olabileceğini göstermektedir. Tip 1 ve Tip 2 diabetli hastalarda dolaşımdaki insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) miktarında azalma olduğu ve bu azalmanın nöropatili hastalarda daha da belirgin olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada streptozotocin (STZ) diabetli sıçan periferik sinirlerinde IGF-1 ekspresyonunu araştırmayı ve diabetik nöropati üzerine olumlu etkileri olduğu bildirilen pyridoxine (B6 vitamini) verilmesinin sonuçlarını incelemeyi amaçladık.

Çalışmada 18 adet erişkin Wistar sıçan kullanıldı. Deney 6'şar sıçandan oluşan üç grup halinde düzenlendi. 1.grup kontrol grubu olarak ayrıldı. 2.ve 3. gruplara STZ (50 mg/kg, tek doz) verildi. 2.gruba herhangi bir tedavi uygulanmadı. 3.gruba pyridoxine (5mg/kg/gün) 30 gün süre ile verildi. Deney süresi sonunda tüm deney gruplarından eter anestezisi altında alınan Nervus ischiadicus doku örnekleri ışık mikroskopik ve immunohistokimyasal inceleme için hazırlandı. Doku kesitleri H+E, Masson ve PAS yöntemleri ile boyandı. IGF-1 poliklonal antikorı ile immunohistokimyasal işaretleme yapıldı.

STZ-diabetli gruba ait periferik sinir kesitlerinde; perinöriumda fokal hasar, endonöral kollagende artış, yer yer miyelinli sinir liflerinde kayıp ve degeneratif değişiklikler, endonöriumdaki damarların duvarlarında kalınlaşma, endotel proliferasyonu, endotel ve düz kas bazal membranlarında kalınlaşma ve gibi bir seri morfolojik değişiklik görüldü. Bu değişikliklerin pyridoxine verilen grupta büyük ölçüde önlendiği gözlemlendi. İmmunohistokimyasal inceleme, diabetik sıçan periferik sinirlerinde IGF-I ekspresyonunda kontrol örneklerle kıyasla azalma olduğunu gösterdi. Pyridoxine verilen grupta genellikle IGF-1 için immüno pozitiflik tedavisiz diabetik gruba daha yakın olarak görüldü.

Sonuçlarımız diabetik nöropati oluşumunda IGF-1'in azalmış ekspresyonunun rol oynayabileceğini desteklemektedir. Pyridoxine verilmesinin IGF-1 ekspresyonu üzerine etkisi saptanmamakla birlikte, diabetik sinirde görülen morfolojik değişiklikleri önlemede etkili olduğu gözlenmiştir.

KANGAL KAPLICA BALIKLARINDAN *CYPRINION MACROSTOMUS* VE
GARRA RUF A’NIN PRO- VE ANTİ-OKSİDANT ENZİM AKTİVİTELERİNİN
KİYASLANMASI

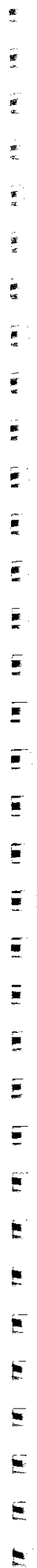
Yavuz SİLİĞ, Öge ÇETİNKAYA, Atilla ATALAY

1. Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya A.B.D. SİVAS
2. Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya A.B.D. SİVAS

Bu çalışmada, SİVAS-Kangal balıklı kaplicasında (~35°C) yaşayan *Garra rufa* Heckel 1843 ve *Cyprinion macrostomus* Heckel 1843’un karaciğer pro- ve anti-oksident enzim aktiviteleri incelendi.

Pro-oksident enzimler (Sitokrom P4502E1, NADPH Sitokrom c Redüktaz, NADH Sitokrom b₅ Redüktaz) karaciğer mikrozomal fraksiyonda, antioksident (Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, Gulutasyon Peroksidaz, Süperoksit Dismutaz, Katalaz, Glutasyon-S-Transferaz) enzim aktiviteleri ise stoplazmik fraksiyonda bakıldı. Sitokrom P4502E1 aktivitesi nmol/mg protein/min, diğer enzim aktiviteleri ise U/mg protein olarak verildi. Ayrıca, karaciğer dokusunda malondialdehit düzeyine bakıldı ve nmol/gr doku olarak değerlendirildi.

POSTERLER



P-1:

**PROSTAT KANSERİ VE BENİGN PROSTAT HİPERPLAZİLERİNDE
ANDROJEN RESEPTÖR GENİ CAG POLİMORFİZMİNİN ROLÜ**

Sezgin GÜNEŞ¹, Hasan BAĞCI¹, Şaban SARIKAYA²

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

² Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, SAMSUN

Androjen reseptör (AR) proteinin, düzenleyici fonksiyonu genin 1. ekzonu tarafından kodlanmaktadır. Bu ekzon yüksek derecede polimorfizm gösteren CAG tekrarları içermektedir. Kısa CAG tekrarı olan kişiler, yüksek klinik stage ve tümör grade riski taşımaktadır. Erkeklerde bu tekrar sayısının 19-22'nin altında olması prostat kanser riskini 1.5-2.1 arttırmaktadır.

Bu çalışmamızda 19 prostat kanseri ve 28 benign prostat hiperplazi (BPH) hastası çalışıldı. 55 yaş üzeri klinik olarak üriner sistem problemleri olmayan 31 sağlıklı erkek kontrol grubu olarak alındı. Standart metodlarla saflaştırılan hasta ve kontrol DNA'larında AR geni CAG tekrar bölgesi, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltıldı. PCR ürünleri Resophor agaroz jelde yürütüldü. CAG tekrar sayısı kontrol gurubunda ortalama 20.4, prostat kanserli hastalarda 14.2 ve BPH hastalarında 14.7 olarak bulundu.

Çalışmalarımız devam etmekte olup, aldığımız sonuçlar AR geni CAG polimorfizminin prostat kanseri ve BPH için risk faktörü oluşturduğunu destekler niteliktedir.

Sonuçları Sezgin Güneş'e e-mail verdim. Güneş'e

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

P-2:

KÜÇÜK HÜCRELİ OLMAYAN AKCİĞER KANSERLİ HASTALARDA L-MYC GEN POLİMORFİZMİNİN İNCELENMESİ

¹Yaylım İ, ¹İsbir T, ¹Öztürk O, ²Turna A, ³İşitmangil T

¹ İ.Ü.Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

² Yedikule Göğüs Hastanesi, Göğüs Cerrahisi Bilim Dalı, Zeytinburnu, İstanbul, Türkiye.

³ Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Göğüs Cerrahisi Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Amaç: Normal ve akciğer tanısı konmuş olgularda incelenecek L-myc gen polimorfizmi ile, hastalığa yatkınlık, prognoz ve metastatik durum arasında bir ilişkinin var olup olmadığının araştırılması planlanmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışmamızda 64 akciğer kanserli ve 37 sağlıklı birey kullanılmıştır. L-myc gen polimorfizmi saptamak için Polimeraz Zincirleme Reaksiyonu (PCR), Restriksiyon Fragmanı Gen Polimorfizmi (RFLP) ve agaroz jel elektroforezi teknikleri kullanılmıştır.

Bulgular: Çalışmamızda küçük hücreli olmayan akciğer kanserli vakalarımızın %23'ü adenokarsinom, %72.1'i epidermoid karsinom, %4.9'u ise bronkiolo alveolar karsinomdu. Gen sayım metodu ile sağlıklı ve akciğer kanserli grupta belirlenen L-myc'in L ve S allel sıklığı ise sırasıyla, 0.595:0.405 ve 0.586:0.414 olarak saptanmıştır. Çalışmamızda, tümör tipi açısından epidermoid kanserli hastalarda SS genotipi taşıma sıklığı anlamlılığa yakın olarak yüksek bulunmuşken, adenokarsinomda böyle bir yükseklik saptanmamıştır. 50 paket/yıl dan fazla sigara içenlerde, nod metastazlarının yılda 50 paketten az içen diğer hastalara göre N2 evresinde olma riski 3 kat artmış bulunmuştur. Yılda 50 paket ve üzeri sigara içen hastalarda epidermoid karsinom olma sıklığı istatistiksel açıdan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Sonuçlar: Çalışma sonunda L-myc gen polimorfizminin (LL, LS ve SS) tümör safhası veya nod metastazına etkisi olduğuna dair bir bulgu saptanmamıştır. Yüksek miktarda sigara kullanımının, küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde nod metastazının hızla ilerlemesinde ve tümör hücre tipi belirlenmesinde önemli bir faktör olduğu sonucuna varılmıştır. Bu sonuçlara göre L-myc genotipinin akciğer kanser riski ve hastalığın evrenlenmesindeki parametreler üzerine bir etkisi olmadığı kanısına varılmıştır.

P-3:

TÜRK POPULASYONUNDA AGN VE ACE GEN POLİMORMİZMLERİNİN KAN BASINCINA ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Bedia AĞAÇHAN, Hülya YILMAZ, Makbule AYDIN, Turgay İSBİR

İ.Ü. Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD, İstanbul

Hipertansiyonun gelişiminde etkili faktörler içinde başlıca renin-anjiotensin sisteminin (RAS) komponentlerini kodlayan genler sorumlu tutulmaktadır. Anjiotensin Konverting Enzim (ACE) delesyon(D) polimorfizminin hipertansiyon ve miyokard infarktüsünün gelişiminden ve dolaşımdaki ACE'nin artmış konsantrasyonundan sorumlu olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. DD genotipinin özellikle ani ölümlerde dilate ve hipertrofik kardiyomiyopati ile ilişkili olduğunun gösterilmesi kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda ACE bağımlı bir mekanizmanın varlığını muhtemel kılmaktadır. Ayrıca Anjiyotensinojen (AGN) geninde 174. pozisyonda treoninin metionine dönüşümü sonucu oluşan nokta mutasyonu (T174M)'nın özellikle beyaz ırkta hipertansiyonla ilişkili olduğu gösterilmiş ve plazma AGN düzeyi normalin 20 katına çıktığı ve bu kişilerde hipertansiyon geliştiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada ACE ve AGN gen polimorfizmlerinin sağlıklı bireylerde sistolik ve diastolik kan basınçlarına olan etkisi araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamız sağlıklı 35 kadın 51 erkek bireyden oluşmaktadır. ACE ve AGN gen polimorfizmini saptamak için Polimeraz Zincirleme Reaksiyonu (PCR), Restriksiyon Fragmanı Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) ve agaroz jel elektroforezi yöntemleri kullanılmıştır.

Çalışmamızda ACE genotip ve allel frekanslarını: DD 36 (%42.4), II 17 (%20.0), ID 32 (%37.6); D 104 (%61.2), I 66 (38.8); AGN genotip ve allel frekanslarını :TT 56 (%90.3), TM 6(%9.7), T 118 (%95.2), M 6 (%4.8) olarak tespit ettik. ACE ve AGN allellerinin kan basıncına etkileri incelendiğinde sistolik basıncı >140 mmHg olanların %60'ının ACE D alleli Ve %100'ünün AGN T alleleline sahip oldukları, diastolik basınçları >90 mmHg'nın üzerinde olanların % 72'sinin ACE D alleli, %85.7 sinin ise AGN T alleli taşıdıklarını gözlemledik. Çalışmamızın sonucunda ACE ve AGN allellerinin kan basıncı üzerinde etkili olabileceği izlenimi edinilmiştir.

P-4:

**APOLİPOPROTEİN E VE B-100 POLİMORFİZMLERİNİN HİPERTANSİYON
OLGULARINDA ARAŞTIRILMASI**

Feride İ. Şahin¹, Müge Mısırlıoğlu¹, Reyhan Ersoy², İlhan Yetkin², Adnan Menevşe¹

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Beşevler/Ankara

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Endokrinoloji Bilim Dalı, Beşevler/Ankara

Hipertansiyon, geniş toplum kitlelerini etkileyen bir sağlık sorunu olması nedeniyle çeşitli genetik faktörler açısından araştırılmaktadır. Bu anlamda aday genler olarak Apolipoprotein E ve B-100 polimorfizmleri çalışılmaktadır. Bu araştırmamız kapsamında 52 hasta ve 52 kontrol olgusundan alınan periferik kan örnekleri yer almıştır. Apolipoprotein E genine ait primerler kullanılarak 227 baz çiftlik bölge PCR tekniği ile çoğaltılmış, Hha I restriksiyon enzimi ile kesilerek genotiplendirme yapılmıştır. Apolipoprotein B-100 genine ait 212 baz çiftlik bölge de aynı şekilde çoğaltılarak Msp I enzim kesimi ile 3500. Nükleotiddeki Arg→Gln mutasyonu araştırılmıştır. Apolipoprotein E genotiplendirmesi ile hastalarda Apolipoprotein E₄ / E₄ homozigotluğu saptanmamıştır. Araştırmamızla ilgili son bulgular sunum sırasında tartışılacaktır.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Araştırma fon saymanlığınca 01/2001-02 kod No'lu proje ile desteklenmiştir.

P-5:

MYOKARD İNFARKTÜSÜ GEÇİRMİŞ HASTALARDA LİPOPROTEİN LİPAZ Pvu II GEN POLİMORFİZMİNİN SERUM LİPID PROFİLİNE OLAN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Hülya YILMAZ, Bedia AĞAÇHAN, Makbule AYDIN, Turgay İSBİR

İ.Ü. Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Lipoprotein lipaz (LPL) kalp, iskelet kası, akciğer, beyin ve makrofajları içeren pek çok değişik dokuda kapiller endotel hücrelerinin luminal yüzeyinde glukozaminoglikan komponentlere bağlanan ve hepatik lipazla birlikte heparin-serbestleştirici özelliği olan enzimdir. LPL şilomikron ve VLDL lipoproteinlerindeki triaçilgliserolleri hidroliz ettiğinden lipoprotein metabolizmasında kritik bir rol oynar. Bu proses ekskresyon için dokulardaki kolesterolü karaciğere tranport etmekle görevli olan HDL üretimini etkiler. Bu nedenle LPL lipid metabolik karışıklıkları ve ateroskleroza anlamak için aday bir genidir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda lipoprotein lipaz geni değişikliklerinin aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Lipoprotein lipaz geninde Hind III, BamHI, PvuII ve Xba I restriksiyon enzimleri kullanılarak yapılan çok sayıda RFLP'ler tanımlanmıştır.

Çalışma grupları 72 kontrol ve 100 myokard infarktüsü geçirmiş hastadan oluşmuştur. Örnek gruplarından elde edilen DNA örneklerinde PCR, RFLP ve agaroz jel elektroforezi teknikleri kullanılarak lipoprotein lipaz Pvu II gen polimorfizmi tespit edilmiştir. İstatistiksel analiz için SPSS 8.0 programı kullanılmıştır.

Tablo. LPL Pvu II genotip ve Allel Frekanslarının Hasta ve Kontrol Gruplarında Dağılımı

	KONTROL	MI
GENOTİP P (+,+)	20 (%27.8)	37 (%37)
P (-,-)	12 (%16.7)	14 (%14)
P (+,-)	40 (%55.6)	49 (%49)
ALLEL P (+)	80 (%55.55)	123 (% 61.5)
P (-)	64 (%44.44)	77 (%38.5)

Tabloda LPL Pvu II genotip ve allel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı gösterilmiştir. P(+) allelini taşımanın MI riskini 1.22 kat arttırdığı tespit edilmiştir (OD: 1.22, %95 CI: 0.531-2.842). Hasta grubunda P(+,-) genotipli bireylerde total-kolesterolün ≥ 200 mg/dl ($\chi^2=6.16$, $p=0.013$) ve LDL-kolesterolün ≥ 130 mg/dl ($\chi^2=5.92$, $p=0.015$) olması arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişki gözlenmiştir. P(-) allelini taşıyanlarda da total-kolesterolün >200 mg/dl ($\chi^2=5.65$, $p=0.017$) ve LDL-kolesterolün ≥ 130 mg/dl ($\chi^2=4.58$, $p=0.032$) olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kontrol grubunda Pvu II gen polimorfizmi ve lipid risk faktörleri arasında ilişki gözlenmemiştir.

Sonuç olarak bulgularımız Lipoprotein lipaz Pvu II gen polimorfizminin serum lipoprotein düzeyleri üzerinde ve MI gelişim riskinin artmasında etkili olabileceği izlenimi elde edilmiştir.

P-6:

İNSAN MITOKONDRIYAL DNA'SINDA RFLP YÖNTEMİ İLE
POLİMORFİZMİN DEĞERLENDİRİLMESİ

A. Gani TATAR, Sıtkı ÖZTAŞ, İrfan BATAT

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD, ERZURUM

Bu çalışmada, bölgemizde yaşayan sağlıklı bireylerin oral kavite mukoza epitelinden mitokondriyal DNA izolasyonu yapılarak, mitokondriyal DNA'nın, biri konstant (H.3612 – L.3148) diğeri de hipervaryabl (H.16401 – L.15996) olmak üzere iki segmenti PCR ile amplifiye edilmiştir. Her bir segment için iki farklı restriksiyon enzim uygulanmıştır.

Bu çalışmaya dahil edilen 38 bireyde mitokondriyal DNA'nın amplifiye edilen konstant bölgesinde kullanılan enzimlerin spesifik kesim bölgeleri dışında, ekstra bir kesim veya kesim bölgesinin kaybolması olgusuna rastlanmamıştır. Hipervaryabl bölge üzerinde yapılan çalışmada ise 4 bireyin mitokondriyal DNA'sında farklı kesim olgusu tespit edilmiştir. Buradaki 4 bireyde *Hinf* I enziminin kesim bölgesi kaybolmuştu. Bu bireylerden birisinin birinci dereceden 2 yakını ile diğerinin bir yakınında bu çalışmalar tekrarlanarak, bunların da *Hinf* I kesim bölgesini kaybettikleri görülmüştür.

Bu çalışma, bölgemizdeki populasyonda, mitokondriyal DNA patolojilerinin tanı çalışmalarına başlanmadan önce yapılması gereken çalışmalardan ilkidir. Elde edilen sonuçlar, çevremizdeki populasyonda, incelenen mitokondriyal DNA segmentlerindeki polimorfizmin boyutlarını ortaya koyması yönünden henüz yetersiz ise de, incelenen iki genetik bölgedeki varyasyon beklenen bir model ortaya koymuştur.

P-7:

**TÜRK POPULASYONUNDA SÜPEROKSİD DİSMUTAZ A (SOD A)
ENZİMİNİN POLİMORFİZMİ, ALLEL SIKLIĞI VE AKTİVİTESİ**

*E. Ferda PERÇİN¹, Yavuz SİLİÇ², A. İsmihan GÖZE³, Atilla ATALAY⁴,
Ahmet ÇOLAK¹*

¹Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, SİVAS

²Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı, SİVAS

³Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Meslek Yüksek Okulu, SİVAS

⁴Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, SİVAS

Türk populasyonunun genetik yapısını belirlemek amacıyla yapılan bu araştırmada, eritrositlerde bulunan Cu-Zn süperoksit dismutaz (SOD A) enziminin fenotipleri, sellüloz asetat elektroforez yöntemi ile belirlendi ve allel sıklıkları hesaplandı. Toplam 250 sağlıklı bireyde yapılan bu araştırmada bir bireyde, özellikle Kuzey Avrupa populasyonlarında ve oldukça nadir görülen 2-1 fenotipi saptandı. Allel sıklıkları; SOD A*1 için 0.998 ± 0.0019 ve SOD A*2 için 0.002 ± 0.0019 olarak belirlendi. SOD A enzim sistemi Hardy-Weinberg yasasına uygun bulundu ($\chi^2 = 0.001$, $p > 0.05$). Türk populasyonu için SODA enzim aktivitesi 1608.56 ± 677.94 U/g Hb idi. Araştırma söz konusu enzimin, Türk populasyonu için polimorfizm ve allel sıklığını gösteren ilk veri olması nedeni ile sunuldu.

P-8:

**TROMBOSİT GLİKOPROTEİN 1A GEN POLİMORFİZMLERİNİN
(C807T/G873A) MİYOKARD ENFARKTÜSÜ İLE İLİŞKİSİ**

Evrım Kömürcü¹, Nihan Erginel-Ünaltuna, PhD².

^{1,2}İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı.

Trombosit glikoprotein 1a (alfa2 integrin), trombosit adhezyonunda fibrilar kollajenle bağlanan heterodimerik membran reseptörünün (GPIa/IIa) bir alt ünitesidir. GPIa geninde aminoasid değişimine neden olmayan C807T (Phe224) ve G873A (Thr246) polimorfizmlerinin, trombosit membranındaki reseptör yoğunluğunun düşük (807C/873G alleli) veya yüksek (807T/873A alleli) olmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Reseptörün düşük veya yüksek yoğunluğu ile ilişkili allellerin, çeşitli trombotik hastalıklara ve hemostaza genetik predispozisyonu olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda 807C/873G alleli ile von Willebrand hastalığında, 807T/873A alleli ile de genç yaştaki inmeli hastalarda ilişki bulunmuştur. Miyokard enfarktüsü ile ilgili yapılan iki önemli çalışmada ise, 807T/873A allelinin hastalarda risk oluşturduğu belirtilmiştir. Başka bir çalışmada genç nonfatal miyokard enfarktüslü hastalarda aynı allelin bağlantılı olduğu bulunurken, koroner arter hastalığıyla ilişkisi bulunmamıştır. Çalışmamızda 807T/873A allelinin Türk Toplumunda dağılımı ve miyokard enfarktüsü ile bağlantılı olup olmadığı araştırılmıştır. Multipleks allel spesifik-PCR tekniği ile 118 sağlıklı bireyde Türk popülasyonu allel sıklığı 807T/873A için %34 ve 807C/873G için %66; genotip sıklığı 807TT/873AA için %13, 807CT/873GA için %44 ve 807CC/873GG için %43 olarak bulunmuştur. Miyokard enfarktüsü geçirmiş hastalarda (68 kişi) ise normal kontrollere (57 kişi) göre bu allelin sıklık dağılımında istatistiksel bir fark gözlenmemiştir. Sonuçların kesinlik kazanması için hasta sayısının artması gerekmektedir.

P-9:

MOZAİK, PARŞİYEL X DELESYONUNUN FISH YÖNTEMİYLE
ŞAPTANMASI

Tahsin YAKUT¹, Ünal EGELİ¹, Barbaros YİĞİT¹

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD¹

45 XO olgularında “Turner” in tanımladığı somatik bulgular vardır. Somatik gelişmeler ile ilgili genin X kromozomunun kısa kolu üzerinde olduğu bilinmektedir. Delesyonun (kırılmanın) yerine göre semptomlar farklı olabilir. 46, X, del(X), p(11) en sık görülen kısa kol anomalisi olup, Xq13 ise yine uzun kolun en sık görülen delesyonlarından. Bizim olgumuz 13 yaşında, boy kısalığı, gelişme geriliği ve gonadal agenezi şeklinde klinik bulguları olan ve sitogenetik analizi 45 XO, 46 X + marker kromozom olarak değerlendirilmiş olan bir vaka idi. Asentromerik marker kromozomun bant yapısı tam olarak bir kromozom bölgesini tanımlamadığından, X kromozomuna ait tam boyama (painting) probu ile vakanın metafaz plaklarına FISH (Flouresan İn situ Hybridization) tekniği uygulandı. Flouresan mikroskop altında yapılan değerlendirmede 38 metafaz plağında tek bir X kromozomu boyanmış olarak gözlenirken, 6 metafaz plağında ise tam sinyal veren bir X kromozomu ile birlikte, marker olarak değerlendirilen kromozom boyundaki diğer bir asentrik kromozomunda X probu ile boyandığı gözlemlendi. Böylece hastanın genetik yapısı 45 XO, 46,X,del(X) olarak değerlendirildi. Hastadaki klinik bulgular, reguler 45 XO ile seyreden Turner sendromlu hastaların klinik bulgularından daha hafif seyretmekte idi.

P-10:

KEMİK İLİĞİ TRANSPLANTASYONU OLAN SEKS MISMATCH'LI HASTALARDA FISH YÖNTEMİNİN UYGULANMASI

Filiz AYDIN, Fatma OĞUZ, Gonca KARAHAN, Mahmut ÇARIN

İst. Üniv. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

FISH yöntemi, nükleik asit problemleri aracılığı ile preparat üzerinde bulunan hücresel yada kromozomal DNA'nın incelenmesi temeline dayalı bir tekniktir. Sayısal ve yapısal düzensizliklerin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan FISH yönteminin sitogenetik çalışmalarda tercih edilmesinin bir nedeni de interfaz hücrelerdeki kromozomal düzensizlikler ile ilgili bilgileri verebilmesine dayanır. Bu nedenle prenatal tanıda, cinsiyet kromozomu anomalilerinde ve farklı cinsten Kemik İliği Transplantasyonu olan kişilerde KIT sonrası relaps ve minimal hastalıkların erken tanısında kullanılmaktadır. Çalışmamızda 1'i KML, 2'si AML, 2'si ALL ve 4'ü de FAA olan seks mismatch'li toplam 10 hastada KIT sonrasında, X kromozomuna özgü digoxigenin işaretli α satelit prob kullanarak kimerizmi değerlendirdik. 1997-2001 yılları arasında KIT üniteleri ile yürütülen çalışmada FISH sonuçlarının hastaların klinik durumuna ışık tutacağı düşünülmüştür. Tabloda hastaların tanıları, kaç kez FISH uygulandığı ve yüzde olarak verilen sonuçları ile son durumları hakkında bilgiler görülmektedir.

Hasta	Tanı	Cins.	Yaş	% donör hücre	Kimerizm	Yaşıyor/ relaps/exitus
BÇ	AML	E	12	I. %87XX (30. Gün) II. %95 XX (1. Yıl) III. %99XX (2. Yıl)	Miks kimerizm	Yaşıyor
CS	FAA	E	2	I. % 79 XX (30. Gün) II. %90XX (60. Gün) III. %86XX (5. Ay) IV. %70XX (1. Yıl)	Miks kimerizm	Yaşıyor
DÇ	KML	K	14	I. %68XY (1. Yıl) II. %15 XY (14. Ay)	Miks kimerizm	Relaps Ex
HB	FAA	K	12	I. %84XY (20. Gün) II. %54XY (30. Gün) III. %26 XY (60. Gün) IV. %25 XY (90. Gün) İkinci nakil V. %94XY (5. Ay)	Miks kimerizm	Rejekt Ex
MT	ALL	E	8	I. %82 XX (30. Gün) II. %40 XX (90. Gün)	Miks kimerizm	Relaps Ex
MK	ALL	E	17	I. %69 XX (30. Gün) II. %93 XX (60. Gün) III. %94 XX (6. Ay) IV. %96 XX (1. yıl) V. %97 XX (2. yıl)	Miks kimerizm	Yaşıyor
NY	FAA	E	10	I. %90 XX (20. Gün) II. %88 XX (35. Gün) III. % 90 XX (6. Ay) IV. %94 XX (10. Ay) V. % 95 XX (1. Yıl)	Miks kimerizm	Yaşıyor
SŞ	AML	E	10	I. %89 XY (30. Gün) II. % 85 XY (6. Ay) III. % 43 XY (10. Ay)	Miks kimerizm	Relaps Ex
YK	FAA	E	7	I. % 82XX (15. Gün) II. %88 XX (60. Gün) III. %98 XX (8. Ay)	Miks kimerizm	Yaşıyor
GE	FAA	K	12	I. %84 XY (20. Gün) II. % 86 XY (35. Gün) III. % 99 XY (90. Gün)	Miks kimerizm	Yaşıyor

P-11:

**KML OLGULARINDA PH KROMOZOMUNUN KAN VE KEMİK İLİĞİNDE
SİTOGENETİK , FISH VE RT/PCR YÖNTEMİ İLE TESPİT EDİLMESİ**

Dilhan KURU¹, Seniha HACIHANEFİOĞLU¹, Nur SAYHAN², Zafer BAŞLAR³

¹İ.Ü. Genetik ve Teratoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (GETAM), Cerrahpaşa, İstanbul

²İ.Ü. Moleküler onkoloji ve Hematopatoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Cerrahpaşa, İstanbul

³İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları A.B.D., Hematoloji B.D., Cerrahpaşa, İstanbul

Tipik klinik gelişim ve spesifik kromozom anomalisi *Philadelphia kromozomu* (*Ph*) nedeni ile KML, en iyi tanımlanan myeloproliferatif hastalıktır. t(9; 22)(q34; q11) sonucu oluşan ve bcr-abl füzyon genine sahip olan *Ph* kromozomu KML 'li vakaların % 90 dan fazlasında ve yetişkin ALL vakalarının % 17-25'inde gözlenmektedir. Morfoloji tablosu ile KML olan vakaların %5' inde sitogenetik olarak *Ph* kromozomu bulunmamaktadır . Bu hastaların %40'ında moleküler teknikler ile bcr-abl füzyonunun gerçekleştiği gösterilmiştir.

Hematoloji servisinde merkezimize gönderilen 22 KML vakasının kemik iliği ve perifer kanında sitogenetik, FISH ve RT/PCR yöntemi ile çalıştık. GTL bantlama yöntemi ile kemik iliği aspirasyonu yapılan 7 olguda *Ph*(+), 9 olguda *Ph*(-) bulundu. RT/PCR ile *Ph*(+) hücreler doğrulanırken, *Ph*(-) hücrelerin 4'ünde RT/PCR ile (+) sonuç alındı. Aynı olguların perifer kan lenfosit kültürlerinden, sadece 1 olguda *Ph* kromozomu gözlenirken, 3 olguda *Ph* (-), 2 olguda *Ph*(+)/*Ph*(-) mozaiki tesbit edildi ve 1 olguda da sonuç alınamadı. 8 olguda hem kemik iliği ve hem de perifer kan lenfosit kültüründe *Ph*(-) bulundu. 4 olgu bant kalitesinin kötü olması nedeni ile GTL bant tekniği ile incelenemedi. *Ph*(-) RT/PCR (+) 3 olguya FISH uygulanarak 2 olguda (+), 1 olguda da mozaizm tesbit edildi. Bu çalışma bize sitogenetik ve moleküler genetik yöntemlerin bazı şartlarda birbirlerine üstünlük sağlarlar da, genellikle birbirlerini tamamladıklarını ve bir arada kullanılması gerektiğini göstermiştir.

*Bu proje İ.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. Proje numarası : T-474/ 071197

P-12:

**p53 MUTASYONLARININ FLORESAN IN SİTU HİBRİDİZASYON (FISH)
YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

*Ece Mercanoğlu¹, Feride i. Şahin¹, Güçlü Pınarlı², Ceyda Karadeniz²,
Abdullah Ekmekci¹*

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Ankara

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı,
Çocuk Onkoloji Bilim Dalı, Ankara

Evrimsel süreçte çok iyi korunduğu ve tümör baskılayıcı bir gen olduğu bilinen p53 geni, insanda 17p13 bölgesinde bulunur. p53'ün bir alelinin nokta mutasyonu sonucu inaktive olması ve bu hücredeki diğer alelin de delesyonu veya diğer mutasyonları ile tümör supresör etkisi kalkmaktadır. Böylece; p53 gen ve ürünlerinin her iki aleldeki mutasyonu sonucu, tümör hücresi gelişebilmektedir. Bir tümörün malign olup olmadığının belirlenmesinde, p53 geninin moleküler incelenmesi yararlı olabilmektedir. Histopatolojik olarak benign hücrelerde bile p53 mutasyonunun olması malign gelişimi habercisi olabilmektedir. Bu çalışmada, dört farklı hücre-serisi (HL-60, Daudi, Raji ve K-562) ve Burkitt lenfomalı hastalardan alınan kan örnekleri çalışılmıştır. Sağlıklı bireylerden alınan kan örnekleri kontrol amaçlı kullanılmıştır. FISH yöntemi ile hücre serilerinden, hastalardan ve sağlıklı bireylerden elde edilen kromozom 17 sentromer ve p53 sinyalleri değerlendirilmiş ve p53 delesyon oranları belirlenmiştir.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı'nca 11/2001-06 kod No'lu Proje ile desteklenmiştir.

P-13:

**DNA TAMİR SİSTEM (XPD Exon 23) VE ANTİOKSİDAN SİSTEM
(GST-M ve GST-T) POLİMORFİZMLERİ İLE GLOKOM ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

Mehmet GÜVEN, Mustafa ÜNAL², Kazım DEVRANOĞLU², Turgut ULUTİN¹

¹İ.Ü. Cer. Tıp Fak., Tıbbi Biyolojik Bil. Böl., Tıbbi Biyoloji A.B.D. İSTANBUL

²İ.Ü. Cer. Tıp Fak., Göz Hastalıkları A.D., İSTANBUL

Son yıllarda yapılan araştırmalar, glokom, katarak gibi göz hastalıklarında oksidatif mekanizmaların önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Antioksidan sistemin önemli enzimlerinden biri olan glutatyon S-transferaz (GST), oksidatif hasarlara karşı savunmada önemli bir rol oynamaktadır. GST izoenzimlerinden mü (GST-M) ve teta (GST-T) polimorfizmleri gösterilen ve bu özellikleriyle çeşitli hastalıklara olan eğilimi etkileyen izoenzimlerdir. Diğer taraftan, oksidatif hasarın bazı formlarının tamirinde rol oynayan nükleotid eksizyon tamir (NER) enzimlerinden XPD (Xeroderma Pigmentosum D grubu)'da amino asit değişimine yol açan polimorfizm tespit edilmiştir. Çalışmamızda oksidatif hasar savunmasında rol oynayan GST-M ve GST-T polimorfizmleri ve oksidatif hasar tamirinde rol oynayan XPD exon 23 polimorfizmi ile glokom arasındaki ilişkiyi araştırdık. Yaşları 45 ile 71 arasında değişen 46 glokom hastasının sonuçları, benzer yaşlarda (48-68 yaş) ve herhangi bir göz hastalığı bulgusu olmayan 53 kontrol grubunun polimorfizmleri ile kıyaslandı. GST-M null (delesyonlu) genotipi ile glokom arasında anlamlı bir ilişki tespit edilirken (X^2 : 4.02, $p=0.04$), GST-T null genotipi ile glokom arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (X^2 : 0.13, $p=0.71$). XPD exon 23 polimorfizm ile glokom arasında da herhangi bir ilişki tespit edilmedi. Geniş çaplı bir araştırmanın ön sonuçlarının değerlendirildiği bu çalışmaya göre, Türk toplumunda GST-M null genotipi glokoma olan eğilimi etkilemektedir.

P-14:

AMELOGENİN GENİ HOMOLOG LOKUSLARI İLE CİNSİYET TAYİNİ

Koray YILDIZ¹, Yaman SAĞLAM², Engin Enginsu¹

¹Metropolitan Florence Nightingale Hastanesi, Tüp Bebek Merkezi, İSTANBUL

²Kadir Has Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İSTANBUL

Son yıllarda cinsiyet tayini adli tıp açısından giderek önem kazanmaktadır. Bu çalışmada Amelogenin geninin X-Y homolog monopleks lokusları (AMELX - AMELY) kullanılarak cinsiyet belirlenmeye çalışılmıştır. Bunun için sekiz kadın ve sekiz erkekten olay yerinde bulunabilecek kan, kan lekesi, sperm, sperm lekesi, parmak izi, sigara izmariti, saç veya kıl gibi hücre nükleusu içeren biyolojik materyal alınarak; inorganik ekstraksiyon yöntemi olan "*chelex DNA izolasyonu*" yöntemiyle DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraktlar PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemiyle amplifiye edilmiş, PCR amplifikasyonundan sonra PAGE (PolyAcrilamid Gel Electrophoresis) ile bantlar elde edilerek değerlendirme yapılmıştır.

Çalışmamızda 0,05 mg gibi çok az miktardaki örneklerden dahi netice alınabilmektedir. Sonuç olarak, hassas bir yöntem olan Amelogenin geni ile cinsiyet tayini yöntemi, X kromozomundaki AMELX'in pozitif kontrol avantajıyla birlikte çok hızlı ve güvenilir bir yöntemdir.

P-15:

PETROL ÜRÜNLERİ VE SİGARA KULLANIMININ SİSTER CHROMATID EXCHANGE ORANLARINA ETKİLERİ

Ayla ÇELİK¹, Eltem AKBAŞ², Fatma SÖYLEMEZ², Ebru DERİCİ²

¹Mersin Üniversitesi – Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, MERSİN.

²Mersin Üniversitesi – Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, MERSİN.

Bu çalışma sigara içmeyen ve sigara içen petrol istasyonu çalışanından alınan kan örnekleri ile hazırlanan lenfosit kültürleri üzerinde yapılmıştır. Ayrıca sigara içen ve içmeyen bireylerden kontrol grubu oluşturulmuştur. Her grupta 15 kişi olmak üzere araştırma popülasyonumuz 60 kişiden oluşmuştur. Petrol istasyonu çalışanları günlük yaşantılarının 10-12 saatini zorunlu mesaiye geçirmeleri nedeniyle sağlıklarının, mutajenik ve genotoksik etkisi kanıtlanmış pek çok petrol ürününden olumsuz etkilenmesi söz konusudur. Üstelik bu bireylerin yarıya yakın bir bölümünün sigara içiyor durumda olması bu riskleri daha da artırması söz konusudur.

Sister Chromatid Exchange (SCE); Kardeş kromatidlerin homolog loküslerinden oluşan resiprokal değişimlerdir. SCE bazı maddelerin DNA'ya kovalent olarak bağlanması ya da DNA tamir mekanizmalarında aksaklıklar sonucu oluşabilmektedir. Mutajen ajanların etkilerini belirlemede dolaylı, genotoksik ajanların etkilerini belirlemede ise direkt bir yöntem olarak kullanılmaktadır. SCE analizinde Fluoresan Plus Giemsa yönteminin modifiye şekli uygulandı. Bulgular üzerinde yapılan değerlendirmelerde; sigara içmeyen bireylerde metafaz başına düşen SCE oranı 5,24 iken – sigara içenlerde 5,69'a yükselmiştir($p<0.05$), Aynı değer sigara içmeyen petrol istasyonu çalışanlarında 5,74 olmasına karşın – sigara içen radyoloji teknisyenlerinde 6,39'a yükselmiştir ($p<0.01$).

P-16:

**MİTOMİSİN C İLE İNDÜKLENMİŞ LENFOSİT HÜCRE KÜLTÜRLERİNDE
MELATONİN VE β -KAROTENİN İN VİTRO SİSTEMDE KARDEŞ
KROMATİD DEĞİŞİMİ ORANLARI VE MİTOTİK İNDEKS DEĞERLERİ
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Yasemin SOYSAL¹, Feride İffet ŞAHİN², Sevdâ MENEVŞE²

¹ *Gülhane Askeri Tıp Akademisi Tıbbi Genetik B.D., ANKARA.*

² *Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.B.D., ANKARA.*

Melatonin ve β -karoten antioksidan etkileri bildirilmiş maddelerdir. Çalışmamızda, bu maddelerin sitotoksik etkileri in vitro koşullarda insan lenfosit hücre kromozomlarında kardeş kromatid değişimi (SCE) ve mitotik indeks (Mİ) değerleri saptanarak karşılaştırılmıştır. Ayrıca, SCE'yi indüklemek için mitomisin C (MMC) kullanıldığında melatonin ve β -karotenin birlikte ve tek başlarına bulundukları kültürlerde, MMC'nin indüklediği SCE'yi ve etkilediği Mİ'yi ne oranlarda değiştirdiklerinin saptanması ve karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Melatoninin ve β -karotenin tek başlarına bulundukları kültürlerde, madde içermeyen kontrolle karşılaştırıldığında, SCE değerlerinde değişikliğe sebep olmadıkları, β -karotenin Mİ üzerinde etkisi olmadığı, artan melatonin konsantrasyonu ile birlikte Mİ'nin azaldığı gözlenmiştir. Melatoninin ve β -karotenin birlikte kullanımlarının sonucu, madde içermeyen kontrol ve tek başlarına kullanıldıkları kültürlerin değerleri ile karşılaştırıldığında SCE değerlerinde değişiklik oluşturmazlarken Mİ'yi azaltma yönünde etki gösterdikleri gözlenmiştir.

MMC'nin SCE değerlerini arttırdığı, Mİ değerlerini azalttığı gözlenmiştir. Melatoninin ve β -karotenin tek başlarına ve birlikte kullanıldıkları durumda MMC'nin SCE'yi indükleyen etkisini azalttıkları fakat Mİ değerlerini etkilemedikleri gözlenmiştir. MMC'nin SCE oluşumunu indükleyen etkisi karşısında β -karotenin, SCE değerlerini daha fazla azalttığı ve melatonin ile karşılaştırıldığında daha güçlü antioksidan etki gösterdiği saptanmıştır.

Melatoninin ve β -karotenin antimutajenik etkilerinin, in vivo ve in vitro sistemlerde, farklı mutajenite testleri kullanılarak test edilmesinin yararlı olacağı inancındayız

P-17:

**LABORATUVARIMIZDA SAPTANAN DENGELİ VE DENGESİZ
ROBERTSONİAN TRANSLOKASYONLARIN DAĞILIMI**

Sennur Demirel, Ayşegül Zamani, Gül Durakbaşı, Aynur Acar

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Bilim Dalı, Konya

İnsan kromozomlarının en yaygın yeniden düzenlemelerini fetal kayıplar, mental retardasyon ve doğumsal anomalilerin ortaya çıkmasında önemli bir payı olan Robertsonian translokasyonlar oluşturmaktadır. D/D, D/G ve G/G grupları arasında ilk sırayı 13q;14q ve 14q;21q'in sentrik kaynaşması sonucu oluşan Robertsonian translokasyonlar almaktadır. Periferik kan lenfosit kültürleriyle gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada 13,14,15,21 ve 22 numaralı kromozomların işe karıştığı 22 olguda Robertsonian translokasyonların dağılımı incelendi. Bunların onbirinde 14q;21q, birinde 15q;21q, üçünde 21q;21q Robertsonian translokasyonlarından kaynaklanan trizomi 21, bir olguda maternal 13q;14q translokasyonundan kaynaklanan trizomi 13 saptandı. Fetal kayıpları olması nedeniyle incelemeye alınan altı olgunun da dengeli Robertsonian translokasyon taşıyıcısı olduğu anlaşıldı. Robertsonian translokasyon kromozomlarının parental orijininin, aile çalışmaları yapılabilen olguların 9'unda maternal, 5'inde paternal ve 5'inde de novo olduğu belirlendi. Dengeli Robertsonian translokasyon taşıyıcılarında, translokasyon kromozomlarının dağılımı ve bu olguların üreme kayıpları ile anomalili çocuğa sahip olma riskleri gözden geçirildi.

P-18:

**LABORATUVARIMIZDA SAPTANAN DENGELİ VE DENGESİZ
RESİPROKAL TRANSLOKASYONLARIN DAĞILIMI**

Sennur Demirel, Ayşegül Zamani, Gül Durakbaşı, Aynur Acar

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Bilim Dalı, Konya

İnsan kromozomlarında, her bir kromozomun her bir bandında oluşabilecek kırıkların yeniden düzenlenmelere sebep olabileceği; ancak belirli kromozomların bazı spesifik kırık noktalarının daha sık işe karıştığı vurgulanmaktadır. Dengeli resiprokal translokasyon taşıyıcıları, çoğunlukla klinik olarak normal olmakla birlikte, spontan abortus, perinatal ölüm ve anomalili çocuk doğumlarının yüksek insidansına sahiptir. Bu çalışmada üreme kayıpları nedeniyle sitogenetik analize alınan olgulardan periferik kan lenfosit kültürleri hazırlandı. Preparatlar önce GTG bantlama, gerektiğinde translokasyonun niteliğine bağlı olarak HRB, NOR ya da C bantlama yöntemlerinden biri ya da birkaçı birlikte uygulanarak incelendi. 6 olguda dengesiz, 9 olguda dengeli resiprokal translokasyon saptandı. Dengesiz karyotiplerin tümü parsiyel trizomiler olup, 3'ü maternal, 3'ü paternal kalıtım gösteriyordu. 9p parsiyel trizomisi (9p13→pter) gözlenen iki kardeş 9;13 dengeli resiprokal translokasyon taşıyıcısı bir annenin çocuklarıydı. İki ayrı ailede saptanan 10q parsiyel trizomileri (10q22→qter ve 10q24→qter) 10;22 ve 5;10 dengeli resiprokal translokasyonlarının ürünü olarak ortaya çıkmıştı. Bir olguda 14q parsiyel trizomisi (14q24→qter) ve bir olguda da 15q parsiyel trizomisi (15q21→qter) gözlemlendi. Dengeli resiprokal translokasyon taşıyıcısı olan ve aile çalışmaları yapılabilen olgularımızın 1'i maternal, 2'si paternal, 3'ü de de novo idi. İki olguda dengeli resiprokal translokasyona trizomi 21 eşlik ediyordu. Genellikle klinik yönden normal olan dengeli translokasyon taşıyıcılarının saptanması, tekrarlayan abortusların nedenini açıklamak ve anomalili çocukların doğumunu kontrol edebilmek açısından önemlidir.

P-19:

TEKRARLAYAN SPONTAN ABORTUSLU ÇİFTLERDE KROMOZOM ANOMALİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Deniz EROL, Halit ELYAS, Hüseyin YÜCE, Haluk AKIN

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Elazığ

Tüm gebeliklerin yaklaşık %15-20'si bir abortusla sonuçlanmaktadır. Bu abortusların büyük çoğunluğu ilk-trimesterde görülür. Bunların da %50'sinden fazlasına kromozom anomalilerinin neden olduğu bildirilmektedir. İki veya daha fazla spontan abortusa sahip çiftlerde eşlerden biri %3-5 oranında dengeli bir kromozomal yeniden düzenlenmeye sahiptir. Tekrarlayan gebelik kayıpları olan çiftlerdeki en yaygın kromozomal anomaliler dengeli translokasyonlardır.

Bu çalışmada 2000-2001 tarihleri arasında Fırat Tıp Merkezine başvuran iki veya daha fazla spontan abortuslu veya en az bir spontan abortus ve bir ölü doğumlu 80 çiftte yapılan sitogenetik inceleme sonuçları sunulmaktadır. Kromozomlar periferik kan lenfositlerinden standart sitogenetik tekniklerle elde edildi. Kromozomal anormalliği olan vakaların sonuçları, FISH (Floresans *in situ* Hibridizasyon) tekniği ile teyit edildi.

Tekrarlayan spontan abortuslu 80 çiftte iki i(9q), bir 13/14 Robertsonian translokasyon ve bir Yq+ olmak üzere 4 kromozomal anomali saptandı. Bu çalışmadaki kromozomal anomali insidansı literatür ile uyumlu olup %5 olarak belirlenmiştir.

Tekrarlayan spontan abortuslu çiftlerde kromozom anormalliklerinin değerlendirilmesi, bu çiftlerin daha sonraki gebelikleri için sağlıklı bir genetik danışmanlık verilmesinde önemlidir.

P-20:

**KROMOZOMAL ANOMALİLERDE ATOMİK KUVVET MİKROSKOBUNUN
STANDART YÖNTEMLERE KATKISI**

*Mehmet Ali Ergün¹, Feride İffet Şahin¹, Erdal Tan², Ece Mercanoğlu¹, Derya Kan¹,
Adnan Menevşe¹*

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Ankara

²Atom Enerjisi Kurumu, Malzeme Araştırma Bölümü, Ankara Nükleer Araştırma ve
Eğitim Merkezi, 06105, Beşevler, Ankara

Kromozomal anomaliler atomik kuvvet mikroskobu(AKM) ile ayrıntılı olarak incelenebilmektedir. Sayısal ve yapısal anomalilerin yanısıra sitogenetik işlemlerin ayrıntılı incelenmesinde de AKM'nin üstünlükleri bulunmaktadır. Bu çalışmada, anabilim dalımıza başvuran bir hastamızın kromozomları AKM ile incelenmiştir. Işık mikroskobu ile sitogenetik analizi yapılan bu hastanın, kromozomları AKM ile incelenerek 3 boyutlu görüntüleri elde edilmiş; Super Tip® kullanılarak, kromozom üzerindeki kırık noktaları ve gap bölgeleri araştırılmıştır. Böylece, standart ışık mikroskobuyla gözlenemeyen ultrastrüktürel değişiklikler, AKM ile gösterilerek, rutin çalışmalarda AKM' nin yararı bir kez daha saptanmıştır.

P-21:

TEKRARLAYAN SPONTAN ABORTUSLU ÇİFTLERİN DÜŞÜK
MATERYALİNDEN KROMOZOMAL ANOMALİLERİN ANALİZİ

Hüseyin YÜCE, Halit ELYAS, Haluk AKIN

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Elazığ.

Spontan abortusların %50'sinden fazlasında özellikle otozomal trizomiler (%29), monozomi-X (%10), poliploidy (%10) ve mozaiklik gibi sayısal ve düşük oranda yapısal (%1-2) kromozomal defektler görülür. Düşük materyalinden yapılan sitogenetik çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular sonraki gebeliklerin ne olabileceği hakkında ve eşlerin bilgilendirilerek muhtemel tedavileri açısından aydınlatıcı veriler ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada 2 veya daha fazla spontan abortusu olan 50 çiftin düşük materyalinden doku kültürü yapıldı ve klasik sitogenetik analiz için yeteri kadar metafaz elde edilebilen 22 vakanın karyotipleri değerlendirildi. Metafaz analizleri yapılan 22 vakanın 10'unda (%45,5) çeşitli sayısal kromozom anomalileri görüldü. Bu anomalilerin 4'ü otozomal trizomi (%18,8), 1'i monozomi-X (%4,5), 3'ü triploidy (%13,6), 2'si mozaik sayısal kromozom anomalisi (%9) olarak saptandı. Mozaik vakaların karyotipleri 46,XX/92,XXXX ve 46,XX/47,XX,+11 olarak belirlendi. Klasik sitogenetik yöntemlerle saptanan sayısal kromozom anomalileri, ilgili kromozomlara ait sentromerik probler kullanılarak interfaz hücrelerinde Fluoresans *in situ* Hibridizasyon (FISH) yöntemiyle doğrulandı.

P-22:

BETA-TALASEMİDE TANIMLANAN YENİ MUTASYONLAR

[Hb Antalya, Hb Tyne/HbS, IVS1.110/Cod(3)(+T)]

*İbrahim Keser^{1,2}, Özlem Güzeloğlu-Kayışlı¹, Ahter D.Toraman¹, Akif Yeşilipek²,
Duran Canatan³, Güven Lüleci¹*

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı,

²Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Talasemi Tanı, Tedavi ve Araştırma Ünitesi,

³Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi Devlet Hastanesi Talasemi Merkezi, ANTALYA.

Beta-talasemi otozomal resesif bir hastalık olup, globin zincirinin sentezindeki indirgenmelerle karakterize edilir. Bugüne kadar beta-talasemi ile ilgili olarak yaklaşık 200 farklı mutasyon belirlenmiştir. Bu mutasyonlar genellikle globin genindeki nokta mutasyon, seyrek olarak da delesyonlar veya insersiyonlar şeklinde ortaya çıkmışlardır. Bu çalışmada, öntanı olarak beta-talasemi taşıyıcısı, intermedia ve majör tanısı alan birer hastada RDBH, ARMS ve DNA dizi analizi yöntemleri kullanılarak globin genindeki mutasyonlar tanımlanmaya çalışıldı. Sonuçta, literatürde ilk defa yer alan hemoglobin varyantı tanımlandı ve “ Hb Antalya ” olarak isimlendirildi. Yine literatürde ilk kez tanımlanan Hb Tyne/HbS ve IVS1.110/Cod(3)(+T) birlikteliklerini içeren genotipler saptandı. Tanımlanan bu 3 yeni mutasyonun ortaya çıkış mekanizmaları, hemoglobin molekülünün yapı ve fonksiyonu ile genotip-fenotip arasındaki ilişkiler tartışıldı. Bu yeni mutasyonlar, hemoglobinin yapı ve fonksiyonu arasındaki ilişkinin aydınlatılmasında önemli olacaktır.

P-23:

ANTALYA'DA BETA-TALASEMİDE PRENATAL TANI ÇALIŞMALARI

Ahter D.Toraman¹, İbrahim Keser^{1,2}, Özlem Güzelöğlü-Kayıslı¹, Mehmet Şimşek³, Akif Yeşilipek², Duran Canatan⁴, Güven Lülecı¹

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı,

²Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi Talasemi Tanı, Tedavi ve Araştırma Ünitesi,

³Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı,

⁴Devlet Hastanesi Talasemi Merkezi, ANTALYA

Beta-talasemi ve orak hücre anemisi (sickle cell anemia) Antalya'da en sık görülen hemoglobinopatilerdir. Bu çalışmada, beta-talasemi taşıyıcısı anne-babaların risk altındaki 32 fetusunda elde edilen CV, amniyosentez ve kordosentez örneklerine uygulanan RDBH, ARMS, VNTR ve DNA dizi analizi gibi moleküler genetik yöntemler kullanılarak, globin geni mutasyonları için prenatal tanı gerçekleştirildi. Ayrıca fetusun herhangi bir kromozomal anormalliği taşıma riskini ortadan kaldırmak için de CVS örneğinden kromozom analizi yapıldı. Çalışma sonucunda, 7 fetusun homozigot veya compound heterozigot genotiple hasta olduğu, 7 fetusun normal/normal, 18 fetusun da değişik mutasyonlar açısından heterozigot olduğu belirlendi. Kromozom analizi sonucunda bir olgunun inv (9) taşıdığı saptandı. Mutasyon taramasında en sık mutasyonun IVS 1.110 (G-A) olduğu bulunurken, mutasyon sıklığı ve tipinin Antalya popülasyonuna özgü olduğu görüldü.

Sonuç olarak, akraba evliliğinin sık olduğu Antalya'da, beta-talaseminin ve orak hücre anemisinin kontrol ve kayıt altına alınmasında prenatal tanının önemi vurgulandı.

P-24:

RİBOZOMAL PROTEİN S4 X'İN GEN EKSPRESYONUNUN RT-PCR İLE GÖSTERİLMESİ

*Sibel Berker Karaüzüm¹, Sezin Yakut¹, C.Figen Sargın¹, Ömür Taşkın², Şükran Taçoğlu³,
Güven Lülecî¹*

¹Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı,

²Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı,

³Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, ANTALYA

Son yıllarda ribozomal protein genlerinden RPS4X'in Turner fenotipinin engellenmesinde önemli rol oynadığı düşünülmekte ve bu genin tek kopya olarak bulunması durumunda RPS4X ekspresyon düzeyinin direk ölçülerek Turner fenotipi ile ilişkili olup olmadığının gösterilmesi mümkün olmaktadır.

Bu çalışmada, karyotipi 46,XX olmasına rağmen klinik olarak Turner sendromu düşünülen 22 bireyde RT-PCR yöntemi uygulandığında, 3 olguda RPS4X geninin ekspresyonu gözlenmemiştir. Ayrıca pozitif kontrol olarak alınan, karyotipi 45, X olarak belirlenen yenidoğan Turner sendromlu bir olguda ise ekspresyonda beklenilenin iki katı artış bulunmuştur.

Bu bulgular değerlendirilerek, RPS4X geninin ekspresyon düzeyleri ile fenotip arasındaki korelasyon, literatür verileri ile tartışılmıştır.

P-25:

İNFERTİL ERKEKLERDE Y KROMOZOMU ÜZERİNDE BULUNAN AZF BÖLGESİNDEKİ MİKRODELESYONLARIN PCR İLE SAPTANMASI

Figen C. Sargın¹, Sibel Berker Karazüm¹, Esra Manguoğlu¹, Güven Lüleci¹, Şeyda Karaveli², Hakan Gülkesen², Tübet Erdoğan³

¹ Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı,

² Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı,

³ Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, ANTALYA

İdiyopatik infertilite görülen erkek bireylerde yapılan çalışmalarda Y kromozomunun, spermatogenezisi kontrol eden genleri içerdiği bildirilmiş, değişik moleküler tekniklerle, Yq 11.23'de interval V ve VI'da "Azoospermik faktör" (AZF) olarak tanımlanan spermatogenezisten sorumlu genler klonlanmıştır.

Bu çalışmada 29' u idiyopatik, 7' si varikozel, 4' ü obstrüksiyon ve 1'i de toksik ajana maruz kalma etiyolojisiyle gönderilen toplam 44 infertil erkek birey ele alınmıştır. Olguların 43'ünde sitogenetik olarak karyotip 46,XY, birinde ise 46,XX olarak belirlenmiştir. Y kromozomunun q11.23 bölgesindeki AZFa, b ve c lokuslarına spesifik primerler kullanılarak multipleks PCR yöntemi ile bu bireylerde mikrodelsyon olup olmadığına bakılmış, 3 bireyde delesyon saptanmış ve bulgular literatür ışığında tartışılmıştır.

P-26:

DEĞİŞİME UĞRAMIŞ (MODİFİYE) KÜLTÜRE FİBROBLASTLAR İLE XENOJENİK DERİ GREFTİ YAŞAM SÜRESİNİN ARTIRILMASI

Ergin ER¹, Yasemin SOYSAL², Necat İMİRZALIOĞLU²

¹ Gülhane Askeri Tıp Akademisi Plastik ve Rekonstruktif Cerrahi A.B.D, ANKARA.

² Gülhane Askeri Tıp Akademisi Tıbbi Genetik B.D, ANKARA.

Allojenik ve xenojenik doku aktarımlarında sıklıkla kullanılan sistemik SiklosporinA (CsA) etkisini in vitro ve in vivo olarak güçlü immünsupresif bir sitokin olan TGF- β 1 üstünden yapmaktadır. Bu deneysel çalışmada CsA ile TGF- β 1 gen ekspresyonu artırılan değişime uğramış kültüre fibroblastların xenojenik deri grefti altına mikroimplante edilerek doku atılım üzerine etkisi araştırılmıştır.

İlk aşamada 5 rattan cilt biyopsileri alınarak fibroblast kültürleri hazırlandı. Kültür ortamına tek doz 100 ng/ml, 500ng/ml, 1000 ng/ml, 2000 ng/ml ve 3000ng/ml CsA eklendi. 72 saat sonra kültür süpernatantları alınarak ELİSA ile TGF- β 1 düzeyleri ölçüldü ve 100 ve 500 ng/ml dozu ile fibroblastların canlılığını korurken deney için yeterli TGF- β 1 salgıladıkları saptandı.

İkinci aşamada 6 gruba ayrılan ratların sırtında 2x2 cm lik standart deri defektleri oluşturuldu. Tüm ratlarda bu defektler gönüllü donörlerden alınan ince kalınlık insan deri greftleri ile kapatıldı.

Sonuç olarak bu çalışmada deri grefti gibi türe ve bireye özgün antijenleri maksimum oranda eksprese eden bir organ ve bu tür bir ekspresyona en şiddetli immun reaksiyonla cevap verilmesine neden olan ksenotransplantasyon modeli kullanıldı. Alıcı fibroblastlara in vitro ortamda değişik konsantrasyonlarda CsA uygulanarak güçlü immünsüpresif özelliğe sahip endojen bir sitokin olan TGF- β 1 gen ekspresyonu sağlandı. Değişime uğratılmış fibroblastların tekrar in vivo ortama mikroimplante edilerek lokal immünsüpresif etki ile greft yaşama süresinin anlamlı derecede uzatılabileceği gösterildi.

P-27:

**PARAQUAT'IN FARELERİN AKCİĞERLERİNDEKİ ADENOZİN
DEAMİNAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Fikriye POLAT¹, Ahmet ÇOLAK²

¹*Cumhuriyet Üniversitesi Eğitim Fakültesi O.F.M.A. Bölümü Biyoloji Eğitimi A.B.D., Sivas*

²*Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Sivas*

Bu çalışmada, yabancı otlarla mücadelede bir herbisit olarak kullanılan Paraquat'ın LD₃₀ (20 mg.kg⁻¹) dozu *Mus musculus*- swiss albino farelere intraperitoneal yoldan uygulanarak 2, 4, 8, 16, 32, 64 ve 72 saat sonra akciğer Adenozin deaminaz aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Çalışmada, Paraquat akciğerlerde Adenozin deaminaz aktivitesinde başlangıçta önemli bir inhibisyon oluştururken 16. saatten sonra bu inhibisyon yerini aktiviteye bırakmış, 64 ve 72. saatlerde istatistiksel olarak önemli bir artış bulunmuştur.

P-28:

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN AKCİĞER İSKEMİ REPERFÜZYON MODELİNDE LİPİD PEROKSİDASYONUN ROLÜ

¹Zeybek Ü, ¹Yaylım İ, ¹Ergen A, ¹Aydın M

¹ İ.Ü.Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, İstanbul

Amaç: Bu çalışmada, sıçanlarda oluşturulan akut alt ekstremitte İskemi/Reperfüzyon (I/R) hasarı ile akciğer dokusunda gözlenen serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyon değişimleri ve malondialdehit (MDA) farklılıklarının gösterilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışmamızda 16 adet 320-370 gram ağırlığında Sprague Dawley soyu sağlıklı sıçan kontrol (A) ve iskemi (B) gruplarına ayrıldı. A grubundaki sıçanların laparotomi ile batinları açıldı ve sadece abdominal aorta eksplore edilip batinlar kapatıldı. B gubu hayvanlarda distal abdominal aorta iliyak bifürkasyonun proksimalinden koroner bulldog klemp ile 45 dakika klemplendi. Uygulanan klemp açılarak reperfüzyon hasarı oluşturuldu. 48 saat sonra sakrifiye edilen sıçanların akciğerlerinde (MDA) malondialdehid seviyeleri ölçüldü.

Bulgular: Reperfüzyon hasarı sonrası 48. saatte sakrifiye edilen hayvanlarda yapılan ölçümlerde, Grup A'ya ait sıçanların ortalama malondialdehit (MDA) değeri 69.25 ± 7.68 nmol/gr doku olarak bulunurken, Grup B' ye ait sıçanlarda ise 103.5 ± 12.6 nmol/gr doku düzeyleri saptanmıştır.

Sonuçlar: Çalışma sonunda, 48. saatte Grup A ile Grup B' ye ait malondialdehit (MDA) düzeyleri incelendiğinde, Grup B'nin değerleri Grup A'ya göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Çalışma grubundaki serbest radikal seviyesindeki söz konusu artış, akciğerlerde serbest oksijen radikallerinin de içinde bulunduğu bir mekanizma ile doku hasarının oluştuğunu ortaya koymaktadır. Diğer yandan mevcut literatür bilgisine ek olarak İskemi/Reperfüzyon hasarı sonrası gelişen uzak organ hasarında diğer serbest oksijen radikallerinin durumu ile anti-oksidan ilaçların etkinliği daha fazla klinik ve laboratuvar çalışması ile desteklenmelidir.

P.29:

**SALMONELLA PARATYPHI H ANTİJENİ İLE UYARILMIŞ SIÇAN LENF
DÜĞÜMLERİNDE GERMINAL MERKEZLER VE PARAKORTEKS
BÖLGESİNDE APOPTOTİK HÜCRELER**

D.Özlem ÖZTÜRK¹, Nuriye ÖZCELİK²

*Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji¹, Tıbbi Biyoloji ve
Genetik² Anabilim Dalı, ISPARTA*

Lenf düğümlerinin asıl görevi antijenle uğraşmaktır. Antijenle içiçelik lenf düğümü histolojisinde değişkenliğe yol açar.En normal olarak değerlendirilen lenf düğümleri bile bir dereceye kadar uyarılmıştır.

Bu çalışmada, sıçan lenf düğümleri, bilinen bir antijen (Salmonella paratyphi) ile uyarıldı, korteks bölgesi germinal merkezlerinde ve parakorteks bölgesindeki apoptotik hücreler belirlendi. Germinal merkezlerin boyanabilen cisim makrofajları (TBM) nın sitoplazmalarında apoptotik olduğu düşünülen lenfositlere ait kromatin artıkları içerdikleri gözlemlendi.Antijen ile uyarımın sekizinci gününde çok sayıda TBM görüldü.

Işık mikroskobu düzeyinde zemin boyası olarak pikrofuksinin kullanıldığı demirli hematoksilen boyası, apoptotik hücrelerin kolayca belirlenmesini sağladı.

P-30:

OKRATOKSİN A' NIN TOKSİK ETKİLERİ VE ELİMİNASYONU

Mustafa SOYÖZ¹, Nuriye ÖZÇELİK¹

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, ISPARTA

Çeşitli araştırmalar bir mikotoksin olan Okratoksin A' nın (OA), karsinojenik, genotoksik, teratojenik, immunotoksik ve nefrotoksik etkilerini ortaya koymaktadır. OA, DNA kırılmaları, protein sentezinin inhibisyonu ve glikoneogenezis, lipid peroksidasyonu, mitokondrideki oksidatif fosforilasyonun bozulması, kanın pıhtılaşmasının engellenmesi ve apoptotik etkisi nedeniyle büyük önem taşımaktadır. Toksinin bir bölümünün eliminasyona uğradığı ilk organ karaciğerdir daha sonra safradan atılır ve sistemik kan dolaşımına girer. Eliminasyonun diğer önemli organı böbrektir. OA, bütün nefron segmentlerinden geri emilir, bu proses toksinin böbrek dokusunda birikmesine ve toksisitesinin artmasına neden olur. Ara-taşıyıcıların toksini kandan ayırması, organizmanın toksik yükünü azaltır, fakat aynı anda böbrek ve karaciğerin eliminasyon yükünde artışa neden olur, OA yüksek konsantrasyonlarda bu organlarda birikir. Safra kesesinden uzaklaştırılan toksini ayıran ince barsaklardır, OA' nın toksik etkileri bu organlarda da gözlenir. OA'nın kanser oluşturma riski üç fare ve bir rat türünde değerlendirilmiş, böbrek ve bir bölümü olan tübüler epitel hücrelerin, OA'nın lezyonlara yol açtığı birincil hedef organ olduğu belirlenmiştir. Erkek ddY ve DDD farelerde, atipik hücre çoğalmasına, renal tübüler hücrelerde epitelden gelişip yer yer kistik oluşumlar gösteren iyi ve kötü huylu tümör oluşumuna yol açtığı gibi, karaciğerde tümör yapısında nodül ve karaciğer hücre tümörleri oluşturmaktadır. B6C3F1 erkek farelerde, tübüler ve karaciğer hücre adenom ve karsinomlarına neden olur. Erkek ve dişi F344 ratlarda OA, tümöral (adenomlar ve metastaz gösteren karsinomlar) ve tümöral olmayan (dejenerasyon, çekirdek büyümesi, proliferasyon, sitoplazmik değişiklikler, hiperplazi), etkilere yol açar; dişi ratlarda, meme bezlerindeki fibroadenomların insidansını yükseltir. Son yıllarda OA' nın, özellikle insanlarda toksik ve karsinojenik etkileri üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır.

P-31:

DİFLUNİSALİN İDRAR VOLÜMÜNE, pH'SINA VE ÜRİK ASİT
ATILIMINA ETKİSİ

Ayşe Gaye TOMATIR¹, Sefa GEZ²

¹ Pamukkale Üniversitesi Denizli Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, DENİZLİ

² Pamukkale Üniversitesi Mediko-Sosyal Merkezi, DENİZLİ

Bu çalışmada, bir salisilik asit türevi olan diflunisalin idrar volümüne , pH'sına ve ürik asit atılımına etkisi incelendi. 250, 500, 1000 mg/kg ilaç dozları gün boyunca, günde 2 kez, Wistar albino erkek ratlara intraperitoneal olarak uygulandı. Deney sonunda, ratlardan bir gece siklusu boyunca toplanan idrar örneklerinde; volü, pH ve ürik asit değerleri ölçüldü. Veriler tek yönlü varyans analizine göre istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; idrar volümü, pH ve ürik asit atılımında gruplar arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

F-32:

**ETİLNİTROZOÜRE İLE İNDÜKLENMİŞ RAT K-RAS ONKOGENİNE
5-AZA-2-DEOKSİTİDİNİN ETKİSİ**

Mehmet KORKMAZ, Öztürk ÖZDEMİR**, Hüseyin E. BULUT***, Ahmet ÇOLAK***

* Balıkesir Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu 10100-BALIKESİR

** Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.B.D. 58140-SİVAS

*** Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji A.B.D. 58140-SİVAS

N-ethyl-N-Nitrosourea (ENU) potent bir kanserojen olarak bilinir. Araştırmamızda ratlara değişik dozlarda ENU verilerek kolon kanseri oluşturuldu. Meydana gelen kolonal polipler ve lenfosit hücre proliferasyonlarının artışı bir DNA metil inhibitörü antineoplastik ajan 5-Aza-2 -deoksitidin (5-azadC) ile ortadan kaldırılması amaçlandı. Kontrol, neoplazik ve tedavi görmüş rat kolon dokularının ışık-elektron mikroskopunda tanıları kondu. Her üç dokuya ait genomik DNA 'lar izole edilerek dizi analizi yapıldı. Karşılaştırma için aynı hayvanın karaciğer DNA sı da alınarak analiz yapıldı. Sonuç olarak ajanın neden olduğu polip ve hücre proliferasyonları artışı, 15 haftalık 5-azadC enjeksiyonu yapılarak rat kolon dokusunda bu bulgulara rastlanmadı. Diğer taraf dan K-Ras-ekson 2 'de ENU 'lu kolon ve karaciğer DNA 26. Bazda C/G-G/C geçişine, ek olarak kolonda 22.bazda A/T-G/C karşılıklı geçişi ve 24. Bazda T/A-A/T değişimini belirledik. 5-azadC uygulanması sonrası aynı onkogende tedavi sonrası 22. Ve 24. Bazlarda nokta mutasyonun ortadan kalktığı, 26. Bazdaki değişimin aynen kaldığı, ek olarak 106. Bazda A/T-G/C karşılıklı baz geçişi saptanmıştır. Bu bilgiler ışığı altında; ENU mutasyonlu kolon K-Ras da bir kısım mutasyonun 5-azadC tarafından kaldırıldığı düşünülse bile, gerek karaciğer gerekse kolonda ek mutasyona neden olduğu, tümöral dokudaki geri dönüşümün tümör süpressör genlerdeki reaktivasyon mekanizmasıyla başarıldığı söylenebilir.

F-33:

5-AZA-DEOKSİSİTİDİN' NİN METABOLİK SİTOZOLİK BAZI ANAHTAR ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE İN VİVO ETKİSİ

İzzet YELKOVAN¹, Fikriye POLAT², Öztürk ÖZDEMİR¹, Ziyet ÇINAR³

¹*Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Sivas*

²*Cumhuriyet Üniversitesi Eğitim Fakültesi O.F.M.A. Bölümü Biyoloji Eğitimi A.B.D., Sivas*

³*Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı, Sivas*

Bu çalışmada, sitozinin yerine geçerek DNA' da hipometilasyona neden olan 5-aza-deoksisitidin (5-aza-dC) nin hücre biyokimyası açısından bazı enzim aktiviteleri üzerine olası in vivo etkilerini belirlemek için ; Sıçanlar (n=3) 500 mg/kg/gün dozu ile intraperitoneal (ip) olarak 25 gün dozlandı. Sıçanların karaciğer, akciğer, böbrek, dalak ve kalp hücreleri sitoplazmik Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz (G-6-P DH), Adenozin deaminaz (ADA) ve Glutasyon S-transferaz (GST) enzim özgül aktiviteleri bulunarak kontrol grubu (n=3) değerleri ile karşılaştırıldı (Mann-Witney U Testi).

P-34:

**BONGARDIA CHRYSOGONUM (L) SPACH 'IN SIÇANLARIN BAZI SERUM
PARAMETRELERİ İLE KARACİĞER VE BÖBREK DOKULARI ÜZERİNE
ETKİSİ**

*Ecir Ali ÇAKMAK¹, Mehmet TARAKÇIOĞLU², Beyhan CENGİZ³, Cahit BAĞCI³,
Ahmet ARSLAN¹, İbrahim SARI⁴*

¹Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, GAZİANTEP

²Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, GAZİANTEP

³Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, GAZİANTEP

⁴Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, GAZİANTEP

Gaziantep yöresinde halk arasında yumrularının % 2-3 lük kaynatılmış süzüntüsünü günlük yarım çay bardağı içilmesi halinde idrar yolları hastalıkları, basur ve prostata karşı kullanılan ve çok etkili olduğu ileri sürülen Bongardia chrysogonum'un sıçanların bazı serum parametreleri ve ayrıca histopatolojik olarak karaciğer ve böbrek dokusu üzerine etkisinin incelenmesi amaçlandı. Bongardia chrysogonum'un %1, %2 ve %3 lük oranlarda su ile hazırlanıp karışım 2-3 dakika kaynatıldıktan sonra süzülerek süzüntü sıçanlara (0.2 ml / gün şeklinde) 60 gün süreyle intragastrik olarak verildi. 15., 30., 45. Ve 60. günlerde kalpten kan alınarak serum glukoz, kreatinin, üre, üre azotu (BUN), ürik asit, kolesterol, çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL), Trigliserit, total protein, albumin, globulin, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), kreatinin kinaz (CK), laktat dehidrogenaz (LDH), sodyum (Na), potasyum (K), klor (Cl), fosfor (P) ve magnezyum (Mg) değerleri ölçüldü. Sıçanların karaciğer ve böbrekleri formalin ile tesbit edilip parafin bloklara gömülerek ışık mikroskobu ile incelemeleri yapıldı. Bongardia chrysogonum verilen sıçanlarda glukoz, kreatinin, üre, BUN, kolesterol, VLDL, trigliserit, globulin, AST, ALT, ALP, Na, K, Cl, P ve Mg serum değerlerinin azaldığı, kreatinin, ürik asit, CK, ve LDH değerlerinin değişmediği görüldü. Total protein, albumin ve globulin düzeyleri kısa dönemde (<30 gün) anlamlı şekilde düşmesine rağmen uzun dönemde (>30 gün) tekrar normal seviyelerine yükseldiler. Histopatolojik incelemelerde karaciğer ve böbrek dokularının kontrol grubu dokularından farklılık göstermediği saptandı. Sonuç olarak, Bongardia chrysogonum yumrularından elde edilen çözeltiler karbohidrat ve yağ metabolizmasını etkilemektedir. Bu muhtemelen bağırsaklardan emilimlerini azaltması yanında amino asit ve protein metabolizmasını etkilemediği anlaşılmaktadır. Buradaki veriler karaciğer ve böbrek dokusu üzerine toksik etki yapmadığını göstermektedir. Bununla birlikte, yumru süzüntüsünün elektrolit düzeylerine olan negatif etkisi bu yumrularda bulunan saponin ve alkaloidlerin hücre zarı yapısını bozdukları ve elektrolit sızıntılarına yol açtıklarını göstermektedir ve bu yolla bağırsak villuslarının zar yapısını bozarak bağırsak emilimini değiştirdiği düşünülebilir.

P-35:

RAT FETÜSLERİNDE VİGABATRİNİN ANTİOKSİDAN VE TERATOJENİK ETKİLERİ

Müjgan Cengiz, Adnan Yüksel*, Ümran Çetinel*, Figen Aksoy**, Ahmet Özaydın*,
Mehmet Seven*, Anıl Özkılıç*, Tuncay Altuğ***,*

İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi GETAM, Patoloji ABD**, DH Laboratuvarı****

Vigabatrin gama aminobütirik asit (GABA) transaminazı inhibe ederek beyinde GABA düzeyinin yükselmesine neden olan bir antiepileptik ilaçtır. Bu ilacın güvenilirliği ve diğer etkileri ile ilgili pekçok araştırma vardır, ancak gebelikte teratojenitesi ve antioksidan sistem üzerine etkileri ile ilgili bilgiler sınırlıdır.

Çalışmamızda gavaj yoluyla verilen vigabatrinin gebe rat fetüslerinin karaciğer antioksidan sistemine ve bu fetüslere olan teratojenik etkileri araştırıldı. Bu amaçla vigabatrinin 1.trimester (4 adet gebe rat), 2.trimester (4 adet gebe rat), 3.trimester (4 adet gebe rat) ve tüm trimesterler (4 adet gebe rat) boyunca kullanımının rat fetüslerinde meydana getirdiği teratojenik etkiler ve antioksidan sistem değişiklikleri incelendi.

Rat fetüslerinde karaciğer homojenatında protein oksidasyonu, lipid peroksidasyonu, glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon s-transferaz düzeyleri ölçüldü ve gebeliği süresince normal ve yüksek dozda vigabatrin verilen ratlardan doğan 107 rat fetüste tesbit edilen anomaliler ve antioksidan sistem değişiklikleri, gebeliği süresince ilaç almayan ratlardan doğan 26 rat fetus sonuçları karşılaştırıldı.

P-36:

**DENEYSEL DİABETTE VALSARTAN VE ENALAPRİL'İN NEFROPATİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN TGF- β 1 EKSPRESYONU, MİKROALBUMİNÜRİ
VE GLOMERUL MORFOLOJİSİ AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI**

B.Kalender¹, M.Öztürk², M.Tunçdemir², Ö.Uysal³, F.Dağistanlı², İ.Yegenaga¹, E.Erek⁴

¹ Kocaeli Ü. Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı, Kocaeli

² İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³ İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Bioistatistik Bilim Dalı, İstanbul

⁴ İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı, İstanbul

Diabetik nefropati gelişiminin ve ilerlemesinin nedenlerinden biri glomerül fonksiyon bozukluğudur. Mikroalbuminüri, glomerül hemodinamiğindeki ciddi değişimlerin bir sonucudur ve renal hasarın erken bir bulgusudur. TGF- β 1 hücreler arası matris proteinlerinin sentezlerini uyararak diabetik nefropati gelişimine katılır. Çeşitli antihipertansif ilaçlar diabetik renal tutulumun düzenlenmesinde kullanılır. Bu çalışmada; Streptozotocin (STZ) diabetik sıçanların angiotensin II reseptör antagonisti olan valsartan ve ACE inhibitörü olan enalapril ile tedavileri, glomerül morfolojisi, renal TGF- β 1 ekspresyonu ve mikroalbuminüri (MA) düzeyleri açısından karşılaştırmalı olarak araştırıldı.

Çalışmada Wistar sıçanlardan 5 grup oluşturuldu. Gruplar; (1)STZ-diabetik (65 mg/kg), (2)Enalapril (E; 10 mg/kg) tedavili diabetik, (3)Valsartan (V;50 mg/kg) tedavili diabetik, (4) E+V (5+30 mg/kg) kombine tedavili diabetik, (5) sağlıklı kontrol olarak düzenlendi. İlaç uygulamaları 1 ay süre ile yapıldı. Tüm grupların kan glukoz ve MA düzeyleri ölçüldü. Böbrek doku kesitlerine PAS boyası ve TGF- β 1 antikoru ile immunohistokimyasal boyama uygulandı. Glomerül çap ölçümleri yapıldı.

STZ-diabetik grubun kan glukoz ve MA düzeyleri diabetik olmayan gruba göre önemli derecede yüksekti ($p<0,001$). Tedavili diabetik gruplara ait MA düzeyleri deney sonunda diabetiklere göre belirgin olarak düşüktü ($p<0,01$). Valsartan grubunda 15.gün yüksek saptanan MA düzeyi deney sonunda diğer tedavili gruplara benzerdi. Morfolojik olarak; sağlıklı kontrol ile kıyaslandığında, diabetiklerde glomerül bazal mebran kalınlaşması ve mezangial matris artışı ayrıca şiddetli TGF- β 1 immunreaktivitesi gözlemlendi. Tüm tedavili gruplarda glomerül morfolojilerinin diabetikle grub ile karşılaştırıldığında iyi korunmuş olduğu ve TGF- β 1 ekspresyonunda azalma olduğu saptandı.

Enalapril ve valsartan'ın hem tek başına hemde kombine kullanımının diabette renal koruyucu etkiye sahip oldukları, ancak ilaçların düşük dozlarda kullanıldığı kombine terapinin monoterapilerden daha yararlı olabileceği sonucuna varıldı.

P-37:

NIKOTİNAMİD'İN STZ DİABETİNDE ÖNLEYİCİ VE TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

S.Yılmaz¹, M.Tuncdemir¹, F.Dağıstanlı¹, Ö.Uysal³, H.İlkova², H.Hatemi²

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

² İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul

³ İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Bioistatistik Bilim Dalı, İstanbul

Bir poli (ADP-riboz) sentetaz inhibitörü ve NAD öncülü olan nikotinamidin pankreas adacıklarını toksik hasarlara karşı koruduğu Tip 1 diabet modellerinde ve insanda bildirilmiştir. Bu çalışmada nikotinamidin, streptozotocin (STZ) diabetinde önleyici etkisinin olup olmadığını ve STZ ile diabet oluşturulduktan sonra nikotinamid verilmesinin STZ etkisiyle oluşan toksik hasardan koruma sağlayıp sağlamadığını araştırmayı amaçladık.

Çalışmada 24 adet Wistar tipi albino sıçandan oluşan 4 grup kullanıldı. 1. ve 2. gruplara STZ (65 mg/kg) tek doz halinde verildi. STZ-diabetik 1.gruba herhangi bir tedavi uygulanmadı. 2.gruba nikotinamid (500 mg/kg/gün) intragastrik sonda ile 30 gün süre ile verildi. 3.gruba nikotinamid (500 mg /kg) verildikten 24 saat sonra STZ (65 mg/kg, tek doz) uygulandı. 4.grup kontrol grubu olarak ayrıldı. Deney süresince tüm grupların kan glukoz düzeyleri glukometre ile ölçüldü. Deney sonunda tüm deney hayvanlarından pankreas doku örnekleri alındı. Rutin ışık mikroskopik ve immunositokimyasal inceleme için hazırlandı.

STZ enjeksiyonundan 24 saat önce verilen nikotinamidin pankreas adacıklarında β hücrelerini minimal düzeyde koruduğu, adacıklarda oldukça az sayıda ve kuvvetli insulin (+) β hücrelerinin bulunduğu gözlemlendi. 30 gün süre ile nikotinamid verilen STZ diabetli sıçanlarda, tedavi uygulanmayan STZ diabetli sıçanlara kıyasla insulin (+) β hücrelerinin daha çok sayıda bulunduğu saptandı. Aynı grubun kan glukoz değerlerinde ($232,28 \pm 15,72$), tedavisiz diabetik gruba (400 ± 0) kıyasla azalma görülmekle beraber bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Sonuç olarak; nikotinamid'in kullandığımız doz ve uygulama modeli STZ-diabetinin önlenmesinde etkili olmamıştır. STZ diabeti oluşturulmuş sıçanlara nikotinamid uygulanması sonucunda, pankreas adacıkları ve kan glukoz düzeylerinde gözlediğimiz olumlu etkiler, hastalığın erken evrelerinde β hücre hasarının geri döndürülmesinde yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

P-38:

KAN DONÖRLERİ VE LÖSEMİ OLGULARINDA TTV VİRUSUNUN BELİRLENMESİ

*Erkan Yurtcu², Sevdâ Menevşe¹, Tuğba Ünsal², Feride İ. Şahin¹, Gülyüz Öztürk²,
Adnan Menevşe¹*

¹Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı,

²Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kan Merkezi, Ankara

TTV, (Transfusion Transmitted Virus) ilk kez 1997’de kan naklini takiben serum (Alanin Amino Transferaz) ALT düzeyi artmış ve bilinen tüm hepatit markerları açısından negatif bir Japon hastanın serumundan izole edilmiştir. Virusun, nedeni belli olmayan çeşitli hepatitlerden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Değişik ülkelerde yapılan çalışmalarda virusun dünya üzerinde geniş bir alanda yayıldığı, sıklığının toplumlara göre değişken ve en azından 16 genotipinin bulunduğu gösterilmiştir. Hasta serumundan izole edilen virus, nested PCR tekniği kullanılarak çoğaltılmakta ve jel elektroforezinde yürütülerek varlığı belirlenmektedir. Bu çalışmamızda, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kan Merkezinde Nisan 2001-Temmuz 2001 tarihleri arasında gönüllü olarak kan verenlerde, çocuk ve erişkin Hematoloji bölümünde ki Lösemi hastalarında virusun belirlenmesine çalışılmıştır. Analiz edilen 50 serumdan 13’ünde (%26) TTV DNA pozitif olarak belirlenmiştir. Eşzamanlı olarak yapılan testlerde hiçbir serumun ALT düzeyi normal sınırlar dışında çıkmamıştır.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Araştırma Fon saymanlığınca 01/2001-19 kod No’lu Proje ile desteklenmiştir.

P-39:

ÇUKUROVA YÖRESİNDE GÖZLENEN p53 EXON 5 MUTASYONLARI

*Davut ALPTEKİN¹, A.İrfan GÜZEL¹, H.Ümit LÜLEYAP¹, Yıldırım BEYAZIT²,
M. Şah TOPÇUOĞLU³, Halil KASAP¹*

¹Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, ADANA

²Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, ADANA

³Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, ADANA

İnsanda, farklı malign tümörlere neden olan p53 geni 17. kromozomun kısa kolu (p) üzerinde bulunmaktadır. Bu gen tarafından sentezlenen protein hücre siklusunun önemli bir regülatörü ve bir transkripsiyon faktörüdür. Normalde p53 geni inaktif olup mutasyonla veya delesyonla aktif duruma geçebilir. Mutajenik ajanla veya tümör viruslarından oluşan onkogenik proteinlerle p53 aktive olduğunda hücre siklusunun regülasyonu bozulur. Oluşan mutasyon hücre siklusunun S fazında onarılırsa hücre G₂ fazına geçer ve mitozaya girerek siklus devam eder. Fakat mutasyon onarılamazsa hücre ya apoptozise girer ya da G₂ evresinden mitozaya girerek mutant hücrelerin oluşmasına ve tümör dokusunun gelişmesine neden olur.

Bu çalışmada Çukurova yöresinde ki akciğer ve mesane tümörlerinde p53 geninin 5. exonundaki kodon 154 ve 175'de Restriction Frangment Length Polymorphism (RFLP) tekniği ile mutasyon taraması amaçlandı. Bu amaca yönelik olarak Ç.Ü. Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Üroloji ve Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dallarında mesane ve akciğer tümör tanısı konularak ameliyat edilen hastaların çıkarılan doku parçalarından örnekler alındı. Alınan örnekler %95'lik alkole konularak -20 °C'de saklandı. Toplam 7 akciğer, 11 mesane tümörü örneğinin DNA'ları izole edildi. Uygun primerler kullanılarak 5. exonu içerisine alan 397 bp uzunluğundaki bölge PCR ile çoğaltıldı. RFLP tekniği ile moleküler düzeyde kodon 154 için R *Msp* I, kodon 175 için de R *Cfo* I enzimleri kullanılarak moleküler düzeyde mutasyon taraması yapıldı. Çalışılan 11 örnekte kodon 154 ve 175'de mutasyona rastlanmadı.

P-40:

TURNER SENDROMU OLGULARINDA KARYOTİPİK DAĞILIM

Ayşe Gül ZAMANI¹, Sennur DEMİREL¹, H.Gül DURAKBAŞI¹, Tülin ÇORA¹, Aynur ACAR¹

¹Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Bilim Dalı, KONYA

Turner sendromu bulguları, primer amenore veya gelişme geriliği şikayetiyle laboratuvarımıza başvuran 37 olguda sitogenetik analizler yapılarak, X kromozom düzensizliklerinin dağılımı incelendi. Olgularımızın yaklaşık yarısını (%48.6) monozomi X oluşturuyordu. 16 olguda saptanan (%43.2) mozaik karyotiplerin dağılımı şöyle idi: Dokuz olguda 45,X/46,X,i(Xq); üç olguda 45,X/46X,r(X); bir olguda 45,X/46,X,+mar; bir olguda 45,X/46,XX/47,XXX; bir olguda 46,X,i(Xq)/47,X,i(Xq),i(Xq); bir olguda 45,X/46,XX.. Mozaikler arasında gözlenen en yaygın karyotip olan 45,X/46,X,i(Xq)(%24.3) diğer merkezler tarafından bildirilen oranlardan hayli yüksekti. Ancak diğer merkezlerde sık görülen 45,X/46,XX karyotipi bizim grubumuzda sadece bir olguda saptandı. Xq parsiyel delesyonuna sahip iki olgu da Turner Sendromu kliniği ile tam uyum göstermeyen fenotipik özelliklere sahipti.

P-41:

**X'E BAĞLI SPİNAL VE BULBAR MÜSKÜLER ATROFİLİ BİR AİLEDE
TRİNÜKLEOTİD (CAG) ARTIŞI**

Nilüfer ŞAHİN¹, Ersan KALAY¹, Cavit BOZ², Mustafa CALAPOĞLU³ ve Ahmet KARAGÜZEL¹

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD¹, Nöroloji ABD² ve Biyokimya ABD³

Kennedy's hastalığı veya X'e bağlı spinal ve bulbar müsküler atrofi, androjen reseptör geninin I. exonunda yer alan CAG tekrarlarının sayısındaki artışa bağlı olarak gelişen, nadir bir erişkin çağı motor nöron hastalığıdır. Normal populasyonda CAG tekrar sayısı 21 ± 2 iken, hastalarda 38-68 tekrarlara kadar yükselebilmektedir. İlerleyen kas güçsüzlüğü ve atrofisi, jinekomasti, oligospermi ve artan serum kreatin kinaz seviyesi gibi klinik bulgularla seyreden hastalığın şiddeti trinükleotid sayısındaki artışa bağlı olarak değişebilmektedir.

Bu çalışmada, klinik muayeneleri sonucu Kennedy's hastalığı şüphesi taşıyan fakat farklı ve atipik klinik bulgular da gösteren 3 hasta erkeğin bulunduğu 4 kuşaklı bir ailede androjen reseptör genindeki CAG tekrar sayılarına bakıldı. Standart metotlarla saflaştırılan DNA'lardan trinükleotid tekrar bölgeleri polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltıldı. Agaroz ve denaturan poliakrilamid jel elektroforezleri ile CAG tekrar sayılarındaki artışlar gösterildi.

Hasta erkeklerde androjen reseptör geninde 49 CAG tekrarı ile genişlemiş alleller gözlenirken, ailedeki bayanlarda 20-22 CAG tekrarlı normal alleller ile birlikte sayıları 49-51 arasında değişen CAG tekrarlarının bulunduğu genişlemiş alleller gözlemlendi. Bu bulgular Kennedy's hastalığı ile uyumludur.

P-42:

**PRENATAL TANIDA ÜÇ PSÖUDOMOSAİSM VAKASININ
KONFİRMASYONU**

YAKUT Tahsin¹, EGELİ Ünal¹, KİMYA Yalçın², DEMİRCİOĞLU Dilek¹

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD¹, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD²

Bilindiği gibi pseudomosaism, in vivo veya in vitro olarak fetal membrandaki ve trofoblast gibi ekstraembriyonik dokulardaki hücrelerin üremesi sonucu ortaya çıkar. Gerçek mosaism ile pseudomosaism'in ayırt edilebilmesi için, değişik kültür teknikleri, kordosentez, FISH (Flouresan İn Situ Hybridization) yada moleküler yöntemler gibi bazı tekniklerden yararlanılmaktadır.

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD Prenatal Tanı Laboratuvarında amniyosentez doku kültürlerinde gerçekleştirilen sitogenetik analizlerde 1 hastada 20 metafazdan 9 tanesinde 46 XY, t(14p;15q) + marker kromozom, diğer bir hastada 20 metafazdan 3 tanesinde 46 XX, t(16p;6q)(resiprokal translokasyon), yine diğer birinde ise 84 metafazdan 3 tanesinde 47 XY + 21 mosaism'i saptanmıştır. 1. ve 2. vakanın 2. ve 3. flasklarından 30'ar metafaz değerlendirildi ve aynı mosaisme rastlanmadığından mosaism ekarte edildi. 3. vakada ise 1. flaskta 2, 2. flaskta 1 trizomi 21'li metafaza rastlanması üzerine kordosentez önerildi. Kordosentezin sitogenetik analizinde 50 metafazda 46 XY saptanması ve 21. kromozoma ait lokus spesifik proba yapılan FISH analizinde 400 hücrede de 2 adet 21 sinyali gözlenmesi dolayısıyla kültür flasklarında gözlenen 21. kromozoma ait mozaik trizomiler pseudomosaism olarak değerlendirildi. Fetusun doğumundan sonra yapılan kontrolde 46 XY normal karyotip yapısı konfirme edildi.

P-43:

**KONYA VE YÖRESİNDE NORMAL SAĞLIKLI BİREYLERDE VE
ANTILOZAN SPONDİLİTLİ HASTA BİREYLERDE HLA ANTİJENLERİNİN
GÖRÜLME SIKLIĞI**

*H. Bige ARSLAN¹, Tülin ÇORA¹, Ahmet ARSLAN², Hatice UĞURLU³, Ali ŞENGÜL⁴,
Yeşim YAMANLAR⁴*

¹ Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, KONYA.

² Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, GAZİANTEP.

³ Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, KONYA.

⁴ Gülhane Askeri Tıp Akademisi İmmunoloji Anabilim Dalı, ANKARA.

HLA proteinleri alloantijenlerdir. Yani aynı ırkın bireyleri arasında oldukça farklılık gösterirler. HLA proteinleri ile ilgili genler MHC gen bölgesi içinde kümelenmişlerdir. MHC gen bölgesi 6. Kromozomun kısa kolu üzerinde takriben 3500 kb uzunluğundadır (1,2). HLA-A, HLA-B ve HLA-C genleri sınıf-I MHC proteinlerini kodlarlar. HLA-D gen bölgesi sınıf-II MHC proteinlerini (DP, DQ, DR) kodlarlar. Her bir birey ana ve atasından gelen ikği haplotipe sahiptir. Fakat bu genler çok polimorfik olduğundan yani sınıf-I ve sınıf-II genlerinin pek çok allelleri vardır. Mesela HLA-A geninin 47 alleli, HLA-B geninin 88 alleli, HLA-C geninin 29 alleli ve HLA-D geninin 300'den fazla alleli bilinmektedir (1). Bu genlerin ifadesi her iki allel tarafından sağlandığından ortak baskınlık (codominant) özellik gösterir (1,2). Ayrıca HLA gen bölgesi içerisinde oldukça sık rekombinasyon işlemi polimorfizmi daha da artırarak hemen hemen her insanın kendine özgü sınıf-I ve sınıf-II MHC proteinlerine sahip kılar. HLA gen bölgesinin kodladığı sınıf-I ve sınıf-II molekülleri işlenmiş yabancı peptidlerle bileşim oluşturarak o peptide özgün T lenfositlerinin tanınmasını sağlarlar (2). Sınıf-I moleküllerine bağlanmış antijenler (mesela viral peptidler) CD8+ sitolitik T lenfositler tarafından, sınıf-II moleküllerine bağlanmış antijenleride CD4+ yardımcı T hücreleri (makrofaj yoluyla bakteri ve mantarların imhası) tanır. MHC gen bölgesinde HLA genlerinin ifadesi transkripsiyon seviyesinde hücre tipine özgün faktörlerle yada IFN- α , IFN- β , IFN- γ , TNF, LT, IL-2, IL-4, IL-5, IL-10 gibi enflamasyon ve bağışıklık uyarıcı sitokinlerle düzenlenirler (1,2). Sınıf-II HLA molekülleri B hücresi, dentritik hücreler gibi belli başlı birkaç hücrede ifade edilirken sınıf-I HLA molekülleri hemen her hücrede ifade edilirler (2). Bu sebeple ancak birkaç hücre yardımcı T hücrelerine (CD4+) sınıf-II MHC moleküllerine bağlı antijen sunabilir (2). Dolayısıyla,

antijensunucu hücre yüzeyinde sınıf-II MHC moleküllerinin ifade düzeyi CD4+ T hücrelerinin o antijene karşı cevabının seviyesini de tayin eder. Sınıf-II MHC moleküllerini sentezleyen hücrelerde (B hücresi hariç) HLA-DR ve HLA-DP seviyesi HLA-DQ seviyesinden çok daha yüksek olmasına karşın, B hücrelerinde HLA-DQ molekülleri HLA-DP moleküllerinden çok daha fazla sentezlenir (2). T hücrelerinin çok farklı antijen bileşimlerine karşı karmaşık gözüken bağışıklık cevabı (alloreactive) HLA peptid bileşimlerinin farklılığını sağlayan MHC moleküllerine bağlıdır. Bu özellik T hücrelerinin kendi doku bileşenlerinin yabancı doku bileşenlerinden ayrımını sağladığı gibi doku uymazlığı ve doku reddi gibi özellikleri de taşır. Bahsedilen bu özellikler bireye özgün HLA proteinlerine bağlı bağışıklık cevabının seyrini veya bazı hastalıklara karşı yatkınlıklarını saptamamıza da yardımcı olur. Bu bakımdan Konya ve yöresi 20 sağlıklı ve 20 ankilizon spondilitli hastalar sınıf-I ve sınıf-II antijenleri bakımından değerlendirilmeye alındı. Sınıf-I ve sınıf-II HLA antijenleri serolojik olarak akrinin oranj ve etidium bromid kullanılarak immunofluoresan yöntemlerle tayin edildi. HLA antijenleri tiplerinde her bir bireyin serumunda HLA-A bölgesi için 14 antijene, B bölgesi için 26 antijene, C bölgesi için 9 antijene ve sınıf-II HLA-D antijenlerinin, tiplerinde DR bölgesi için 16 antijene ve DQ bölgesi için 7 antijen olmak üzere 72 antijene bakıldı. Sınıf-I HLA-A bölgesi antijenlerinden A1, A2, A3 ve A4 antijenleri diğer HLA-A antijenlerine göre daha yaygın olarak görüldü (%20-40). HLA-B grubu antijenleri arasından en yaygın Bw4 ve Bw6 antijenlerini (%55-75) sırasıyla B44 ve B27 antijenleri takip etti. B27 antijenleri AS'li hastalarda sağlıklı kontrol bireylerinden iki misli daha yüksek çıkmıştır. B44 antijeninde sadece kontrollerde görülmüştür (%25). HLA-C antijenleri arasında Cw1, Cw2 ve Cw7 antijenleri daha yaygın olarak görülmüş bunlardan Cw2 antijeni AS'li hastalarda (%25), Cw7 antijenleri de kontrollerde daha yaygın olmakla birlikte (%55), AS'li hastalarda da (%35) oldukça yaygın olduğu görülmüştür. Sınıf-II HLA antijenlerinden HLA-DQ8 antijenleri hariç diğer DQ antijenleri nisbeten yaygın çıkmıştır. Bunlardan HLA-DQ4, DQ5, DQ6 ve DQ9 kontrollerde daha yaygın buna mukabil HLA-DQ2 ve DQ7 antijenleri AS'li hastalarda daha yaygın olarak görülmüştür. HLA-DR bölgesi antijenlerinden DR1, DR4, DR7, DR10, DR15 ve DR53 antijenleri kontrol grubunda AS'li hastalara nazaran daha yaygın iken DR11 (%45), DR16 (%25), DR18 (%15), DR51 (%15) ve DR 52 (%55) antijenleri AS'li hastalarda daha sık görülmüştür. Bu çalışmada bulunana HLA antijen tiplerinin Konya ve yöresi halkı için genelleme yapmaya kafi olmamakla birlikte ön çalışma olarak bir fikir vermektedir. HLA antijenleri arasında B27 antijeni kontrol grubunda

diğer ülke toplumlarında görülme sıklığından 2,5 misli daha yüksek çıkmıştı. Buna mukabil özellikle Avrupa ırklarında AS'li hastalarda B27 antijenlerinin görülme sıklığı %90 iken bu değer Konya halkı için %40 düzeyindedir. HLA-B27 antijenlerinin hücre içi işlenmiş peptidlere hücre yüzeyinde bağlanarak sitotoksik T hücrelerinin tanınmasını sağlarlar. HLA-B27 antijeni ve alt gruplarının otoimmün AS hastalığıyla sıkı ilişkisi pek çok toplumlarda gösterilmesine karşın (3,4,5) Konya'da bu ilişki %50'den az görülmüştür. Yani B27 antijeni için daha çok seronegatif olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda HLA-B27 antijeninin ayrıca gram-negatif bakterilere karşı bir savunma mekanizması ile ilgili olduğuda gösterilmiştir (6). Sağlıklı bireylerde de B27 antijeninin beklenilenden yüksek çıkması Konya'da yaygın gram-negatif bakteri türüyle diğer toplumlarda yaygın olan gram-negatif türlerinde olabilecek genetik farklılıktan ileri gelebileceği söylenebilir. Konya toplumunda B27 pozitif AS'li hastalarda B27'nin hangi alt tipinin ilişkili olduğunun tayin edilmesinde yararı olmakla birlikte genel olarak B27'nin AS ile ilişkisinin zayıf olduğu bulunmuştur. Buna mukabil DQ7 ve DQ11 ve DR52 antijenleri AS'li hastalarda kontrollere göre daha yaygındır (%45-%60) ve bu antijenlerin ve alt gruplarının AS'li hastalarla ilişkisinin olup olmadığı saptanabilir. HLA-DQ7, DR11 ve DR52 antijenleri HLA-B44, Bw4 ve Bw6 antijenleri ile birlikte değerlendirilebilir, çünkü sınıf-I HLA antijenleri hemen her hücre tarafından sentezlenirken sınıf-II HLA antijenleri B hücreleri tarafından sentezlendiği düşünülürse özellikle T ve B Hücreleri arasında ki uyarı ilişkisinde bu antijende rolleri olabileceği düşünülebilir. Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen değerler kontrol grubundaki beklenilenden yüksek HLA-B27 antijen sıklığı ile AS'li hastalarda beklenen seviyeden çok daha düşük HLA-B27 seronegatif AS'i izah edememektedir. Sitotoksik T hücrelerinin esnekliğini (tolerans) kısıtlayan başka bir antijenin varlığı muhtemeldir. Bu antijen ile hastalık doğrudan doğruya ilişkilidir ve bu proteinin B veya diğer hücrelerde sentezinin kontrolü ile sistemik enflamatuvar hastalığın iyileştirilmesi gerekir. Bu proteinin ifade edildiği gen bölgesinin MHC sınıf-I gen bölgesine ve HLA-B27 gen bölgesine yakın olmalıdır. Bu gen bölgesi HLA-B27 gen bölgesi ile allelik ilintisi olması lazım ki rekombinasyon bu gen bölgesinin gen ifadesini, kopya sayısını ve transkripsiyon seyrini değiştirmemiş olsun (7).

P-44:

MESANE KANSERLİ HASTALARIN İDRAR ÖRNEKLERİNDE
TELOMERAZ ENZİM AKTİVİTESİ

Aysegül TOKİS¹, Ayşe BAŞARAN¹, Turgut DÖNMEZ², İrfan DEĞİRMENCİ¹,
H. Veysi GÜNEŞ¹

¹Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD, ESKİŞEHİR

²Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ABD, ESKİŞEHİR

Telomerler, ökaryot kromozomlarının her iki ucunda bulunan, kromozom uçlarını füzyon (birleşme) ve ekzonükleazların sebep olduğu kırılma gibi anomalilerden koruyan DNA dizileridir. Telomeraz enzimi, telomeraz RNA' sı ve telomeraz proteinlerinden oluşan bir RiboNükleoProtein (RNP) kompleksi olup telomerin G'ce zengin tek dalının uzamasını sağlar.

Telomeraz enzim aktivitesi, embriyonik hücrelerde, hematopoetik hücrelerde, saç foliküllerinde, tamir gören doku hücrelerinde ve ergin stem hücrelerinde yüksek oranda aktiviteye sahip olduğu halde, normal somatik hücrelerde bu aktivite ya belirlenemeyecek kadar azdır veya hiç yoktur. Telomeraz enziminin aktif olması, tümör hücre ölümsüzlüğü ve karsinogenez sürecinin işleyebilmesi için gereklidir. Çok sayıda insan kanser hücre örneğinde telomeraz enzim aktivitesinin bulunuşu, bu enzimin kanser tanısı için diagnostik bir marker olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada, 7 sağlıklı ve Üroloji Anabilim Dalından temin edilen 13 mesane kanserli kişiye ait idrar örneklerinden elde edilen hücre ekstraktına TeloTAAGGG^{PLUS} PCR – ELİSA kitinde ki metoda uygun olarak PCR işlemi uygulandı. PCR reaksiyonunun doğruluğundan emin olmak için PCR ürünleri poliakrilamid jelde yürütüldü. Daha sonra gümüş boyama yöntemi ile bantlar görünür hale getirildi. Bunu takiben telomeraz aktivitesi TeloTAGGG^{PLUS} PCR -ELİSA (Roche) kiti kullanılarak belirlendi.

Sonuç olarak, telomeraz aktivitesinin kontrol grubuna göre, mesane kanserli hasta grubunda, istatistiksel olarak önemli derecede yüksek olduğu belirlendi.

P-45:

**KRONİK SINÜZİTLİ HASTALARDA NAZAL SEKRETUAR
HÜCRELERİN IŞIK MİKROSKOBUNDA İNCELENMESİ**

Onur TOPARLAK , Hakan GÜLEN **, Tanfer TOPARLAK *, Hüseyin OKTAR***,
Melek ÖZTÜRK*, Mehmet ADA***

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

*** İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı,
İSTANBUL*

**** İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim
Dalı, İSTANBUL*

Kronik sinüzitte mukus hipersekresyonu başlıca semptomlardan biridir. Bu çalışmada kronik sinüzitli hastalarda mukus hipersekresyonunda nazal sekretuar hücrelerin katkısı araştırılmıştır.

Örneklerden 32 si sinüs cerrahisi sırasında elde edilmiş olup , 8 adet olan normal nazal mukozalar ise fasiyel travma cerrahisi olan kontrol hastalarından elde edilmiştir. Nazal biopsi örnekleri % 10 luk nötral formalin ile fikse edildi. Rutin ışık mikroskopi takip yöntemleri kullanılarak hazırlanan parafin kesitlere pH 2.6 -1. 0 olan Alcian Blue Periodik Asit Schiff (AB- PAS) ve High Iron Diamine (HID) boya teknikleri uygulanarak mukoza epitel goblet hücreleri ile submukozal aciner hücreleri incelendi ve sayımları yapılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

AB-PAS boyası uygulanan preparatlarda goblet hücrelerinde hücre sayısının değişmediği ancak asit glukoprotein içeriklerinin nötral glukoproteinlere nazaran arttığı gözlemlenmiştir. Submukozal aciner hücrelerin kronik sinüzitli hasta grubunda kontrol grubuna oranla daha fazla olduğu ($p<0.001$) gözlenmiştir. HID boya tekniği kullanılmış preparatlarda kontrol ve hasta gruplar karşılaştırılmış kronik sinüzitli olan hasta grubu aciner hücre sayısında anlamlı artış ($p<0.001$) gözlenmiştir.

Sonuç olarak bulgularımız kronik sinüzitli hastalarda aciner hücreler hiperplazik değişiklik geçirerek ortama daha fazla mukus salınmasına neden olduğu, hipersekresyonun aciner hücrelerin sayısal olarak artışından kaynaklandığını göstermektedir.

P-46:

9. KROMOZOMUN PERİSENTRİK İNVERSİYONLARI

H. Gül DURAKBAŞI¹, Ayşe Gül ZAMANI¹, Tülin ÇORA¹, Sennur DEMİREL¹,
Aynur ACAR¹

¹Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Bilim Dalı, KONYA

Çalışmada; üreme kaybı, cinsiyet gelişim bozukluğu ve infertilite ile mental motor retardasyon gibi nedenlerle laboratuvarımıza gönderilen ve yapılan sitogenetik analizlerde inv (9) taşıdıkları anlaşılan 24 indeks olgunun sitogenetik sonuçları sunuldu. Bu olguların 17'sinde kromozom kuruluşu 46,XY,inv (9) iken, 5'inde 46 XX, inv (9) idi. İnversiyona uğrayan bölge 16 olguda 9p11q13 band bölgesini ve 7 olguda da 9p13q21 band bölgesini kapsamaktaydı. Bir olguda ise duplike olmuş 9p11q13 heterokromatin segmenti inversiyona uğramıştı. İnversiyona katılan segmentin büyüklüğü ve lokalizasyonu ile olguların kliniği arasında herhangi bir korelasyon kurulamadı.

P-47:

**BÜTİLENMİŞ HİDROKSİTOLUEN TOKSİSİTESİ : MİKROÇEKİRDEK
TESTİ, GENOTOKSİK VE SİTOGENETİK BULGULARA İPUCUDUR**

İzzet YELKOVAN¹, Suzan AKYILDIZ¹, Fikriye POLAT², Ziynet ÇINAR³

Nesrin TURAÇLAR¹, Meltem DEMİRKOL¹

¹*Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Sivas*

²*Cumhuriyet Üniversitesi Eğitim Fakültesi O.F.M.A. Bölümü Biyoloji Eğitimi A.B.D., Sivas*

³*Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı, Sivas*

Bütillenmiş Hidroksitoluen (BHT), gıda sektöründe yaygın bir şekilde koruyucu, yardımcı madde olarak kullanılan fenolik antioksidandır. Yağların oksidasyonunu önler. Ancak BHT' nin tümör oluşumunu provoke ettiği, DNA kırıklarını ve apoptozu indüklediği bulunmuştur.

Mikroçekirdek testi de bir maddenin genotoksitesitesi ve karsinojenliği hakkında kısa sürede güvenilir bilgi vermektedir. Bu nedenle; 200 mg/kg/hafta olacak şekilde 15 sıçana (*Rattus rattus albino*) 6 kez intraperitoneal BHT uygulandı (kronik grup). Aynı miktar BHT 30 sıçana bir kez uygulandı ve birer hafta ara ile (6 sı) değerlendirildi (tek doz grubu). Her iki grupta da kemik iliğinde mikroçekirdek testi (+) bulundu ve gruplar içinde yer alan sıçanların çoğunluğunda doza ve periyoda uyumlu mikroçekirdek sayısında değişimler saptandı.

BHT' nin hücre bölünme hızını etkilediği, zaman ve doza bağlı olarak karsinojen ve mutajen etkisinin değiştiği bulunmuştur.

DİZİN

Acar A.....	92,93,115,123
Ada M.....	122
Ağaçhan B.....	59,60,61,78,80
Akbaş E.....	90
Akın H.....	94,96
Aksoy F.....	110
Akyıldız S.....	124
Alagöl F.....	71
Altuğ T.....	33,110
Anak S.....	58
Anlar B.....	63
Arslan A.....	26,109,118
Arslan H.B.....	118
Atalay A.....	74,82
Alptekin D.....	114
Aydın F.....	85
Aydın M.....	59,60,61,78,80,103
Aysun S.....	63
Ayter Ş.....	25,63
Bağcı C.....	109
Bağcı G.....	24
Bağcı Hasan.....	76
Bağcı Hüseyin.....	39
Başaran A.....	64,68
Başaran N.....	68,121
Başlar Z.....	86
Batat İ.....	81
Baxter-Lowe L.A.....	66
Beyazıt Y.....	114
Boz C.....	116
Budak T.....	2
Bulut H.E.....	57,107
Calapoğlu M.....	116
Canatan D.....	97,98
Caylan R.....	55
Cengiz B.....	109
Cengiz M.....	110
Cinbiş M.....	63
Coşan D.....	68
Çakmak E.A.....	109
Çarın M.N.....	58,67,69
Çelik A.....	90
Çetinel Ü.....	110
Çetinkaya Ö.....	74
Çınar Z.....	108,124
Çolak A.....	19,57,82,102,107
Çora T.....	115,118,123
Dağıstanlı F.....	72,73,111,112
Dalay N.....	65
Dalkara T.....	30
Değirmenci İ.....	64,68,121

Demirel S.....	92,93,123
Demirkol M.....	124
Derici E.....	90
Dericioğlu D.....	117
Devranoglu K.....	88
Diler S.....	58
Donma M.M.....	70
Donma O.....	70
Dorak T.....	58
Duman B.S.....	12,71
Durak B.....	68
Durakbaşı G.....	92,93,115,123
Duvarcı Y.....	67
Egeli Ü.....	84,117
Ekmekçi A.....	87
Elyas H.....	94,96
Enginsu E.....	89
Er E.....	101
Erdoğan T.....	100
Erensoy N.....	73
Ergen A.....	103
Ergün M.A.....	95
Erol D.....	94
Ersoy R.....	79
Gez S.....	106
Güzel A.İ.....	114
Göze A.İ.....	82
Güçlü P.....	87
Gülen H.....	122
Gülkesen H.....	100
Güneş H.V.....	64,68,121
Güneş S.....	76
Gürtekin M.....	69
Güven M.....	88
Güzeloğlu-Kayışlı Ö.....	97,98
Hacıhanefioğlu S.....	86
Harmanlı E.....	64
Hatemi H.....	112
Herbeth B.....	56
İşıtmangil T.....	77
İlkova H.....	112
İmirzalıoğlu N.....	101
İşbir T.....	59,60,61,77,78
Kahraman H.....	71
Kalay E.....	55,116
Kalender B.....	111
Kan D.....	95
Kaner G.....	72
Karadeniz C.....	87

Karagüzel A.....	42,116	Soysal Y.....	91,101
Karahan G.....	85	Söylemez F.....	90
Karatüzüm S.B.....	99,100	Şahin N.....	116
Karaveli Ş.....	100	Şahin F.İ.....	79,87,91,95,113
Kasap H.....	114	Şengül A.....	118
Kaya S.A.....	69	Şentürk H.....	69
Kekik Ç.....	67	Şimşek M.....	98
Keser İ.....	97,98	Taçoş Ş.....	99
Kılıçarslan Ayna T.....	69	Tan E.....	95
Kimya Y.....	117	Tarakçıoğlu M.....	109
Korkmaz M.....	57,107	Taşkın Ö.....	99
Koyuncu H.....	59	Tatar A.G.....	81
Kömürcü E.....	83	Tomatır A.G.....	106
Kuru D.....	86	Toparlak O.....	122
Küçük S.....	65	Toparlak T.....	122
Lüleci G.....	97,98,99,100	Topçuoğlu M.Ş.....	114
Lüleyap H.Ü.....	114	Toraman A.D.....	97,98
Manguoğlu E.....	100	Tunçdemir M.....	72,73,111,112
Menevşe A.....	79,95,113	Turaçlar N.....	124
Menevşe S.....	91,113	Turna A.....	77
Mercanoğlu E.....	87,95	Uğurlu H.....	118
Metintaş M.....	64	Ulutin T.....	47,88
Mısırlıoğlu M.....	79	Urhan M.....	64
Oğuz F.....	58,66,85	Uysal Ö.....	111,112
Oğuz R.....	58	Ünal M.....	88
Oğuzkan S.....	63	Ünaltuna N.E.....	83
Oktar H.....	122	Viry M.V.....	56
Onarhoğlu B.....	57	Wollnick B.....	31
Özaydın A.....	110	Yakut S.....	99
Özçelik N.....	104,105	Yakut T.....	84,117
Özdemir M.....	68	Yalman N.....	58
Özdemir Ö.....	57,108	Yamanlar Y.....	118
Özkılıç A.....	110	Yaylın İ.....	59,77,103
Öztaş S.....	3,81	Yazıcı H.....	65
Öztürk D.Ö.....	104	Yeğenağa İ.....	111
Öztürk M.....	56,71,73,111,122	Yelkovan İ.....	108,124
Öztürk O.....	59,77	Yeşilipek A.....	97,98
Öztürk G.....	113	Yetkin İ.....	79
Perçin E.F.....	82	Yıldız K.....	89
Polat F.....	102,108,124	Yılmaz G.....	72
Sağlam Y.....	89	Yılmaz H.....	59,60,61,78,80
Saip P.....	65	Yılmaz N.....	72
Sargın F.C.....	99,100	Yılmaz S.....	40,56,71,72,73,112
Sarıkaya Ş.....	76	Yiğit B.....	84
Sayhan N.....	86	Yüce H.....	94,96
Soyöz M.....	105	Yüksel A.....	110
Seven M.....	110	Zamani A.....	92,93
Seyhun Y.....	67	Zeybek Ü.....	59,103
Sezgin İ.....	5		
Siest G.....	56		
Siliğ Y.....	74,75,82		